**UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
ESCOLA DE ENGENHARIA DE SÃO CARLOS
DEPARTAMENTO DE HIDRÁULICA E SANEAMENTO**

JOSÉ LEONARDO DA SILVA MELLO

**Efeitos da presença do fungicida Pyrimethanil na comunidade de
macroinvertebrados bentônicos: estudos *in situ* e laboratoriais.**

VERSÃO CORRIGIDA

São Carlos

2015

JOSÉ LEONARDO DA SILVA MELLO

Efeitos da presença do fungicida Pyrimethanil na comunidade de macroinvertebrados bentônicos: estudos *in situ* e laboratoriais.

Dissertação apresentada à Escola de Engenharia de São Carlos, da Universidade de São Paulo, como parte dos requisitos para obtenção do título de Mestre em Ciências: Engenharia Hidráulica e Saneamento

Orientador: Professor Doutor Juliano José Corbi

São Carlos

2015

AUTORIZO A REPRODUÇÃO TOTAL OU PARCIAL DESTE TRABALHO,
POR QUALQUER MEIO CONVENCIONAL OU ELETRÔNICO, PARA FINS
DE ESTUDO E PESQUISA, DESDE QUE CITADA A FONTE.

M83e Mello, José Leonardo da Silva
Efeitos da presença do fungicida Pyrimethanil na
comunidade de macroinvertebrados bentônicos: estudos in
situ e laboratoriais. / José Leonardo da Silva Mello;
orientador Juliano José Corbi. São Carlos, 2015.

Dissertação (Mestrado) - Programa de Pós-Graduação
e Área de Concentração em Hidráulica e Saneamento --
Escola de Engenharia de São Carlos da Universidade de
São Paulo, 2015.

1. Macroinvertebrados bentônicos. 2. Pyrimethanil.
3. Mesocosmos. 4. Ecotoxicologia. I. Título.

FOLHA DE JULGAMENTO

Candidato: Bacharel **JOSÉ LEONARDO DA SILVA MELLO.**

Título da dissertação: "Efeitos da presença do fungicida *Pyrimethanil* na comunidade de macroinvertebrados bentônicos: estudos in situ e laboratoriais".

Data da defesa: 18/05/2015

Comissão Julgadora:

Prof. Dr. **Juliano José Corbi (Orientador)**
(Escola de Engenharia de São Carlos/EESC)

Prof. Associado **Evaldo Luiz Gaeta Espindola**
(Escola de Engenharia de São Carlos/EESC)

Prof. Dr. **Frederico Yuri Hanai**
(Universidade Federal de São Carlos/UFSCar)

Resultado:

Aprovado

Aprovado

APROVADO

Coordenadora do Programa de Pós-Graduação em Engenharia Hidráulica e Saneamento:

Profa. Associada **Maria Bernadete A. Varesche Silva**

Presidente da Comissão de Pós-Graduação:

Prof. Associado **Paulo César Lima Segantine**

Dedico essa dissertação a todos meus familiares, principalmente ao meu pai Leo, por todo esforço, dedicação, determinação e bons exemplos demonstrados ao longo da minha vida. E também pelo valoroso e incansável incentivo ao estudo.

AGRADECIMENTOS

Os sentimentos mais importantes são os mais difíceis de expressar. Raramente conseguimos verbaliza-los, pois as palavras os diminuem. Nesse momento, gostaria de expressar minha gratidão a todos que fizeram parte, direta ou indiretamente, da realização dessa dissertação. Mesmo que as palavras não façam jus à importância de cada um, gostaria que soubessem que a realização desse sonho não seria possível sem vocês.

À toda minha família, principalmente, aos meus avós Pedro (*in memoriam*) e Rosa, ao meu pai Leo, aos meus irmãos Ana Elisa e Pedro Daniel, por todo amor, carinho, apoio e incentivo ao longo da minha vida.

Ao Prof. Juliano José Corbi pela sincera amizade e inabalável confiança construídas ao longo desses dois anos de mestrado. Por todo incentivo, preocupação e encorajamento nos momentos de dificuldade e de dúvidas na bondade das pessoas. E principalmente, pelos bons exemplos de humanidade, humildade e profissionalismo transmitidos.

Ao Prof. Evaldo Espindola e aos doutorandos André Sanchez e Lucas Mendes pela oportunidade concedida de colaborar em suas pesquisas com a presente dissertação.

Ao pessoal do laboratório: Rafaela Bermudez pelo auxílio com as “infinitas” lâminas de microscópio, Regiane Correa pela ajuda com as diluições e testes de toxicidade e Guilherme Gorni pelo suporte nas análises estatísticas.

Ao Prof. Frederico Hanai pelo incentivo inicial na carreira acadêmica, amizade, atenção, confiança e fé depositados, sempre fazendo com que eu esperasse o melhor de mim.

À professora Odete Rocha pelas valorosas e imprescindíveis contribuições e experiências transmitidas sobre ecotoxicologia e mesocosmos.

Ao Prof. Davi Gasparini pela amizade, confiança, incentivo e pelas incríveis oportunidades compartilhadas.

À Bruna pela amizade, carinho, inúmeras risadas, momentos de cumplicidade e por ser essa pessoa iluminada, que a cada dia vem tornando minha vida mais leve.

Aos inestimáveis amigos da pós, Guilherme (Monstro), Felipe (Seo Jorge), Rodrigo (Bobo), Paulo (Pauleta), Rodrigo (Dico), Anne, Kiemi, Vitória (Xuxu), Rafaela, Rodrigo Carneiro, Matheus (Teta), Tiago (Cebola), Davi (Mestre), Marcus, Vanessa, Carol, Clara, Júlia, Carla, Ju, Vinicius (BJ), Samuel (Xamego), Sérgio (Goiaba), Gabi, Mari e Willame (Quixeramobim) sem os quais esse período não teria sido tão engraçado, divertido e cheio de boas histórias para contar. De coração, muito obrigado por tudo.

Aos professores do Departamento de Hidráulica e Saneamento (USP) e do Departamento de Ciências Ambientais (UFSCar) pelas importantíssimas contribuições em minha formação acadêmica e profissional.

A Deus, por nunca me abandonar e pela vida incrível e maravilhosa que Ele me concedeu. Que ao longo de minha jornada, eu possa ser um instrumento de tua paz.

*“Quanto mais eu estudo a natureza,
fico mais impressionado com a obra
do Criador. Nas menores de suas
criaturas, Deus colocou propriedades
extraordinárias.”*

Louis Pasteur

RESUMO

MELLO, J.L.S. (2015). **Efeitos da presença do fungicida Pyrimethanil na comunidade de macroinvertebrados bentônicos: estudos *in situ* e laboratoriais**. Dissertação (Mestrado). Escola de Engenharia de São Carlos, Universidade de São Paulo (EESC-USP), São Carlos. 88p.

As atividades agrícolas, principalmente as monoculturas, exigem grande utilização de insumos. A aplicação constante de defensivos agrícolas, como herbicidas, pesticidas e fungicidas, tem promovido crescentes impactos sobre os recursos hídricos e biota neles presentes, principalmente em organismos não alvo dessas substâncias. O presente estudo teve como principal objetivo avaliar os efeitos do fungicida Pyrimethanil na comunidade de macroinvertebrados bentônicos, por meio do monitoramento ambiental em unidades experimentais de campo (mesocosmos) e ensaios ecotoxicológicos laboratoriais com indivíduos da espécie *Chironomus sancticaroli*. Os mesocosmos foram construídos utilizando-se seis caixas de água com volume equivalente a 1500 litros. A contaminação dos mesocosmos com Pyrimethanil foi realizada por meio de pulverização direta na superfície da água aplicando-se uma concentração equivalente a 0,1 mg/L de Pyrimethanil nos mesocosmos contaminados. Dessa maneira, os mesocosmos foram divididos em três réplicas contaminadas e três réplicas controles. O monitoramento e coleta de amostras de água e macroinvertebrados bentônicos foram realizados com frequência mensal, durante o período de um ano. O fungicida Pyrimethanil não ocasionou alterações significativas nas variáveis monitoradas. Da mesma forma, a estrutura comunitária de macroinvertebrados bentônicos apresentou características semelhantes entre os mesocosmos contaminados e controles. Entretanto, durante o monitoramento, os mesocosmos controles apresentaram valores significativamente mais elevados na abundância de indivíduos e quantidade total de táxons quando comparados aos valores observados nos mesocosmos contaminados com Pyrimethanil.

Palavras-chave: Macroinvertebrados bentônicos; Pyrimethanil; Mesocosmos; Ecotoxicologia

ABSTRACT

MELLO, J.L.S. (2015). **Effects of Pyrimethanil presence in benthic macroinvertebrates community: *in situ* and laboratory studies.** Dissertation (Master's Degree). School of Engineering in São Carlos, University of São Paulo, São Carlos. 88p.

Agricultural activities, mainly monocultures, require large use of inputs. The constant application of agrochemicals, as herbicides, pesticides and fungicides, has promoted impacts on water resources and biota at the center, especially on non-target organisms such substances. This study aimed to evaluate the effects of fungicide Pyrimethanil in benthic macroinvertebrate community through environmental monitoring experimental units of field (mesocosms) and laboratory ecotoxicological tests with individuals of *Chironomus sancticaroli*. The mesocosms were made using six tanks with maximum volume equivalent to 1500 liters. The contamination of the tanks with Pyrimethanil was performed by spraying of water on the surface by applying a fungicide concentration equivalent to 0,1 mg/L. Thus, the mesocosms were divided into three contaminated replicas and three controls replicas. The monitoring and sampling of water and benthic macroinvertebrates were performed on a monthly basis during the period of one year. The fungicide Pyrimethanil does not cause significant changes in monitored variables. Similarly, the community structure of benthic macroinvertebrates were similar characteristics between the contaminated and control mesocosms. However, during the monitoring, the mesocosms controls had significantly higher values in the abundance of individuals and total number of taxa compared to the values observed in the mesocosms contaminated with Pyrimethanil.

Keywords: Benthic macroinvertebrate; Pyrimethanil; Mesocosms; Ecotoxicology

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Estrutura molecular do fungicida Pyrimethanil, de acordo com Verdisson <i>et al.</i> (2001)	27
Figura 2. Disposição das unidades experimentais (Mesocosmos). Unidades 1, 3 e 4 contaminadas e 2, 5 e 6 controles	40
Figura 3. Teste de toxicidade aguda com indivíduos de <i>Chironomus sancticaroli</i>	42
Figura 4. Delineamento metodológico geral (Atividades de coleta, monitoramento, análises laboratoriais e ensaios de toxicidade)	44
Figura 5. Perfil temporal da degradação do fungicida Pyrimethanil (em mg.L ⁻¹) nos mesocosmos tratados	45
Figura 6. Perfil temporal de pH nos mesocosmos, entre os meses de outubro de 2012 e outubro de 2013	46
Figura 7. Perfil temporal de oxigênio dissolvido (em mg.L ⁻¹) nos mesocosmos, entre os meses de outubro de 2012 e outubro de 2013	47
Figura 8. Perfil temporal de condutividade elétrica (em µS.cm ⁻¹) nos mesocosmos, entre os meses de outubro de 2012 e outubro de 2013	49
Figura 9. Perfil temporal de temperatura (em °C) nos mesocosmos, entre os meses de outubro de 2012 e outubro de 2013	50
Figura 10. Perfil temporal de turbidez (em UNT) nos mesocosmos, entre os meses de outubro de 2012 e outubro de 2013	51
Figura 11. Perfil temporal de fósforo total (em µg.L ⁻¹) nos mesocosmos, entre os meses de outubro de 2012 e outubro de 2013	53
Figura 12. Perfil temporal de nitrogênio orgânico total (em mg.L ⁻¹) nos mesocosmos, entre os meses de outubro de 2012 e outubro de 2013	54
Figura 13. Perfil temporal de nitrito (em µg.L ⁻¹) nos mesocosmos, entre os meses de outubro de 2012 e outubro de 2013	55
Figura 14. Perfil temporal de nitrato (em µg.L ⁻¹) nos mesocosmos, entre os meses de outubro de 2012 e outubro de 2013	56
Figura 15. Perfil temporal de amônio (em µg.L ⁻¹) nos mesocosmos, entre os meses de outubro de 2012 e outubro de 2013	58
Figura 16. Perfil temporal do índice de diversidade de Shannon (H') nos mesocosmos, entre os meses de outubro de 2012 e outubro de 2013	60

Figura 17. Perfil temporal do índice de riqueza de Margalef (I_{mg}) nos mesocosmos, entre os meses de outubro de 2012 e outubro de 2013	62
Figura 18. Perfil temporal do índice de equitabilidade de Pielou (J) nos mesocosmos, entre os meses de outubro de 2012 e outubro de 2013	63
Figura 19. Perfil temporal do índice de dominância nos mesocosmos, entre os meses de outubro de 2012 e outubro de 2013	65
Figura 20. Perfil temporal da abundância total de indivíduos nos mesocosmos, entre os meses de outubro de 2012 e outubro de 2013	66
Figura 21. Perfil temporal do número total de táxons nos mesocosmos, entre os meses de outubro de 2012 e outubro de 2013	67
Figura 22. Box plot do número de táxons e abundância total de indivíduos observados durante o monitoramento, entre os meses de outubro de 2012 e outubro de 2013	69
Figura 23. Valores de mortalidade (em %) obtidos no teste de toxicidade aguda com diferentes diluições do Pyrimethanil, utilizando o organismo-teste <i>C. sancticaroli</i>	69

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Coordenadas e descrição dos locais de amostragem de sedimento e água	37
Tabela 2. Variáveis e seus valores de referência para as análises limnológicas e químicas da água e sedimento para o Córrego das Perdizes e Represa do Lobo	38
Tabela 3. Variáveis abióticas da água aferidas no monitoramento e suas respectivas unidades e referências	41
Tabela 4. Valores das concentrações do fungicida Pyrimethanil (em mg.L ⁻¹) mensurados durante o monitoramento	45
Tabela 5. Valores médios das medições de pH obtidos durante o monitoramento, entre os meses de outubro de 2012 e outubro de 2013	46
Tabela 6. Valores médios das medições de oxigênio dissolvido (em mg.L ⁻¹) obtidos durante o monitoramento, entre os meses de outubro de 2012 e outubro de 2013	47
Tabela 7. Valores médios das medições de condutividade elétrica (em µS.cm ⁻¹) obtidos durante o monitoramento, entre os meses de outubro de 2012 e outubro de 2013	48
Tabela 8. Valores médios das medições de temperatura (em °C) obtidos durante o monitoramento, entre os meses de outubro de 2012 e outubro de 2013	50
Tabela 9. Valores médios das medições de turbidez (em UNT) obtidos durante o monitoramento, entre os meses de outubro de 2012 e outubro de 2013	51
Tabela 10. Valores médios das concentrações de fósforo total (em µg.L ⁻¹) obtidos durante o monitoramento, entre os meses de outubro de 2012 e outubro de 2013	52
Tabela 11. Valores médios das concentrações de nitrogênio orgânico total (em mg.L ⁻¹) obtidos durante o monitoramento, entre os meses de outubro de 2012 e outubro de 2013 ...	54
Tabela 12. Valores médios das concentrações de nitrito (em µg.L ⁻¹) obtidos durante o monitoramento, entre os meses de outubro de 2012 e outubro de 2013	55
Tabela 13. Valores médios das concentrações de nitrato (em µg.L ⁻¹) obtidos durante o monitoramento, entre os meses de outubro de 2012 e outubro de 2013	56
Tabela 14. Valores médios das concentrações de amônio (em µg.L ⁻¹) obtidos durante o monitoramento, entre os meses de outubro de 2012 e outubro de 2013	57
Tabela 15. Participação total das famílias de macroinvertebrados bentônicos coletados nos mesocosmos e dos gêneros da família Chironomidae	59
Tabela 16. Valores médios do índice de diversidade de Shannon (H') calculados durante o monitoramento, entre os meses de outubro de 2012 e outubro de 2013	60

Tabela 17. Valores médios do índice de riqueza de Margalef (I_{mg}) calculados durante o monitoramento, entre os meses de outubro de 2012 e outubro de 2013	61
Tabela 18. Valores médios do índice de equitabilidade de Pielou (J) calculados durante o monitoramento, entre os meses de outubro de 2012 e outubro de 2013	63
Tabela 19. Valores médios do índice de dominância calculados durante o monitoramento, entre os meses de outubro de 2012 e outubro de 2013	64
Tabela 20. Valores médios da abundância total de indivíduos observada durante o monitoramento, entre os meses de outubro de 2012 e outubro de 2013	66
Tabela 21. Valores médios do número total de táxons observado durante o monitoramento, entre os meses de outubro de 2012 e outubro de 2013	67

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	21
2. HIPÓTESE	23
3. OBJETIVOS	25
3.1. <i>Objetivo geral</i>	25
3.2. <i>Objetivos específicos</i>	25
4. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	27
4.1. <i>Ambientes aquáticos, atividades agrícolas e o Pyrimethanil</i>	27
4.2. <i>Ecotoxicologia</i>	28
4.3. <i>Mesocosmos</i>	31
4.4. <i>Macroinvertebrados bentônicos</i>	33
5. MATERIAL E MÉTODOS	37
5.1. <i>Área de estudo</i>	37
5.2. <i>Experimentos in situ</i>	38
5.2.1. <i>Unidades experimentais (Mesocosmos)</i>	38
5.2.2. <i>Monitoramento da água</i>	40
5.2.3. <i>Macroinvertebrados bentônicos</i>	41
5.3. <i>Ensaio ecotoxicológicos laboratoriais</i>	42
5.4. <i>Tratamento e análise estatística dos dados</i>	43
6. RESULTADOS	45
6.1. <i>Concentração do Pyrimethanil</i>	45
6.2. <i>Variáveis abióticas da água</i>	45
6.2.1. <i>pH</i>	45
6.2.2. <i>Oxigênio dissolvido</i>	47
6.2.3. <i>Condutividade elétrica</i>	48
6.2.4. <i>Temperatura</i>	49
6.2.5. <i>Turbidez</i>	51
6.2.6. <i>Formas de nitrogênio e fósforo</i>	52
6.3. <i>Macroinvertebrados bentônicos</i>	58
6.3.1. <i>Índice de diversidade de Shannon (H')</i>	59
6.3.2. <i>Índice de riqueza de Margalef (Img)</i>	61
6.3.3. <i>Índice de equitabilidade de Pielou (J)</i>	62
6.3.4. <i>Índice de dominância</i>	64

6.3.5. <i>Abundância total e Número de táxons</i>	65
6.4. <i>Teste de toxicidade aguda</i>	69
7. DISCUSSÃO	71
7.1. <i>Variáveis abióticas da água</i>	71
7.2. <i>Macroinvertebrados bentônicos</i>	73
8. CONCLUSÕES	75
9. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	77

1. INTRODUÇÃO

A água doce (água com salinidade igual ou inferior a 0,5%), embora represente apenas 2,5% de todo o volume de água ao redor do globo, é considerada componente fundamental para a manutenção da vida e do equilíbrio ambiental dos ecossistemas presentes no planeta. Todos os processos básicos inerentes aos seres vivos dependem diretamente da água (TUNDISI & MATSUMARA-TUNDISI, 2008). A preocupação com a conservação da qualidade da água e dos seus mananciais vem tornando-se cada vez mais evidente nos últimos anos. A procura por métodos eficazes de prevenção, mitigação e mensuração de impactos ambientais a quais estes sistemas estão sujeitos, é considerada como um dos grandes objetivos dos estudos ecológicos atuais (CORBI, 2006). Os recursos hídricos são especialmente vulneráveis aos impactos ocasionados pelas atividades antropogênicas, particularmente aqueles relacionados às alterações no uso e ocupação do solo e à intensificação das atividades agrícolas (GILLER *et al.*, 2004; VÖROSMARTY *et al.*, 2010). Com o desenvolvimento dessas atividades, tornam-se cada vez mais evidentes as alterações nas características naturais dos corpos hídricos (MELLO, 2013).

A maioria dos cursos de água que drenam regiões habitadas encontram-se poluídos, frequentemente, suas condições físicas e químicas são de deterioração consequente do rápido crescimento demográfico da população humana e da intensificação de suas atividades. As atividades agrícolas, principalmente as monoculturas, exigem grande utilização de insumos. A aplicação constante de defensivos agrícolas, como herbicidas e fungicidas, tem promovido crescentes impactos sobre os recursos hídricos e biota neles presentes, principalmente a organismos não-alvo dessas substâncias. A grande preocupação com o estado de degradação desses ecossistemas enuncia a necessidade do estabelecimento e validação de métodos de avaliação que possuam eficiência e confiabilidade para auxiliar o gerenciamento desses ambientes (RODRIGUES, 2008).

Inseridos nesse cenário de necessidade para a pesquisa e inovação nas técnicas de avaliação dos impactos ambientais nos recursos hídricos e na biota neles presente, estão os programas de monitoramento ambiental atrelados aos

estudos ecotoxicológicos. O monitoramento ambiental consiste em um processo sistemático de coleta de dados, estudo e acompanhamento periódico de variáveis ambientais (bióticas e abióticas), que possui como objetivo identificar e avaliar de maneira qualitativa e quantitativa os impactos presentes em dado ambiente de estudo. Por sua vez, a ecotoxicologia é uma ciência multidisciplinar que estuda os efeitos de compostos químicos sobre a dinâmica de populações e comunidades presentes no ambiente (COSTA *et al.*, 2008).

O presente estudo teve como principal objetivo avaliar os efeitos adversos do fungicida Pyrimethanil na comunidade de macroinvertebrados aquáticos bentônicos (organismos não-alvo), por meio do monitoramento ambiental em unidades experimentais de campo (mesocosmos) e ensaios ecotoxicológicos laboratoriais em indivíduos da espécie *Chironomus sancticaroli*. Este trabalho foi concebido a partir da parceria e colaboração entre os professores, Juliano José Corbi (PPGSHS/EESC/USP) e o Evaldo Luiz Gaeta Espíndola (PPGSEA/EESC/USP), e encontra-se inserido na pesquisa “Efeitos de pesticidas através de zonas climáticas: uma abordagem integrativa do indivíduo ao ecossistema”, de coordenação do Prof. Evaldo. Esta pesquisa contou com a participação e colaboração dos doutorandos André Luiz Sanchez e Lucas Bueno Mendes, ambos alunos de doutorado do Programa de Pós-graduação em Ciências da Engenharia Ambiental (PPGSEA).

2. HIPÓTESE

A hipótese desta pesquisa é que a aplicação do fungicida Pyrimethanil, em unidades experimentais de campo (mesocosmos), acarretará efeitos adversos sobre a dinâmica populacional e estrutura comunitária de macroinvertebrados bentônicos, bem como ocasionará alterações nas variáveis abióticas dos sistemas contaminados, diferindo do tratamento controle.

3. OBJETIVOS

3.1. Objetivo Geral

O presente estudo apresenta como objetivo avaliar, por meio de experimentos *in situ* em mesocosmos e ensaios ecotoxicológicos laboratoriais, os efeitos da adição do fungicida Pyrimethanil sobre a estrutura comunitária de macroinvertebrados bentônicos.

3.2. Objetivos Específicos

- Monitorar os efeitos da presença do fungicida Pyrimethanil e sua influência sobre a estrutura da comunidade de macroinvertebrados bentônicos em ecossistemas artificiais simplificados (mesocosmos), ao longo do período de um ano de monitoramento.
- Avaliar possíveis alterações na qualidade da água nesse mesmo período, por meio da aplicação de métricas e índices biológicos relacionados à comunidade de macroinvertebrados bentônicos.
- Investigar os efeitos do Pyrimethanil sobre indivíduos da espécie *Chironomus sancticaroli* através de testes de toxicidade aguda em laboratório.

4. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

4.1. Ambientes aquáticos, atividades agrícolas e o Pyrimethanil

Devido à sua importância fundamental para a existência e manutenção da qualidade de vida no planeta, os recursos hídricos têm sido foco de grande preocupação nas últimas décadas (CORBI, 2006). O ambiente aquático é altamente complexo e diverso. Ele compreende vários tipos de ecossistemas dentre os quais se encontram rios, lagos, estuários, mares e oceanos. Todos esses ecossistemas são produtos dinâmicos de interações complexas entre os componentes bióticos e abióticos característicos de cada um deles. As propriedades físicas e químicas presentes nos ecossistemas aquáticos podem afetar direta e significativamente suas atividades biológicas e seu equilíbrio ecológico (RAND *et al.*, 1995).

Nas últimas décadas a expansão das atividades agrícolas cresceu junto à demanda por alimentos, acompanhando a intensificação da utilização de insumos agrícolas, como agrotóxicos e fertilizantes (CORBI, 2006; CORBI *et al.*, 2008; CORBI *et al.*, 2013). Entre esses produtos, destaque-se o fungicida Pyrimethanil, que é amplamente utilizado em variados tipos de culturas agrícolas em diferentes países do mundo (ANFOSSI *et al.*, 2006; SEELAND *et al.*, 2013). O Pyrimethanil, ou N-(4,6-dimethylpyrimidin-2-il)-anilina (Figura 1), pertence à classe de fungicidas das anilinopirimidinas e também pode ser classificado na classe de fungicidas pertencentes ao grupo das pirimidinas. O Pyrimethanil penetra rapidamente na cutícula das plantas na cultura onde é aplicado, agindo de forma a inibir a secreção de enzimas do fungo interrompendo assim a dispersão do agente nocivo (EFSA, 2006).

Figura 1. Estrutura molecular do fungicida Pyrimethanil, de acordo com Verdisson *et al.* (2001).

O Pyrimethanil apresenta baixo risco à saúde humana, baixa solubilidade em água e tempo de degradação curto, não sendo degradado por meio de hidrólise ou fotólise no ambiente aquático (EFSA, 2006). Existem poucas informações sobre a ecotoxicidade em organismos presentes no ambiente aquático (TOMLIN, 1997). Entre os estudos e pesquisas referentes a esse agroquímico, destacam-se os de Müller *et al.* (2012) e Seeland *et al.* (2012), que investigaram os efeitos do Pyrimethanil sobre macroinvertebrados aquáticos em ensaios ecotoxicológicos laboratoriais; Seeland *et al.* (2013), que avaliou o risco ecológico do Pyrimethanil frente às alterações climáticas; Araújo *et al.* (2014), onde foi estudada a evitação de peixes (*Danio rerio*) em diferentes concentrações do fungicida; Gil *et al.* (2015) que aferiu expressões genéticas em leveduras (*Saccharomyces cerevisiae*) resultantes do contato com Pyrimethanil; e Shiin *et al.* (2015) que estudou os efeitos do Pyrimethanil no crescimento de algas (*Selenastrum capricornutum*). Entretanto, mesmo com a quantidade de estudos incipientes em regiões tropicais, pouco se sabe sobre a relação e influência que o fungicida Pyrimethanil pode ter sobre a estrutura e dinâmica da comunidade de macroinvertebrados aquáticos como um todo.

4.2. Ecotoxicologia

A toxicologia é a ciência que estuda os efeitos nocivos que substâncias naturais ou sintéticas causam sobre os seres vivos (HODGSON, 2004). É um ramo da ciência que possui como objetivo identificar os riscos inerentes à uma determinada substância, bem como, determinar quais condições de exposição em que esses riscos são induzidos. A ocorrência, natureza, incidência, mecanismos e fatores de risco associados às substâncias tóxicas são parâmetros experimentalmente investigados pela toxicologia (COSTA *et al.*, 2008).

As pesquisas e estudos na área da toxicologia subdividem-se em três principais linhas: Toxicologia clínica, que estuda o efeito de drogas sobre pacientes humanos; Toxicologia forense, que visa detectar o uso ilegal de agentes tóxicos para fins judiciais; e a Toxicologia ambiental, a qual busca

avaliar o destino dos agentes tóxicos, seus metabólitos, produtos de degradação no ambiente e nas cadeias alimentares e qual o efeito desses contaminantes sobre os organismos e as populações biológicas (HODGSON, 2004). A toxicologia ambiental é uma ciência ampla, eclética e multidisciplinar que engloba diversas áreas de estudo como biologia, química, anatomia, genética, fisiologia, microbiologia, ecologia, água e atmosfera, epidemiologia, estatística e legislação. A toxicologia ambiental considera que a sobrevivência e a manutenção da qualidade de vida humana dependem diretamente do bem-estar de outras espécies e da disponibilidade de ar, água, solo e alimentos limpos, considerando também que as substâncias químicas sintéticas podem vir a causar efeitos nocivos aos organismos vivos e aos processos biológicos (COSTA *et al.*, 2008).

O termo ecotoxicologia foi sugerido pela primeira vez pelo toxicologista francês René Truhaut, no ano de 1969. Foi definida como a ciência que estuda os efeitos das substâncias naturais ou sintéticas sobre os organismos vivos, populações e comunidades, animais ou vegetais, terrestres ou aquáticos, que constituem a biosfera, incluindo assim a interação das substâncias com o meio nos quais os organismos vivem num contexto integrado (PLAA, 1982; CAIRNS & NIEDERLEHNER, 1995). Dessa maneira, a ecotoxicologia é a ciência que integra perspectivas ecológicas e abordagens toxicológicas com objetivo de validar e prever os efeitos de contaminantes nos sistemas biológicos. Por sua vez, a ecotoxicologia aquática tem como objetivo avaliar os efeitos de substâncias tóxicas, naturais ou sintéticas, sobre organismos representativos do ecossistema aquático (RAND *et al.*, 1995; MOISEENKO, 2008).

Os efeitos provocados por diferentes contaminantes nos organismos presentes nos ecossistemas aquáticos podem se propagar pelos demais componentes desses ambientes. Esses efeitos podem provocar alterações nas características e dinâmica das populações aquáticas (reprodução, migração, restabelecimento e mortalidade), na estrutura e função das comunidades (alteração na diversidade de espécies, alterações na relação predador-presa) e nas funções e serviços dos ecossistemas (alterações nos processos de respiração e fotossíntese no fluxo de nutrientes). Os efeitos adversos dos poluentes sobre os organismos vivos podem ser quantificados por meio de uma

grande variabilidade de critérios, como: número de organismos (mortalidade ou sobrevivência), taxa de reprodução, comprimento e massa corpórea, número de anomalias ou incidência de deformidades, alterações fisiológicas e, mesmo, a densidade e diversidade de espécies numa determinada comunidade biológica (ZAGATTO & BERTOLETTI, 2006).

A utilização de testes ecotoxicológicos integra conceitos ecológicos, no que diz respeito à diversidade e representatividade dos organismos e seu significado ecológico nos ecossistemas, e toxicológicos, em relação aos efeitos adversos dos poluentes sobre as comunidades biológicas (PLAA, 1982). Testes de toxicidade são ensaios laboratoriais, realizados sob condições experimentais específicas e controladas, utilizados para estimar a toxicidade de contaminantes, efluentes industriais e amostras de compartimentos ambientais (água ou sedimento). Nesses ensaios, organismos-testes são expostos a diferentes concentrações de amostra e os efeitos tóxicos produzidos são observados e quantificados (RIBO, 1997; DORNFELD, 2006).

Os testes de toxicidade não permitem obter uma resposta absoluta sobre o risco que uma determinada amostra apresenta para a população humana, uma vez que é muito difícil extrapolar para os seres humanos os resultados de toxicidade obtidos para os organismos em laboratório e até mesmo correlacionar os resultados de toxicidade entre organismos de diferentes espécies (RIBO, 1997). Testes de toxicidade são considerados ferramentas úteis para a avaliação da qualidade das águas e da carga poluidora de efluentes, uma vez que somente as análises físicas e químicas tradicionalmente realizadas não são capazes de distinguir entre as substâncias que afetam os sistemas biológicos e as que são inertes no ambiente e, por isso, não são suficientes para avaliar o potencial de risco ambiental dos contaminantes. Entretanto, os testes de toxicidade não substituem as análises químicas tradicionais. Enquanto as análises químicas são capazes de identificar e quantificar as concentrações das substâncias tóxicas, os testes de toxicidade elucidam os efeitos dessas substâncias sobre os organismos vivos e sistemas biológicos. Assim, as análises químicas e os testes de toxicidade são ferramentas complementares inseridas no monitoramento ambiental (COSTA *et al.*, 2008).

Devido à alta complexidade de variáveis, tanto bióticas como abióticas, presentes no ambiente aquático, bem como ao elevado número de processos aos quais um contaminante está sujeito em condições naturais, torna-se difícil extrapolar para escala ambiental as informações provenientes dos testes de toxicidade em escalas laboratoriais. Concomitantemente, não existe nenhum organismo nem comunidade ecológica que possam ser utilizados para avaliar todos os efeitos possíveis de um contaminante sobre esses ecossistemas. Para que os efeitos em escala ambiental pudessem ser preditos a partir dos testes de toxicidade, as informações toxicológicas deveriam ser conectadas a modelos populacionais, o que é uma tarefa extremamente complicada que envolve uma série de restrições, principalmente de custo e tempo. Apesar disso, os testes de toxicidade realizados sob condições controladas e padronizadas vêm servindo como fonte de informações para avaliar os efeitos ecológicos de contaminantes tóxicos (COSTA *et al.*, 2008).

Estudos realizados em mesocosmos aquáticos podem suprir essa lacuna, provendo a oportunidade de monitorar os efeitos tóxicos de um contaminante em condições de exposição mais realistas, incluindo seu regime de exposição. Sob condições de campo mais realistas, alguns dos efeitos tóxicos observados em testes de laboratório podem ser mitigados, dependendo das propriedades físicas e químicas do contaminante, bem como podem alterar processos e funções que não podem ser observados em laboratório (CRUM & BROCK, 1994).

4.3. Mesocosmos

Mesocosmos representam extensões dos métodos convencionais utilizados em laboratório com microcosmos (ODUM, 1960; BEYERS, 1964) e podem ser definidos como ecossistemas artificiais construídos que são utilizados como ferramentas em estudos ecossistêmicos (KANGAS & ADEY, 1996). Em 1995, Graney *et al.* propuseram a denominação de “estudos de campo simulados” para descrever experimentos executados em estruturas artificiais que isolam subseções do ambiente natural de ecossistemas lóticos ou lênticos. Esse tipo de experimento é considerado uma importante ferramenta de pesquisa por

permitir a incorporação de uma maior quantidade de variáveis ambientais aos estudos, aumentando a complexidade dos processos ecológicos investigados, um aspecto considerado limitado nos estudos convencionais com microcosmos. O aumento da complexidade ambiental em estudos permite a obtenção de respostas ecologicamente mais realistas. Particularmente, em pesquisas de saneamento ambiental, os mesocosmos são ecossistemas construídos pelo homem que permitem monitorar o destino e efeitos de substâncias químicas nocivas em diferentes níveis biológicos de organização (CAQUET *et al.*, 2000).

Os mesocosmos, ou ecossistemas artificiais construídos, representam um avanço nos estudos em níveis de ecossistemas, pois compreendem um meio termo entre os testes laboratoriais e à variabilidade presente nos ecossistemas naturais (ODUM, 1984; SHAW & KENNEDY, 1996). Atualmente, um dos principais objetivos dos estudos que utilizam mesocosmos consiste em simplificar e reduzir a interferência de variáveis ambientais visando validar as conclusões e previsões que possam ser feitas (GRANEY *et al.*, 1995).

Os sistemas artificiais (mesocosmos) devem ser concebidos de modo a refletir as características básicas do ecossistema de estudo. Dependendo do enfoque do monitoramento e da resposta a ser buscada, os estudos com mesocosmos podem ser centrados em determinados grupos taxonômicos ou nos efeitos do contaminante sobre organismos presentes em compartimentos específicos do ambiente aquático, por exemplo, na coluna d'água ou no sedimento. Mesocosmos também podem ser utilizados para avaliar importantes processos ecológicos como a recuperação do ambiente após um impacto de determinado contaminante. Populações aquáticas tendem a ser altamente dinâmicas e sua recuperação pode ser importante para a compreensão dos processos ecológicos em longo prazo. A facilidade na estimativa de recuperação comunitárias em estudos com mesocosmos depende da demografia populacional das espécies de estudo e da duração total do monitoramento (SHAW & MANNING, 1996).

Estudos com mesocosmos buscam fornecer informações e respostas sobre os efeitos indiretos dos contaminantes sobre vários aspectos presentes nos ecossistemas, como as interações entre as espécies e as respostas

comunitárias da biota. Estes dados complementam os dados de toxicidade dos efeitos diretos das substâncias nocivas obtidos em laboratório, diminuindo assim a incerteza nas extrapolações em escalas ecossistêmicas (CAQUET *et al.*, 2000). A confiabilidade das informações referentes aos efeitos ecotoxicológicos dos contaminantes testados em mesocosmos depende intimamente da representatividade dos processos biológicos e/ou estruturais afetados. A extrapolação dos resultados de um experimento laboratorial de pequena escala para o mundo real geralmente aparenta ser mais problemática que a extrapolação proveniente de sistemas maiores e com maior complexidade em suas interações e processos (CROSSLAND, 1992). Os mesocosmos têm sido frequentemente utilizados para monitorar o destino de contaminantes nos ambientes aquáticos e o impacto da utilização de agroquímicos ou outras substâncias tóxicas sobre as comunidades planctônicas e de macroinvertebrados bentônicos.

4.4. Macroinvertebrados bentônicos

Rios, córregos, riachos e corpos d'água em geral contêm uma notória diversidade de macroinvertebrados (HAUER & RESH, 2006). Os macroinvertebrados bentônicos (organismos menores que 0,5 mm), principalmente a comunidade de insetos, têm sido o foco de frequentes estudos no campo de ecologia aquática de rios e córregos (WETZEL, 2001). Em muitos ambientes aquáticos, a comunidade de macroinvertebrados bentônicos consiste em várias centenas de espécies pertencentes a numerosos filos (BENKE *et al.*, 1984; ROY *et al.*, 2003; HOSE *et al.*, 2004). A maioria das espécies de macroinvertebrados pode ser considerada bentônica, ou seja, está associada com o fundo dos cursos d'água.

Os insetos aquáticos não são apenas um grupo extremamente diverso, tanto taxonomicamente como funcionalmente, como também constituem o grupo que apresenta maior frequência e abundância em amostras de ambientes aquáticos (HAUER & RESH, 2006). Os macroinvertebrados bentônicos possuem grande importância ambiental por serem considerados como base fundamental das cadeias tróficas, ligando os recursos provenientes

da matéria orgânica (e.g. folhas, algas, detritos) aos consumidores primários. Por conta disso, e da sua alta diversidade e dispersão ao longo dos biomas do planeta, os estudos com macroinvertebrados têm sido (HYNES, 1970; CUMMINS, 1974; ALLAN, 1995), e continuarão sendo, parte imprescindível nos estudos sobre ecologia de rios e córregos (HAUER *et al.*, 2000; BOYERO & BAILEY, 2001; LAMOUROUX *et al.*, 2004).

Entre as comunidades de organismos aquáticos que têm sido consideradas e utilizadas em procedimentos de monitoramento ambiental, os macroinvertebrados bentônicos são os mais frequentemente recomendados (HELLAWELL, 1986; BONADA *et al.*, 2006; CARTER *et al.*, 2006). Frequentemente, a comunidade de macroinvertebrados tem sido utilizada para avaliar os efeitos de poluentes em ambientes naturais. Por exemplo, a abundância, riqueza, equitabilidade das comunidades de macroinvertebrados têm sido rotineiramente examinadas no monitoramento da qualidade de água o longo das últimas décadas (CARTER *et al.*, 2006). Adicionalmente às análises estruturais da comunidade, muitas abordagens de caráter funcional também podem ser utilizadas no biomonitoramento (GAYRAUD *et al.*, 2003; STATZNER *et al.*, 2005). Grupos funcionais de alimentação são o tipo de análise funcional utilizada com maior frequência em estudos de monitoramento da qualidade de águas, entretanto, muitas outras características comunitárias podem ser utilizadas no monitoramento de impactos (BONADA *et al.*, 2006).

Entre os principais grupos representantes da comunidade de macroinvertebrados bentônicos, os insetos da família Chironomidae (Diptera) possuem grande importância, principalmente pela sua grande abundância, alta diversidade e ampla distribuição na maioria dos ecossistemas aquáticos continentais (EPLER, 1992). A espécie *Chironomus sancticaroli* (STRIXINO, 1980; STRIXINO & STRIXINO, 1982), equivocadamente denominada e classificada como sinônimo de *Chironomus xanthus* (TRIVINHO-STRIXINO, 2011), ocorre em todo o Estado de São Paulo, apresentando assim, significativa relevância ecológica para esta região. Devido ao seu comportamento bentônico, a espécie *Chironomus sancticaroli* é constantemente empregada em ensaios ecotoxicológicos utilizando-se o sedimento aquático. Quando enterrados no sedimento, os quironomídeos

podem ser afetados por substâncias presentes na água, muito provavelmente pela presença dessas substâncias entre os poros do sedimento (HOKE *et al.*, 1993; TSUI & CHU, 2004).

Macroinvertebrados bentônicos representam parte integral dos sistemas aquáticos por processarem a matéria orgânica e proverem energia para os níveis tróficos mais elevados, portanto, o entendimento dos efeitos antropogênicos, bem como os provenientes de estressores naturais, em sua distribuição e abundância são importantíssimos para a compreensão dos impactos que os corpos d'água podem estar sujeitos (CARTER *et al.*, 2006). Existem evidências de que a comunidade de macroinvertebrados aquáticos possui capacidade de responder, de maneira previsível e indicativa, a poluentes específicos ou a práticas agrícolas que aportam aos sistemas aquáticos substâncias sintéticas como defensivos agrícolas e fertilizantes (DANCE & HYNES, 1980). Dessa forma, a identificação e compreensão dos impactos que diferentes atividades antrópicas acarretam em ambientes aquáticos, bem como sua influência sobre a comunidade de macroinvertebrados, são essenciais para o manejo e conservação desses ambientes (RICHARDS *et al.*, 1996).

5. MATERIAL E MÉTODOS

5.1. Área de Estudo

O presente estudo foi desenvolvido no Centro de Recursos Hídricos e Ecologia Aplicada (CRHEA), da Escola de Engenharia de São Carlos (EESC), Universidade de São Paulo (USP). A escolha dessa área levou em conta aspectos que buscaram viabilizar a execução das atividades previstas pelo plano de pesquisa, como o monitoramento *in situ* e as análises laboratoriais. Foram considerados aspectos como: a proximidade com a estação climatológica, a infraestrutura laboratorial presente no centro de pesquisa e a acessibilidade aos corpos hídricos da região, possibilitando a coleta de água e sedimento necessários para a construção das unidades experimentais.

O CRHEA está localizado entre os municípios de Itirapina e Brotas, inserido na região correspondente à bacia hidrográfica do Lobo, que por sua vez é uma sub-bacia componente do subsistema Tietê/Jacaré, localizado no centro-oeste do estado de São Paulo. Os principais cursos de água que constituem essa sub-bacia são: rio Itaqueri, ribeirão do Lobo, córregos do Geraldo, das Perdizes, do Limoeiro e Água Branca (FREITAS, 2012). A coleta de sedimento e água para a construção das unidades experimentais foi realizada, respectivamente, no córrego das Perdizes e na Represa do Lobo. As coordenadas geográficas dos locais de amostragem, bem como suas descrições, seguem na Tabela 1.

Tabela 1. Coordenadas e descrição dos locais de amostragem de sedimento e água.¹

Local	Coordenadas	Descrição	Foto
Córrego das Perdizes	199. 444 E 7543.070 N	Área de condomínios residenciais do município de Brotas – SP. Parte da área a montante do ponto amostral se encontra represada, com presença de gramíneas e vegetação remanescentes de cerrado na área de entorno.	
Represa do Lobo	200.695 E 7545.499 N	Região lacustre próxima à barragem da represa com condomínio residencial na parte esquerda e o CRHEA – USP na porção direita.	

¹ Modificado de Sanchez (2012). (Fotos: André Luiz Sanchez, 24 de abril de 2010).

Na Tabela 2 são apresentados dados e informações sobre os locais de amostragem, como variáveis e seus valores de referência que foram utilizados nas análises limnológicas e químicas dos compartimentos água e sedimento.

Tabela 2. Variáveis e seus valores de referência para as análises limnológicas e químicas da água e sedimento para o Córrego das Perdizes e Represa do Lobo.²

Parâmetros	Córrego das Perdizes			Represa do Lobo		
	Água	Valor de Referência	Sedimento	Água	Valor de Referência	Sedimento
pH	5,75	7	-	6,35	7	-
Condutividade Elétrica	4,33	-	-	13	-	-
Oxigênio Dissolvido	7,93	5	-	8,4	5	-
Temperatura	26,1	-	-	26	-	-
Material em suspensão	13,1	-	-	4,21	-	-
Nitrito	4,4	1000	-	3,03	1000	-
Nitrato	13,07	10000	-	12,97	10000	-
Íon amônio	48,85	-	-	5,46	-	-
Nitrogênio orgânico total	0,47	-	-	0,84	-	-
Fósforo Total	171,69	-	-	180,33	-	-
Matéria orgânica	-	-	0,26	-	-	22,26
Fósforo Total	-	-	0,23	-	-	4,458
Nitrogênio orgânico total	-	-	0,02	-	-	0,125

² Modificado de Sanchez (2012).

5.2. Experimentos *in situ*

5.2.1. Unidades Experimentais (Mesocosmos)

As unidades experimentais (mesocosmos) foram construídas e enterradas no solo, utilizando-se seis caixas de água de polipropileno com volume máximo equivalente a 1500 litros. Com o intuito de evitar a entrada de material alóctone, os mesocosmos foram alocados de maneira que as bordas ficassem aproximadamente 15 centímetros acima do nível do solo. O fundo de cada unidade experimental foi preenchido com cerca de 20 centímetros de sedimento retirado do Córrego das Perdizes. Com auxílio de bomba de sucção foi realizada a retirada da água da Represa do Lobo para o enchimento dos mesocosmos. Em vista de minimizar o risco de transbordamentos decorrentes da precipitação, foram feitos furos na borda de cada mesocosmo de modo a

possibilitar a saída do volume de água excedente. Posteriormente ao enchimento dos mesocosmos com água, foram inseridos exemplares de macrófitas aquáticas fixas ao sedimento. Foram utilizadas as seguintes espécies de macrófitas: *Sagittaria montevidensis*, *Myriophyllum aquaticum* e *Egeria* sp.

A contaminação dos mesocosmos com Pyrimethanil foi realizada por meio de pulverização direta na superfície dos tanques e ocorreu em 16 de outubro de 2012. A concentração de contaminante utilizada foi definida de acordo com o volume preenchido por água e sedimento em cada unidade experimental, aplicando-se uma concentração equivalente a 0,1 mg/L de Pyrimethanil em cada um dos mesocosmos contaminados. A seleção dos mesocosmos contaminados e dos utilizados como controle seguiu o critério de semelhança entre as características físicas e químicas de cada unidade, aferidas no monitoramento prévio durante o período de aclimação das unidades experimentais. Esse processo de escolha deveria ter sido realizado de maneira aleatória e não arbitrária, entretanto, no decorrer do início do monitoramento prévio, cada unidade apresentou características divergentes (turbidez e condutividade elétrica). Dessa maneira, os mesocosmos foram divididos em três contaminados e três controles, sendo as unidades de número 1, 3 e 4 contaminadas e as 2, 5 e 6 adotadas como controle. A disposição final das unidades experimentais segue na Figura 2.

Figura 2. Disposição das unidades experimentais (mesocosmos). Unidades 1, 3 e 4 contaminadas e 2, 5 e 6 controles. (Foto: André Luiz Sanchez, 16 de outubro de 2012)

5.2.2. Monitoramento da água

Em cada unidade experimental foram aferidas variáveis físicas e químicas da água como: pH, temperatura, condutividade elétrica, turbidez e oxigênio dissolvido. As amostras de água foram coletadas utilizando core e introduzidas em garrafas plásticas previamente limpas e lavadas. Posteriormente à coleta, as amostras foram armazenadas em baixas temperaturas até o momento da execução das análises laboratoriais. As análises realizadas objetivaram determinar as concentrações do fungicida Pyrimethanil, bem como dos nutrientes totais e dissolvidos presentes na água. O monitoramento (Tabela 3) perdurou ao longo do período de um ano após a aplicação do contaminante nos mesocosmos, entre os meses de outubro de 2012 e outubro de 2013, totalizando 84 amostras de água. As concentrações do fungicida Pyrimethanil presentes nas amostras de água retiradas dos mesocosmos tratados foram determinadas por meio da utilização de cromatografia líquida de alta eficiência (High-performance liquid chromatography – HPLC) de acordo com o método descrito por Müller *et al.*, (2012). As determinações foram conduzidas nas dependências do Laboratório de Química Ambiental da Universidade de São Paulo (LQA – USP).

Tabela 3. Variáveis abióticas da água aferidas no monitoramento e suas respectivas unidades e referências.

Variáveis	Unidade	Referência
pH	-	-
Condutividade Elétrica	$\mu\text{S.cm}^{-1}$	-
Oxigênio Dissolvido	mg.L^{-1}	-
Temperatura	$^{\circ}\text{C}$	-
Turbidez	UNT	-
Fósforo Total	$\mu\text{g.L}^{-1}$	APHA (2012)
Nitrogênio Orgânico Total	mg.L^{-1}	APHA (2012)
Nitrito	$\mu\text{g.L}^{-1}$	MACKERETH <i>et al.</i> (1978)
Nitrato	$\mu\text{g.L}^{-1}$	MACKERETH <i>et al.</i> (1978)
Íon Amônio	$\mu\text{g.L}^{-1}$	KOROLEFF (1976)
Concentração do Pyrimethanil	mg.L^{-1}	COLLINS <i>et al.</i> (1997)

5.2.3. Macroinvertebrados bentônicos

As amostras de macroinvertebrados bentônicos foram retiradas dos mesocosmos por meio da utilização de um amostrador do tipo core. Assim como na amostragem de água, as coletas prosseguiram durante o período de um ano após a contaminação, totalizando 78 amostras. Seguindo o protocolo de processamento de amostras utilizado por Corbi (2006), o material coletado foi inicialmente fixado em formol a 4% e posteriormente armazenados em garrafas com álcool a 70%. Para a triagem, foram utilizadas bandejas translúcidas de polietileno colocadas sobre fontes luminosas, no intuito de facilitar a separação dos macroinvertebrados do restante do material. A identificação dos indivíduos encontrados prossegiu até o nível de família, exceto para o grupo Chironomidae, onde os organismos foram identificados até o nível de gênero.

Para a determinação das características comunitárias da fauna de macroinvertebrados bentônicos de cada tanque, foram quantificados os indivíduos de cada grupo taxonômico presente nas amostras. Concomitantemente, foram calculados os índices de riqueza de Margalef (I_{mg}), índice de diversidade de Shannon (H'), o índice de equitabilidade de Pielou e o índice de dominância.

5.3. Ensaios ecotoxicológicos laboratoriais

O organismo-teste selecionado para a utilização nos ensaios ecotoxicológicos foi a espécie *Chironomus sancticaroli* (Chironomidae, Diptera). A seleção desse organismo foi baseada em critérios como: sensibilidade do organismo a diferentes substâncias químicas, conhecimento de sua biologia, facilidade na obtenção de lotes de larvas e conhecimento de técnicas de cultivo em laboratório. Os cultivos foram realizados seguindo os métodos de manutenção modificados por Fonseca (1997). As condições do teste foram iguais às de cultivo dos lotes de larvas, com fotoperíodo de 12 horas e temperatura de 22 a 26°C. O procedimento adotado nos testes com as espécies foi o recomendado por Fonseca (1997) e Strixino & Strixino (1995), no qual se utiliza sedimento e água destilada na proporção de 1:4.

Por meio de ensaios de toxicidade aguda (Figura 3) foi avaliada a mortalidade de indivíduos, visando determinar a concentração de efeito letal (CL₅₀) utilizando-se larvas de 3º instar em um período de 96h de exposição. Foram utilizados 50 gramas de sedimento, 200 mL de água e 6 larvas por réplica. As concentrações de Pyrimethanil aplicadas no teste foram iguais às utilizadas por Araújo *et al.* (2014), com os seguintes valores em mg/L: 0,2; 0,4; 0,7; 0,9; 1,1 e 1,4.

Figura 3. Teste de toxicidade aguda com indivíduos de *Chironomus sancticaroli*.
(Foto: José Leonardo da Silva Mello, 20 de fevereiro de 2015).

5.4. Tratamento e Análise Estatística dos Dados

Os dados obtidos e anotações redigidas durante a execução das atividades de monitoramento, coleta e análises laboratoriais foram digitalizados e armazenados eletronicamente em pelo menos dois locais, minimizando assim a possibilidade de perda de informações. Com o auxílio do programa computacional PAST (Paleontological Statistics), foram calculadas as métricas e índices relacionados à estrutura comunitária de macroinvertebrados aquáticos. Posteriormente, com auxílio do mesmo programa, foram realizados testes t de Student, com nível de significância (α) equivalente a 0,05, para duas amostras independentes com o intuito de comparar os resultados obtidos para o grupo de mesocosmos tratados e o grupo de mesocosmos controles. O mesmo tipo de teste foi utilizado para comparar, tanto as variáveis abióticas da água obtidas no monitoramento, como os valores calculados das métricas da comunidade biológica.

O delineamento metodológico geral dessa pesquisa, assim como a frequência de execução para cada atividade, está detalhado de maneira sintética na Figura 4.

Figura 4. Delineamento metodológico geral (atividades de coleta, monitoramento, análises laboratoriais e ensaios de toxicidade).

6. RESULTADOS

6.1. Concentração do Pyrimethanil

No mês de fevereiro de 2013, as concentrações presentes nos mesocosmos tratados eram equivalentes a zero, caracterizando degradação completa do contaminante estudado (Tabela 4 e Figura 5).

Tabela 4. Valores das concentrações do fungicida Pyrimethanil (em mg.L⁻¹) mensurados durante o monitoramento.

Mesocosmos	17/10	20/10	29/10	26/11	11/1	15/2
1	1401	939,2	675,2	564,3	98,6	0
3	1293	1020,1	691,6	547,8	84,4	0
4	1399,1	913,9	670,1	403	59,1	0

Figura 5. Perfil temporal da degradação do fungicida Pyrimethanil (em mg.L⁻¹) nos mesocosmos tratados.

6.2. Variáveis Abióticas da Água

6.2.1. pH

As medições do pH apresentaram valores semelhantes em todos os mesocosmos, tanto nas unidades controles, quanto nas unidades tratadas com Pyrimethanil. Nos mesocosmos tratados (T) foram observados valores de pH entre 4,22 e 7,94, enquanto nos mesocosmos controles (C) os valores variaram

na faixa de 4,19 e 6,87 (Tabela 5). Na Figura 6, segue o perfil temporal de variação nas medições de pH ao longo dos meses de monitoramento dos mesocosmos.

Tabela 5. Valores médios das medições de pH obtidos durante o monitoramento, entre os meses de outubro de 2012 e outubro de 2013. *

	17/out	20/out	29/out	26/nov	11/jan	15/fev	15/mar	18/abr	15/mai	15/jun	16/jul	12/ago	16/set	15/out
T	5,29	4,85	5,13	4,82	4,61	4,74	5,29	6,34	6,98	5,77	5,57	5,67	5,71	5,09
											Mín.	4,22	Máx.	7,94
C	4,81	4,89	5,93	5,14	4,83	4,61	5,5	5,48	5,54	5,52	5,5	5,52	5,23	5,16
											Mín.	4,19	Máx.	6,87

*T = Tratados; C = Controles

Figura 6. Perfil temporal de pH nos mesocosmos, entre os meses de outubro de 2012 e outubro de 2013.

O resultado do teste F de Levene demonstrou que não houve variação estatisticamente diferente ao longo do tempo de monitoramento para os mesocosmos tratados e controles, ou seja, ambos os grupos apresentaram variâncias estatisticamente iguais de pH (valor de $p=0,25625$, maior que 0,05). Partindo da premissa que as variâncias intragrupos são estatisticamente iguais, pôde ser aplicado o teste t de Student para duas amostras independentes, com auxílio do programa computacional PAST (Paleontological Statistics). O

resultado desse teste apontou que as médias dos valores de pH obtidos são estatisticamente iguais (valor de $p=0,33713$, maior que 0,05), ou seja, o pH não foi estatisticamente diferente entre os mesocosmos tratados e controles.

6.2.2. Oxigênio Dissolvido

As concentrações de oxigênio dissolvido variaram entre 6,41 e 9,64 mg.L⁻¹, para os mesocosmos tratados, e entre 6,52 e 10,1 mg.L⁻¹ para os mesocosmos controles (Tabela 6). Na Figura 7, segue o perfil temporal de variação nas medições de oxigênio dissolvido ao longo dos meses de monitoramento dos mesocosmos.

Tabela 6. Valores médios das medições de oxigênio dissolvido (em mg.L⁻¹) obtidos durante o monitoramento, entre os meses de outubro de 2012 e outubro de 2013. *

	17/out	20/out	29/out	26/nov	11/jan	15/fev	15/mar	18/abr	15/mai	15/jun	16/jul	12/ago	16/set	15/out
T	7,61	9,55	8,09	7,22	7,03	6,48	6,57	8,5	6,72	7,28	7,91	8,11	6,92	6,85
											Mín.	6,41	Máx.	9,64
C	7,92	9,56	8,28	7,3	7,34	6,55	6,57	8,31	6,86	7,26	7,71	8,05	6,95	6,83
											Mín.	6,52	Máx.	10,1

*T = Tratados; C = Controles

Figura 7. Perfil temporal de oxigênio dissolvido (em mg.L⁻¹) nos mesocosmos, entre os meses de outubro de 2012 e outubro de 2013.

O resultado do teste F de Levene demonstrou que não houve variação estatisticamente diferente ao longo do tempo de monitoramento para os mesocosmos tratados e controles, ou seja, ambos os grupos apresentaram variâncias estatisticamente iguais de oxigênio dissolvido (valor de $p=0,9619$, maior que 0,05). Partindo da premissa que as variâncias intragrupos são estatisticamente iguais, pôde ser aplicado o teste t de Student para duas amostras independentes, com auxílio do programa computacional PAST (Paleontological Statistics). O resultado desse teste apontou que as médias dos valores de oxigênio dissolvido obtidos são estatisticamente iguais (valor de $p=0,80338$, maior que 0,05), ou seja, o oxigênio dissolvido não foi estatisticamente diferente entre os mesocosmos tratados e controles.

6.2.3. Condutividade Elétrica

Os valores da condutividade elétrica encontrados no monitoramento variaram entre 5 e 23 $\mu\text{S.cm}^{-1}$ para os mesocosmos tratados, e entre 6 e 25 $\mu\text{S.cm}^{-1}$ para os mesocosmos controles (Tabela 7). Na Figura 8, segue o perfil temporal de variação nas medições de condutividade elétrica ao longo dos meses de monitoramento dos mesocosmos.

Tabela 7. Valores médios das medições de condutividade elétrica (em $\mu\text{S.cm}^{-1}$) obtidos durante o monitoramento, entre os meses de outubro de 2012 e outubro de 2013. *

	17/out	20/out	29/out	26/nov	11/jan	15/fev	15/mar	18/abr	15/mai	15/jun	16/jul	12/ago	16/set	15/out
T	22	17	19	15	13	10	9	8	10	7	6	8	12	13
											Mín.	5	Máx.	23
C	22	18	20	16	14	11	10	9	11	8	9	11	16	14
											Mín.	6	Máx.	25

*T = Tratados; C = Controles

Figura 8. Perfil temporal de condutividade elétrica (em $\mu\text{S}\cdot\text{cm}^{-1}$) nos mesocosmos, entre os meses de outubro de 2012 e outubro de 2013.

O resultado do teste F de Levene demonstrou que não houve variação estatisticamente diferente ao longo do tempo de monitoramento para os mesocosmos tratados e controles, ou seja, ambos os grupos apresentaram variâncias estatisticamente iguais de condutividade elétrica (valor de $p=0,97487$, maior que 0,05). Partindo da premissa que as variâncias intragrupos são estatisticamente iguais, pôde ser aplicado o teste t de Student para duas amostras independentes, com auxílio do programa computacional PAST (Paleontological Statistics). O resultado desse teste apontou que as médias dos valores de condutividade elétrica obtidos são estatisticamente iguais (valor de $p=0,22509$, maior que 0,05), ou seja, a condutividade elétrica não foi estatisticamente diferente entre os mesocosmos tratados e controles.

6.2.4. Temperatura

Os valores de temperatura encontrados no monitoramento variaram entre 15,5 e 25,9 °C para os mesocosmos tratados, e entre 15,6 e 25,2 °C para os mesocosmos controles (Tabela 8). Na Figura 9, pode-se observar o perfil temporal de variação nas medições de temperatura ao longo dos meses de monitoramento dos mesocosmos.

Tabela 8. Valores médios das medições de temperatura (em °C) obtidos durante o monitoramento, entre os meses de outubro de 2012 e outubro de 2013. *

	17/out	20/out	29/out	26/nov	11/jan	15/fev	15/mar	18/abr	15/mai	15/jun	16/jul	12/ago	16/set	15/out
T	21,9	23,1	25	22,3	22,6	25,5	24,7	19,2	22,7	19,2	17,4	15,8	21,4	23,6
											Mín.	15,5	Máx.	25,9
C	21,7	22,7	24,7	22,1	22,3	25	24,5	19,6	22,7	19,1	17,4	15,7	21,3	23,6
											Mín.	15,6	Máx.	25,2

*T = Tratados; C = Controles

Figura 9. Perfil temporal de temperatura (em °C) nos mesocosmos, entre os meses de outubro de 2012 e outubro de 2013.

O resultado do teste F de Levene demonstrou que não houve variação estatisticamente diferente ao longo do tempo de monitoramento para os mesocosmos tratados e controles, ou seja, ambos os grupos apresentaram variâncias estatisticamente iguais de temperatura (valor de $p=0,81336$, maior que 0,05). Partindo da premissa que as variâncias intragrupos são estatisticamente iguais, pôde ser aplicado o teste t de Student para duas amostras independentes, com auxílio do programa computacional PAST (Paleontological Statistics). O resultado desse teste apontou que as médias dos valores de temperatura obtidos são estatisticamente iguais (valor de

$p=0,82655$, maior que 0,05), ou seja, a temperatura não foi estatisticamente diferente entre os mesocosmos tratados e controles.

6.2.5. Turbidez

Os valores de turbidez encontrados no monitoramento variaram entre 3 e 102 UNT para os mesocosmos tratados, e entre 2 e 81 UNT para os mesocosmos controles (Tabela 9). Na Figura 10, segue o perfil temporal de variação nas medições de turbidez ao longo dos meses de monitoramento dos mesocosmos.

Tabela 9. Valores médios das medições de turbidez (em UNT) obtidos durante o monitoramento, entre os meses de outubro de 2012 e outubro de 2013. *

	17/out	20/out	29/out	26/nov	11/jan	15/fev	15/mar	18/abr	15/mai	15/jun	12/ago	16/set	15/out
T	39	21	30	14	17	16	23	29	25	28	22	42	32
											Mín.	3	Máx. 102
C	10	33	32	34	37	25	17	16	13	20	17	26	27
											Mín.	2	Máx. 81

*T = Tratados; C = Controles

Figura 10. Perfil temporal de turbidez (em UNT) nos mesocosmos, entre os meses de outubro de 2012 e outubro de 2013.

O resultado do teste F de Levene demonstrou que não houve variação estatisticamente diferente ao longo do tempo de monitoramento para os mesocosmos tratados e controles, ou seja, ambos os grupos apresentaram variâncias estatisticamente iguais de turbidez (valor de $p=0,87602$, maior que 0,05). Partindo da premissa que as variâncias intragrupos são estatisticamente iguais, pôde ser aplicado o teste t de Student para duas amostras independentes, com auxílio do programa computacional PAST (Paleontological Statistics). O resultado desse teste apontou que as médias dos valores de turbidez obtidos são estatisticamente iguais (valor de $p=0,61169$, maior que 0,05), ou seja, a turbidez não foi estatisticamente diferente entre os mesocosmos tratados e controles.

6.2.6. Formas de Nitrogênio e Fósforo

Os valores de fósforo total obtidos nas análises das amostras de água coletadas durante o monitoramento variaram entre 0,6 e 200,4 $\mu\text{g.L}^{-1}$ para os mesocosmos tratados, e entre 33,2 e 189,8 $\mu\text{g.L}^{-1}$ para os mesocosmos controles (Tabela 10). Na Figura 11, segue o perfil temporal de variação nas medições de fósforo total ao longo dos meses de monitoramento dos mesocosmos.

Tabela 10. Valores médios das concentrações de fósforo total (em $\mu\text{g.L}^{-1}$) obtidos durante o monitoramento, entre os meses de outubro de 2012 e outubro de 2013. *

	17/out	20/out	29/out	26/nov	11/jan	15/fev	15/mar	18/abr	15/mai	15/jun	16/jul	12/ago	16/set	15/out
T	147	45,4	68,2	58,9	56	69,3	82,5	87,2	83,4	60,2	106,6	107,9	123,3	55,8
											Mín.	0,6	Máx.	200,4
C	160,9	64,4	29	79	73,1	74,2	69,5	58,6	62,3	59,8	74,7	93,2	94,6	88,2
											Mín.	33,2	Máx.	189,8

*T = Tratados; C = Controles

Figura 11. Perfil temporal de fósforo total (em $\mu\text{g.L}^{-1}$) nos mesocosmos, entre os meses de outubro de 2012 e outubro de 2013.

O resultado do teste F de Levene demonstrou que não houve variação estatisticamente diferente ao longo do tempo de monitoramento para os mesocosmos tratados e controles, ou seja, ambos os grupos apresentaram variâncias estatisticamente iguais de fósforo total (valor de $p=0,12993$, maior que $0,05$). Partindo da premissa que as variâncias intragrupos são estatisticamente iguais, pôde ser aplicado o teste t de Student para duas amostras independentes, com auxílio do programa computacional PAST (Paleontological Statistics). O resultado desse teste apontou que as médias dos valores de fósforo total obtidos são estatisticamente iguais (valor de $p=0,72866$, maior que $0,05$), ou seja, o fósforo total não foi estatisticamente diferente entre os mesocosmos tratados e controles.

Os valores de nitrogênio orgânico total obtidos nas análises das amostras de água coletadas durante o monitoramento variaram entre $0,19$ e $1,63 \text{ mg.L}^{-1}$ para os mesocosmos tratados, e entre $0,09$ e $2,00 \text{ mg.L}^{-1}$ para os mesocosmos controles (Tabela 11). Na Figura 12, segue o perfil temporal de variação nas medições de nitrogênio orgânico total ao longo dos meses de monitoramento dos mesocosmos.

Tabela 11. Valores médios das concentrações de nitrogênio orgânico total (em mg.L⁻¹) obtidos durante o monitoramento, entre os meses de outubro de 2012 e outubro de 2013. *

	17/out	20/out	29/out	26/nov	11/jan	15/fev	15/mar	18/abr	15/mai	15/jun	16/jul	12/ago	16/set	15/out
T	0,3	0,25	0,31	0,47	0,5	0,42	0,59	0,42	0,72	0,83	0,59	0,71	0,98	0,5
											Mín.	0,19	Máx.	1,63
C	0,43	0,26	0,45	0,67	0,9	0,56	0,9	0,61	0,7	0,62	0,39	0,76	0,56	0,65
											Mín.	0,09	Máx.	2

*T = Tratados; C = Controles

Figura 12. Perfil temporal de nitrogênio orgânico total (em mg.L⁻¹) nos mesocosmos, entre os meses de outubro de 2012 e outubro de 2013.

O resultado do teste F de Levene demonstrou que não houve variação estatisticamente diferente ao longo do tempo de monitoramento para os mesocosmos tratados e controles, ou seja, ambos os grupos apresentaram variâncias estatisticamente iguais de nitrogênio orgânico total (valor de $p=0,70834$, maior que 0,05). Partindo da premissa que as variâncias intragrupos são estatisticamente iguais, pôde ser aplicado o teste t de Student para duas amostras independentes, com auxílio do programa computacional PAST (Paleontological Statistics). O resultado desse teste apontou que as médias dos valores de nitrogênio orgânico total obtidos são estatisticamente iguais (valor de $p=0,41188$, maior que 0,05), ou seja, o nitrogênio orgânico total não foi estatisticamente diferente entre os mesocosmos tratados e controles.

Os valores de nitrito obtidos nas análises das amostras de água coletadas durante o monitoramento variaram entre 1,06 e 24,17 $\mu\text{g.L}^{-1}$ para os mesocosmos tratados, e entre 0,98 e 16,27 $\mu\text{g.L}^{-1}$ para os mesocosmos controles (Tabela 12). Na Figura 13, segue o perfil temporal de variação nas medições de nitrito ao longo dos meses de monitoramento dos mesocosmos.

Tabela 12. Valores médios das concentrações de nitrito (em $\mu\text{g.L}^{-1}$) obtidos durante o monitoramento, entre os meses de outubro de 2012 e outubro de 2013. *

	17/out	20/out	29/out	26/nov	11/jan	15/fev	15/mar	18/abr	15/mai	15/jun	16/jul	12/ago	16/set	15/out
T	3,77	4,26	3,73	2,68	2,03	2,81	4,68	10,07	4,10	5,54	5,98	3,58	3,78	5,01
											Mín.	1,06	Máx.	24,17
C	3,87	3,28	3,16	2,31	5,72	2,17	2,97	2,40	3,84	2,39	2,29	8,24	5,35	5,73
											Mín.	0,98	Máx.	16,27

*T = Tratados; C = Controles

Figura 13. Perfil temporal de nitrito (em $\mu\text{g.L}^{-1}$) nos mesocosmos, entre os meses de outubro de 2012 e outubro de 2013.

O resultado do teste F de Levene demonstrou que não houve variação estatisticamente diferente ao longo do tempo de monitoramento para os mesocosmos tratados e controles, ou seja, ambos os grupos apresentaram variâncias estatisticamente iguais de nitrito (valor de $p=0,15791$, maior que 0,05). Partindo da premissa que as variâncias intragrupos são estatisticamente

iguais, pôde ser aplicado o teste t de Student para duas amostras independentes, com auxílio do programa computacional PAST (Paleontological Statistics). O resultado desse teste apontou que as médias dos valores de nitrito obtidos são estatisticamente iguais (valor de $p=0,46835$, maior que 0,05), ou seja, o nitrito não foi estatisticamente diferente entre os mesocosmos tratados e controles.

Os valores de nitrato obtidos nas análises das amostras de água coletadas durante o monitoramento variaram entre 3,85 e 3186,70 $\mu\text{g.L}^{-1}$ para os mesocosmos tratados, e entre 4,07 e 1413,70 $\mu\text{g.L}^{-1}$ para os mesocosmos controles (Tabela 13). Na Figura 14, segue o perfil temporal de variação nas medições de nitrato ao longo dos meses de monitoramento dos mesocosmos.

Tabela 13. Valores médios das concentrações de nitrato (em $\mu\text{g.L}^{-1}$) obtidos durante o monitoramento, entre os meses de outubro de 2012 e outubro de 2013. *

	17/out	20/out	29/out	26/nov	11/jan	15/fev	15/mar	18/abr	15/mai	15/jun	16/jul	12/ago	16/set	15/out
T	31,43	99,71	27,22	314,20	297,27	96,49	324,03	348,12	1081,97	1653,29	101,29	22,67	815,84	1091,26
											Mín.	3,85	Máx.	3186,70
C	33,15	91,80	66,92	226,51	112,85	447,97	190,06	1062,06	975,83	916,70	230,27	307,11	191,07	887,91
											Mín.	4,07	Máx.	1413,70

*T = Tratados; C = Controles

Figura 14. Perfil temporal de nitrato (em $\mu\text{g.L}^{-1}$) nos mesocosmos, entre os meses de outubro de 2012 e outubro de 2013.

O resultado do teste F de Levene demonstrou que para o nitrato houve variação estatisticamente diferente ao longo do tempo de monitoramento para os mesocosmos tratados e controles, ou seja, os grupos amostrais apresentaram variâncias estatisticamente diferentes (valor de $p=0,0074541$, menor que 0,05). Dessa maneira, não foi possível aplicar o teste t de Student para duas amostras independentes.

Os valores de amônio obtidos nas análises das amostras de água coletadas durante o monitoramento variaram entre 18,19 e 977,89 $\mu\text{g.L}^{-1}$ para os mesocosmos tratados, e entre 22,29 e 2314,50 $\mu\text{g.L}^{-1}$ para os mesocosmos controles (Tabela 14). Na Figura 15, segue o perfil temporal de variação nas medições de amônio ao longo dos meses de monitoramento dos mesocosmos.

Tabela 14. Valores médios das concentrações de amônio (em $\mu\text{g.L}^{-1}$) obtidos durante o monitoramento, entre os meses de outubro de 2012 e outubro de 2013. *

	17/out	20/out	29/out	26/nov	11/jan	15/fev	15/mar	18/abr	15/mai	15/jun	16/jul	12/ago	16/set	15/out
T	42,94	30,39	27,42	73,26	194,57	38,66	66,50	480,69	44,56	175,25	29,11	92,50	97,45	170,01
											Mín.	18,19	Máx.	977,89
C	36,27	49,84	31,37	52,94	79,54	277,95	64,22	559,48	39,23	812,84	102,68	135,74	49,24	39,66
											Mín.	22,29	Máx.	2314,50

*T = Tratados; C = Controles

Figura 15. Perfil temporal de amônio (em $\mu\text{g.L}^{-1}$) nos mesocosmos, entre os meses de outubro de 2012 e outubro de 2013.

O resultado do teste F de Levene demonstrou que para o amônio houve variação estatisticamente diferente ao longo do tempo de monitoramento para os mesocosmos tratados e controles, ou seja, os grupos amostrais apresentaram variâncias estatisticamente diferentes (valor de $p=1,3754\text{E-}06$, menor que 0,05). Dessa maneira, não foi possível aplicar o teste t de Student para duas amostras independentes.

6.3. Macroinvertebrados bentônicos

Durante o período de monitoramento, foram coletados e identificados 647 exemplares de 6 famílias de macroinvertebrados bentônicos (Tabela 15). Em todas as unidades experimentais estudadas houve predomínio de indivíduos das famílias Chironomidae (Diptera) e Tubificidae (Oligochaeta). Nos mesocosmos tratados com Pyrimethanil, os indivíduos da família Chironomidae representaram 47,3% do total de indivíduos coletados, enquanto os indivíduos da família Tubificidae equivaleram a 49,1%. Já nos mesocosmos controle, os indivíduos da família Chironomidae representaram 36,9%, enquanto os indivíduos da família Tubificidae totalizaram 60,9%.

As famílias restantes foram representadas por indivíduos de Haliplidae (Coleoptera), Libellulidae (Odonata), Ephemerellidae e Caenidae (Ephemeroptera), porém com poucos indivíduos coletados.

Tabela 15. Participação total das famílias de macroinvertebrados bentônicos coletados nos mesocosmos e dos gêneros da família Chironomidae.

FAMÍLIAS	GENÊROS	TRATAMENTO	CONTROLE
Haliplidae	–	2	2
Libellulidae	–	5	4
Ephemerellidae	–	1	1
Caenidae	–	0	2
Tubificidae	–	109	259
Chironomidae		105	157
	<i>Procladius</i> sp. 1	26	16
	<i>Procladius</i> sp. 2	0	14
	<i>Tanytarsus</i> sp.	33	61
	<i>Ablabesmyia</i> Karelia	3	2
	<i>Chironomus</i> sp.	28	41
	<i>Polypedilum</i> sp.	0	3
	<i>Clinotanypus</i> sp.	14	20
	<i>Tanypus</i> sp.	1	0
	Total	222	425

6.3.1. Índice de Diversidade de Shannon (H')

Os valores do índice de diversidade de Shannon (H') calculados a partir da quantificação e identificação dos organismos coletados durante o monitoramento variaram entre 0 e 1,43 para os mesocosmos tratados, e entre 0 e 1,85 para os mesocosmos controles (Tabela 16). Na Figura 16, segue o perfil temporal de variação nos valores do índice de diversidade de Shannon ao longo dos meses de monitoramento dos mesocosmos.

Tabela 16. Valores médios do índice de diversidade de Shannon (H') calculados durante o monitoramento, entre os meses de outubro de 2012 e outubro de 2013. *

	20/out	29/out	26/nov	11/jan	15/fev	15/mar	18/abr	15/mai	15/jun	16/jul	12/ago	16/set	15/out
T	0,763	0,366	0,224	0,331	0,262	0,5967	0,507	0,476	0,824	0,58	0,52	0,944	0,212
										Mín.	0	Máx.	1,43
C	0,729	0,733	0,703	0,372	0,863	0,8043	1,285	0,69	0,708	0,79	0,885	0,4	0,443
										Mín.	0	Máx.	1,85

*T = Tratados; C = Controles

Figura 16. Perfil temporal do índice de diversidade de Shannon (H') nos mesocosmos, entre os meses de outubro de 2012 e outubro de 2013.

O resultado do teste F de Levene demonstrou que não houve variação estatisticamente diferente ao longo do tempo de monitoramento para os mesocosmos tratados e controles, ou seja, ambos os grupos apresentaram variâncias estatisticamente iguais para o índice de diversidade de Shannon (valor de $p=0,99267$, maior que 0,05). Partindo da premissa que as variâncias intragrupos são estatisticamente iguais, pôde ser aplicado o teste t de Student para duas amostras independentes, com auxílio do programa computacional PAST (Paleontological Statistics). O resultado desse teste apontou que as médias dos valores do índice de diversidade de Shannon calculados são estatisticamente iguais (valor de $p=0,96969$, maior que 0,05), ou seja, o índice

de diversidade de Shannon não foi estatisticamente diferente entre os mesocosmos tratados e controles.

6.3.2. Índice de Riqueza de Margalef (I_{mg})

Os valores do índice de riqueza de Margalef (I_{mg}) calculados a partir da quantificação e identificação dos organismos coletados durante o monitoramento variaram entre 0 e 1,864 para os mesocosmos tratados, e entre 0 e 2,276 para os mesocosmos controles (Tabela 17). Na Figura 17, segue o perfil temporal de variação nos valores do índice de riqueza de Margalef ao longo dos meses de monitoramento dos mesocosmos.

Tabela 17. Valores médios do índice de riqueza de Margalef (I_{mg}) calculados durante o monitoramento, entre os meses de outubro de 2012 e outubro de 2013. *

	20/out	29/out	26/nov	11/jan	15/fev	15/mar	18/abr	15/mai	15/jun	16/jul	12/ago	16/set	15/out
T	0,964	0,607	0,207	0,37	0,335	0,6533	0,712	0,494	0,986	0,96	0,853	1,569	0,303
										Mín.	0	Máx.	1,864
C	1,096	1,213	0,93	0,404	0,901	0,8174	1,606	0,876	0,921	0,9	1,24	0,426	0,633
										Mín.	0	Máx.	2,276

*T = Tratados; C = Controles

Figura 17. Perfil temporal do índice de riqueza de Margalef (I_{mg}) nos mesocosmos, entre os meses de outubro de 2012 e outubro de 2013.

O resultado do teste F de Levene demonstrou que não houve variação estatisticamente diferente ao longo do tempo de monitoramento para os mesocosmos tratados e controles, ou seja, ambos os grupos apresentaram variâncias estatisticamente iguais para o índice de riqueza de Margalef (valor de $p=0,99223$, maior que 0,05). Partindo da premissa que as variâncias intragrupos são estatisticamente iguais, pôde ser aplicado o teste t de Student para duas amostras independentes, com auxílio do programa computacional PAST (Paleontological Statistics). O resultado desse teste apontou que as médias dos valores do índice de riqueza de Margalef calculados são estatisticamente iguais (valor de $p=0,96832$, maior que 0,05), ou seja, o índice de riqueza de Margalef não foi estatisticamente diferente entre os mesocosmos tratados e controles.

6.3.3. Índice de Equitabilidade de Pielou (J)

Os valores do índice de equitabilidade de Pielou (J) calculados a partir da quantificação e identificação dos organismos coletados durante o monitoramento variaram entre 0 e 1, tanto para os mesocosmos tratados, como para os mesocosmos controles (Tabela 18). Na Figura 18, segue o perfil

temporal de variação nos valores do índice de equitabilidade de Pielou ao longo dos meses de monitoramento dos mesocosmos.

Tabela 18. Valores médios do índice de equitabilidade de Pielou (J) calculados durante o monitoramento, entre os meses de outubro de 2012 e outubro de 2013. *

	20/out	29/out	26/nov	11/jan	15/fev	15/mar	18/abr	15/mai	15/jun	16/jul	12/ago	16/set	15/out	
T	0,61	0,333	0,324	0,477	0,378	0,4805	0,584	0,495	0,612	0,65	0,597	0,982	0,306	
											Mín.	0	Máx.	1
C	0,856	0,667	0,562	0,385	0,603	0,7444	0,745	0,424	0,714	0,54	0,552	0,577	0,639	
											Mín.	0	Máx.	1

*T = Tratados; C = Controles

Figura 18. Perfil temporal do índice de equitabilidade de Pielou (J) nos mesocosmos, entre os meses de outubro de 2012 e outubro de 2013.

O resultado do teste F de Levene demonstrou que não houve variação estatisticamente diferente ao longo do tempo de monitoramento para os mesocosmos tratados e controles, ou seja, ambos os grupos apresentaram variâncias estatisticamente iguais para o índice de equitabilidade de Pielou (valor de $p=0,23549$, maior que 0,05). Partindo da premissa que as variâncias intragrupos são estatisticamente iguais, pôde ser aplicado o teste t de Student para duas amostras independentes, com auxílio do programa computacional PAST (Paleontological Statistics). O resultado desse teste apontou que as

médias dos valores do índice de equitabilidade de Pielou calculados são estatisticamente iguais (valor de $p=0,32447$, maior que 0,05), ou seja, o índice de equitabilidade de Pielou não foi estatisticamente diferente entre os mesocosmos tratados e controles.

6.3.4. Índice de Dominância

Os valores do índice de dominância calculados a partir da quantificação e identificação dos organismos coletados durante o monitoramento variaram entre 0 e 1, tanto para os mesocosmos tratados, como para os mesocosmos controles (Tabela 19). Na Figura 19, segue o perfil temporal de variação nos valores do índice de dominância ao longo dos meses de monitoramento dos mesocosmos.

Tabela 19. Valores médios do índice de dominância calculados durante o monitoramento, entre os meses de outubro de 2012 e outubro de 2013. *

	20/out	29/out	26/nov	11/jan	15/fev	15/mar	18/abr	15/mai	15/jun	16/jul	12/ago	16/set	15/out
T	0,236	0,111	0,507	0,788	0,838	0,666	0,663	0,716	0,213	0,292	0,333	0,403	0,852
											Mín.	0	Máx.
C	0,537	0,556	0,278	0,785	0,533	0,532	0,383	0,688	0,588	0,592	0,566	0,727	0,685
											Mín.	0	Máx.

*T = Tratados; C = Controles

Figura 19. Perfil temporal do índice de dominância nos mesocosmos, entre os meses de outubro de 2012 e outubro de 2013.

O resultado do teste F de Levene demonstrou que não houve variação estatisticamente diferente ao longo do tempo de monitoramento para os mesocosmos tratados e controles, ou seja, ambos os grupos apresentaram variâncias estatisticamente iguais para o índice de dominância (valor de $p=0,20903$, maior que $0,05$). Partindo da premissa que as variâncias intragrupos são estatisticamente iguais, pôde ser aplicado o teste t de Student para duas amostras independentes, com auxílio do programa computacional PAST (Paleontological Statistics). O resultado desse teste apontou que as médias dos valores do índice de índice de dominância calculados são estatisticamente iguais (valor de $p=0,36142$, maior que $0,05$), ou seja, o índice de dominância não foi estatisticamente diferente entre os mesocosmos tratados e controles.

6.3.5. Abundância Total e Número de Táxons

Os valores da abundância total de indivíduos quantificados durante o monitoramento variaram entre 0 e 34 para os mesocosmos tratados, e entre 0 e 39 para os mesocosmos controles (Tabela 20). Na Figura 20, segue o perfil

temporal de variação nos valores do índice de riqueza de Margalef ao longo dos meses de monitoramento dos mesocosmos.

Tabela 20. Valores médios da abundância total de indivíduos observada durante o monitoramento, entre os meses de outubro de 2012 e outubro de 2013. *

	20/out	29/out	26/nov	11/jan	15/fev	15/mar	18/abr	15/mai	15/jun	16/jul	12/ago	16/set	15/out
T	4	1	3	13	13	12	7	6	6	2	3	3	3
											Mín.	0	Máx.
C	4	4	4	12	30	20	21	11	11	10	6	4	4
											Mín.	0	Máx.

*T = Tratados; C = Controles

Figura 20. Perfil temporal da abundância total de indivíduos nos mesocosmos, entre os meses de outubro de 2012 e outubro de 2013.

O resultado do teste F de Levene demonstrou que não houve variação estatisticamente diferente ao longo do tempo de monitoramento para os mesocosmos tratados e controles, ou seja, ambos os grupos apresentaram variâncias estatisticamente iguais para a abundância total de indivíduos (valor de $p=0,107$, maior que 0,05). Partindo da premissa que as variâncias intragrupos são estatisticamente iguais, pôde ser aplicado o teste t de Student para duas amostras independentes, com auxílio do programa computacional PAST (Paleontological Statistics). O resultado desse teste apontou que as

médias dos valores do índice de diversidade de Shannon calculados são estatisticamente diferentes (valor de $p=0,0098388$, menor que 0,05). Dessa maneira, podemos afirmar que a abundância total de indivíduos foi estatisticamente diferente entre os mesocosmos tratados e controles.

Os valores do número de táxons quantificados durante o monitoramento variaram entre 0 e 5 para os mesocosmos tratados, e entre 0 e 7 para os mesocosmos controles (Tabela 21). Na Figura 21, segue o perfil temporal de variação nos valores do número de táxons ao longo dos meses de monitoramento dos mesocosmos.

Tabela 21. Valores médios do número total de táxons observado durante o monitoramento, entre os meses de outubro de 2012 e outubro de 2013. *

	20/out	29/out	26/nov	11/jan	15/fev	15/mar	18/abr	15/mai	15/jun	16/jul	12/ago	16/set	15/out
T	2	1	1	2	2	3	2	2	3	2	2	3	1
											Mín.	0	Máx.
C	2	2	2	2	4	3	6	3	3	3	4	2	2
											Mín.	0	Máx.
*T = Tratados; C = Controles													

*T = Tratados; C = Controles

Figura 21. Perfil temporal do número total de táxons nos mesocosmos, entre os meses de outubro de 2012 e outubro de 2013.

O resultado do teste F de Levene demonstrou que não houve variação estatisticamente diferente ao longo do tempo de monitoramento para os mesocosmos tratados e controles, ou seja, ambos os grupos apresentaram variâncias estatisticamente iguais para o número de táxons (valor de $p=0,075429$, maior que 0,05). Partindo da premissa que as variâncias intragrupos são estatisticamente iguais, pôde ser aplicado o teste t de Student para duas amostras independentes, com auxílio do programa computacional PAST (Paleontological Statistics). O resultado desse teste apontou que as médias dos valores do índice de diversidade de Shannon calculados são estatisticamente diferentes (valor de $p=0,0024021$, menor que 0,05). Dessa maneira, podemos afirmar que a abundância total de indivíduos foi estatisticamente diferente entre os mesocosmos tratados e controles.

A partir da diferença estatística entre as médias dos mesocosmos tratados e controles para a abundância total de indivíduos e número de táxons quantificados durante o monitoramento, foi possível analisar graficamente as figuras 20 e 21. Os perfis temporais de variação elucidados nos gráficos tornam perceptível o aumento sensível no número de táxons e na abundância total de indivíduos a partir da degradação total do Pyrimethanil em fevereiro de 2013. Os valores da abundância e quantidade de táxons observados ao longo do monitoramento foram mais elevados para o grupo de mesocosmos controles em detrimento ao grupo de mesocosmos do tratamento (Figura 22).

Figura 22. Box plot do número de táxons e abundância total de indivíduos observados durante o monitoramento, entre os meses de outubro de 2012 e outubro de 2013.

6.4. Teste de Toxicidade Aguda

Durante o teste de toxicidade aguda (tempo de exposição de 96 horas) em laboratório com *Chironomus sancticaroli*, foi observado mortalidade total dos organismos-teste em todas as seis concentrações de Pyrimethanil: 0,2; 0,4; 0,7; 0,9; 1,1 e 1,4 mg/L (Figura 23).

Figura 23. Valores de mortalidade (em %) obtidos no teste de toxicidade aguda com diferentes diluições do Pyrimethanil, utilizando o organismo-teste *C. sancticaroli*.

7. DISCUSSÃO

7.1. Variáveis Abióticas da Água

O potencial hidrogênionico (pH) é considerada uma variável de grande importância comumente utilizada no monitoramento da qualidade da água, por influenciar diversos processos biológicos e químicos que ocorrem dentro do curso de água (WETZEL, 2001). Os valores de pH observados nos mesocosmos durante o monitoramento apresentaram características ácidas (pH inferior a 7). Esse fato se deve às características ácidas do solo do entorno da Represa do Lobo, de onde foi obtida a água para a construção das unidades experimentais. A Represa do Lobo está localizada na bacia hidrográfica do Itaqueri, inserida em uma área do bioma cerrado que apresentam solos caracteristicamente ácidos (FREITAS, 2012).

O oxigênio dissolvido é um fator limitante para a manutenção da vida em ambientes aquáticos e também possui extrema importância nos processos naturais de autodepuração nesses ecossistemas (WETZEL, 2001). Valores de oxigênio dissolvido inferiores a 2 mg/L enquadram as águas em uma condição perigosa. Concomitantemente, a temperatura da água é considerada um dos fatores ecológicos mais importantes para a vida aquática. O oxigênio dissolvido e a temperatura estão intimamente relacionados à manutenção da vida no ambiente aquático, pois possíveis aumentos na temperatura podem acarretar aumento nas taxas metabólicas dos organismos, promovendo maior gasto energético e maior consumo de oxigênio. Nos mesocosmos foram observados valores altos de oxigênio dissolvido, nunca inferiores à 6,4 mg/L⁻¹. A temperatura aferida, durante o monitoramento, esteve entre 15,5 e 25,9 °C.

A condutividade elétrica é a expressão numérica da capacidade da água em conduzir corrente elétrica (WETZEL, 2001). Representa, indiretamente, uma medição da concentração de poluentes presentes na água, pois depende das concentrações iônicas e da temperatura, indicando a quantidade de sais existentes na coluna d'água. Valores de condutividade elétrica superiores a 100 $\mu\text{S.cm}^{-1}$ indicam ambientes impactados. No presente estudo, os valores observados de condutividade elétrica podem ser considerados baixos (inferiores a 25 $\mu\text{S.cm}^{-1}$), em todos os mesocosmos

A turbidez é uma propriedade visual da água que implica na redução ou aumento da visibilidade através da coluna d'água resultante da presença ou ausência de partículas em suspensão ou suspensóides (WETZEL, 2001). A turbidez normalmente se dá por partículas inorgânicas originadas pela erosão do solo do entorno do corpo hídrico ou por ressuspensão do sedimento de fundo. Os valores de turbidez monitorados foram baixos em ambos os grupos de mesocosmos, entretanto, foram registrados valores mais elevados (de 60 a 102 UNT).

O nitrogênio é considerado um dos elementos mais importantes para o metabolismo dos ambientes aquáticos. Quando presente em concentrações baixas pode representar um fator limitante na produção primária do ecossistema de estudo. O nitrogênio se apresenta nos ambientes aquáticos sob as formas de nitrato (NO_3^-), nitrito (NO_2^-), amônia (NH_3) e amônio (NH_4^+). Estes compostos são extremamente importantes para os organismos produtores, pois representam sua única fonte de nitrogênio (WETZEL, 2001). Concomitantemente ao nitrogênio, o fósforo é um elemento muito importante, pois permite o funcionamento de processos fundamentais dos seres vivos, como o armazenamento de energia e estruturação das membranas celulares (MARGALEF, 1983). Os valores determinados durante o monitoramento para as formas de nitrogênio e fósforo variaram aleatoriamente de maneira a classificar as águas dos mesocosmos, de acordo com Vollenweider (1968), entre oligotróficas e mesotróficas.

Para as variáveis abióticas da água, não houve diferença estatística entre os grupos de mesocosmos tratados e controles, com exceção para as variáveis nitrato e íon amônio. Todavia, as diferenças encontradas nessas medições não foram expressivas ou significativas para apontar a influência do Pyrimethanil sobre o compartimento água ou possível interferência sobre a estrutura e dinâmica da comunidade de macroinvertebrados bentônicos. Houve valores elevados de amônio tanto para mesocosmos controles, como para os tratados.

7.2. Macroinvertebrados bentônicos

Os valores obtidos pelos cálculos das métricas comunitárias enunciaram uma baixa diversidade de grupos de macroinvertebrados bentônicos, em ambos os grupos de mesocosmos. O valor mais elevado do índice de riqueza de Margalef foi observado no mesocosmo de número 5 do grupo controle ($I_{mg} = 2,276$). Os valores dos índices de dominância, equitabilidade de Pielou, diversidade de Shannon corroboraram com os obtidos pela riqueza de Margalef, delimitando altos valores de dominância e baixos valores de equitabilidade. Ou seja, a comunidade de macroinvertebrados bentônicos presentes nas unidades experimentais é pouco rica e diversa, apresentando dominância de grupos específicos.

Para os valores das métricas que descrevem a estrutura comunitária de macroinvertebrados bentônicos, também não houve diferença estatística entre os grupos de mesocosmos tratados e controles. Entretanto, foram observadas diferenças estatísticas referentes ao número de táxons e abundância de indivíduos presentes nos diferentes grupos de mesocosmos. Após a degradação completa do Pyrimethanil é evidente um crescimento no número de indivíduos coletados nos mesocosmos. Concomitantemente, a partir desse momento foram observados novos grupos de organismos colonizando os mesocosmos. Tanto para a abundância, quanto para o número de táxons, o grupo de mesocosmos controles sempre apresentou valores mais elevados em detrimento aos mesocosmos tratados.

A baixa riqueza e grande homogeneidade da estrutura comunitária de macroinvertebrados bentônicos presentes nos mesocosmos podem ser explicadas de várias maneiras. De acordo com Bojsen & Jacobsen (2003), cursos de água localizados em áreas abertas, sem a presença de mata ciliar em seu entorno, apresentam características que propiciam o aumento da biomassa de perífiton, decorrente da maior incidência de luz e da ausência de matéria orgânica em decomposição no leito, favorecendo assim a presença de grupos detritívoros e exclusão de grupos fragmentadores. No presente estudo, os mesocosmos estavam localizados em uma área aberta, exposta a luminosidade, podendo assim acarretar o empobrecimento da fauna de macroinvertebrados neles presentes.

Caquet *et al.* (2000) apontaram que em estudos com mesocosmos que simulam ambientes lênticos, a colonização espontânea de macroinvertebrados pode demorar e exigir vários meses para acontecer. Quando a colonização por meio de processos naturais é o único mecanismo envolvido, as comunidades aquáticas de insetos que se desenvolvem nos mesocosmos são dominadas por organismos de comportamento detritívoro e por predadores voadores. Fato observado nos mesocosmos estudados evidente na alta presença de indivíduos detritívoros da família Chironomidae (Diptera) e indivíduos de predadores Libellulidae (Odonata).

Em experimentos realizados em unidades experimentais de campo (mesocosmos) que investigam processos ecológicos de lagos e represas (ambientes lênticos), fatores como a ausência de fluxo de água, bem como a ausência de ondas, o aumento no crescimento de perífiton, as alterações na iluminação e outros efeitos de bordas devem ser levados em conta, pois podem acarretar efeitos restritivos sobre as comunidades biológicas estudadas (ROCHE *et al.*, 1993). O simples fato da ausência de fluxo contínuo de água pode vir a excluir grupos de organismos que habitam ambientes lóticos ou de transição, criando assim um empobrecimento na estrutura comunitária estudada que não está relacionado ao processo estressor investigado. A ausência de fluxo de água atua como barreira, fragmentando o ambiente aquático, reduzindo a diversidade de habitats, acarretando assim mudanças significativas na composição e abundância das comunidades aquáticas (KLEMM *et al.* 2003; HORSÁK *et al.* 2009).

No teste laboratorial de toxicidade aguda foi observada mortalidade total de indivíduos de *Chironomus sancticaroli* em todas as concentrações de Pyrimethanil aplicadas, demonstrando alta toxicidade do composto em situação de laboratório. Os resultados obtidos neste experimento apontam dados diferentes dos obtidos nos mesocosmos, evidenciando que a toxicidade do fungicida Pyrimethanil em ambientes mais semelhantes aos naturais é menor aos macroinvertebrados bentônicos, provavelmente em virtude da influência que processos naturais acarretam na dinâmica e degradação do composto no ambiente.

8. CONCLUSÕES

- O monitoramento ambiental realizado em unidades experimentais de campo, os mesocosmos, atrelado às metodologias e abordagens laboratoriais presentes no campo da ecotoxicologia, podem proporcionar valiosas percepções sobre os mecanismos que governam a estrutura e a dinâmica da comunidade de macroinvertebrados bentônicos.
- O presente estudo demonstrou que o fungicida Pyrimethanil não acarretou alterações significativas nas variáveis analisadas no compartimento água. Da mesma forma, a estrutura comunitária de macroinvertebrados bentônicos apresentou características semelhantes entre os mesocosmos tratados e controles.
- Os valores baixos de riqueza e diversidade e altos de dominância de grupos detritívoros apontam para a possibilidade da estrutura do experimento ter influenciado a colonização da comunidade de macroinvertebrados bentônicos presentes nos mesocosmos. Entretanto, com a degradação completa do Pyrimethanil e o relativo aumento de indivíduos coletados em ambos os grupos de mesocosmos, deve-se analisar a possibilidade de que uma recolonização entre as unidades experimentais tratadas e controles passou a ocorrer após a degradação do contaminante.
- Ao longo de todo o período de monitoramento, o grupo de mesocosmos controles apresentou maior abundância de indivíduos e quantidade total de táxons do que os mesocosmos tratados com Pyrimethanil.
- O teste laboratorial de toxicidade aguda demonstrou elevada toxicidade do Pyrimethanil sobre indivíduos da espécie *Chironomus sancticaroli*. Vale ressaltar que o teste realizado em laboratório foi executado em condições diferentes das encontradas nos experimentos de campo nos mesocosmos, onde o aumento do número de variáveis ambientais que ocorrem pode vir a mitigar impactos presentes sobre a comunidade de macroinvertebrados bentônicos.

9. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALLAN, J. D. Stream ecology: structure and function of running waters. London: ed. Chapman & Hall, 1995, 388p.

ANFOSSI, L. et al. 2006 Degradation of anilinopyrimidine fungicides photoinduced by iron (III)-polycarboxylate complexes. Pest Management Science. 62:872-879.

AMERICAN PUBLIC HEALTH ASSOCIATION (APHA); AMERICAN WATER WORK ASSOCIATION; WATER CONTROL FEDERATION. Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater. Washington. 22° Ed. EUA, 2012.

ARAÚJO, C. V. M. et al. 2014. Avoidance response of *Danio rerio* to a fungicide in a linear contamination gradient. Sci. Total Environ. 484, 36-42.

BENKE A. C. et al. 1984. Secondary production of aquatic insects. Pages 289-322. In: Resh, V. H. & Rosenberg, D. M. (eds.). Ecology of aquatic insects. Prager Scientific, New York.

BEYERS, R. J. 1964. The microcosm approach to ecosystem biology. Am. Biol. Teacher, 26:491-498.

BOJSEN, B. H. & JACOBSEN D. Effects of deforestation on macroinvertebrate diversity and assemblage structure in Ecuadorian Amazon streams. Archiv Für Hydrobiologie, 158(3):317-342. 2003.

BONADA, N. et al. 2006. Developments in aquatic insect biomonitoring: A comparative analysis of recent approaches. Annual Review of Entomology. 51:495-523.

BOYERO, L. & BAILEY, R. C. 2001. Organization of macroinvertebrate communities at a hierarchy of spatial scales in a tropical stream. Hydrobiologia. 464:219-225.

CAIRNS, J. Jr. & NIEDERLEHNER, B. R. 1995. Ecological Toxicity Testing. Lewis Publishers, Boca Raton, USA. 228p.

CAQUET, T. et al. 2000. Mesocosms in Ecotoxicology: Outdoor Aquatic Systems. Springer-Verlag. Rev. Environ. Contam. Toxicol. 165:1-38.

CARTER J. L. et al., 2006 Macroinvertebrates as Biotic Indicators of Environmental Quality. pp. 805-831 In: F. R. HAUER and G.A. LAMBERTI (eds.). Methods in stream ecology. Second Edition. Academic Press, San Diego, CA. 877p.

COLLINS, C. H. et al. 1997. Introdução a métodos cromatográficos. Editora UNICAMP. 279 p.

CORBI, J. J. 2006. Influência de prática de manejo de solo sobre os macroinvertebrados aquáticos: ênfase para o cultivo de cana-de-açúcar em áreas adjacentes. Tese (Doutorado de Ciências Biológicas) – Programa de Pós-Graduação em Ecologia e Recursos Naturais, Centro de Ciências Biológicas e da Saúde, Universidade Federal de São Carlos, São Carlos, São Paulo, Brasil, 93p.

CORBI, J.J. et al. 2008. Relationship between Sugar Cane Cultivation and Stream Macroinvertebrate Communities. Brazilian Archives of Biology and Technology. Vol.51. N.4. pp.769-779.

CORBI, J. J. et al. 2013. Are aquatic insect species sensitive to banana plant cultivation? Ecological Indicators. 25:156-161.

COSTA, C. R. et al. A toxicidade em ambientes aquáticos: Discussão e métodos de avaliação. Química Nova. V.31; N.7, p.1820-1830. 2008.

CROSSLAND, N. O. et al. 1992. Summary and recommendations of the European Workshop on Freshwater Field Tests (EWOFFT), Potsdam, Germany, June 25-26.

CRUM, S. J. H. & BROCK, C. M. 1994. Fate of chlorpyrifos in indoor microcosms and outdoor experimental ditches. In: I. R. Hill et al. (eds.). Freshwater Field Tests for Hazard Assessment of Chemicals. Lewis, Boca Raton, FL, USA, pp.315-322.

CUMMINS, K. W. 1974. Structure and function of stream ecosystems. BioScience. 24:631-641.

CALIJURI, M. C. & CUNHA, D. G. F. Engenharia Ambiental: Conceitos, Tecnologia e Gestão. Rio de Janeiro: Elsevier, 2013. 789p.

DANCE, K. W. & HYNES, H. B. N. Some Effects of Agricultural Land Use on Stream Insects Communities. *Environmental Pollution*. 22:19-28. 1980.

DORNFELD, C. B. 2006. Utilização de *Chironomus sp* (Diptera, Chironomidae) para a avaliação da qualidade de sedimentos e contaminação por metais. Tese (Doutorado em Ciências da Engenharia Ambiental), Programa de Pós-Graduação em Ciências da Engenharia Ambiental, Escola de Engenharia de São Carlos, Universidade de São Paulo, São Carlos, São Paulo, Brasil, 239 p.

JACOBSEN, D. et al. 2008. Macroinvertebrates: Composition Life Histories and Production. In: Dudgeon D. *Tropical stream ecology*: 65-105.

EUROPEAN FOOD SAFETY AUTHORITY (EFSA). Conclusion regarding the peer review of the pesticide risk assessment of the active substance pyrimethanil. EFSA scientific report, 61. p 1-70 2006.

EPLER, J. H. Identification manual for the larval Chironomidar (Diptera) of Florida: DER, (Final Report, SP251), 1992.

FONSECA, A. L. 1997. Avaliação da qualidade da água na bacia do Rio de Piracicaba/SP através de testes de toxicidade com invertebrados. Tese de Doutorado. Escola de Engenharia de São Carlos, Universidade de São Paulo, São Carlos, São Paulo.

FREITAS, L. D. 2012. Heterogeneidade espacial e temporal do zooplâncton em sistemas lóticos e lênticos da bacia hidrográfica do Lobo (Itirapina-Brotas/SP) Dissertação (Mestrado em Ciências da Engenharia Ambiental). Escola de Engenharia de São Carlos, Universidade de São Carlos, São Carlos, São Paulo. 216 p.

GAYRAUD, S. et al. 2003. Invertebrate traits for the biomonitoring o large European rivers: An initial assessment of alternative metrics. *Freshwater Biology*. 48:1-20.

GIL, F. N. et al. 2015. Suitability of a *Saccharomyces cerevisiae*-based assay to assess the toxicity of pyrimethanil sprayed soils via surface runoff: Comparison with standard aquatic and soil toxicity assays. *Science of the Total Environment*. 505:161-171.

GILLER, P. S. et al. 2004. Biodiversity effects on ecosystem functioning: emerging issues and their experimental test in aquatic environments. *Oikos Journal*. 104:423-436.

GRANEY, R. L. et al. 1995. Field studies. In: Rand G. M. (eds.). *Fundamentals of Aquatic Toxicology*, 2nd Ed. Taylor & Francis, Washington, DC. 257-305.

HAUER, F. R. & RESH, V. H. pp. 435-454 In: F. R. HAUER & G.A. LAMBERTI (eds.). *Methods in stream ecology*. Second Edition. Academic Press, San Diego, CA. 877p.

HAUER, F. R. et al. 2000. Distribution and abundance patterns of macroinvertebrates in a mountain stream: An analysis along multiple environmental gradients. *Verhandlungen der Internationalen Vereinigung für Theoretische und Angewandte Limnologie*. 27:1485-1488.

HELLAWELL, J. M. 1986. *Biological Indicators of Freshwater Pollution and Environmental Management*. Elsevier, New York, NY.

HODGSON, E. 2004. *A Textbook of Modern Toxicology*. 3rd ed. John Wiley & Sons; New Jersey.

HOKE, R. A. et al. 1993. Toxicity of Sediments and Sediment Pore Waters from the Grand Calumet River-Indiana Harbor, Indiana Area of Concern. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, v.26, n.1, p.86-112.

HORSÁK, M. et al. 2009. Impact of reservoirs and channelization on lowland river macroinvertebrates: a case study from central Europe. *Limnologica*. 39:140-151.

HOSE, G. E. et al. 2004. Reproducibility of AUSRIVAS rapid bioassessments using macroinvertebrates. *Journal of the North American Benthological Society*. 23:126-139.

HYNES, H. B. N. 1970. *The Ecology of Running Waters*. University of Toronto Press, Toronto, Canada.

KANGAS, P. & ADEY, W. 1996. Mesocosms and ecological engineering. *Ecological Engineering*, 6:1-5.

- KLEMM, D. J. et al. 2003. Development and evaluation of a macroinvertebrate biotic integrity index (MBII) for regionally assessing Mid-Atlantic Highlands streams. *Environmental Management*. 31:656-669.
- KOROLEFF, F. 1976. Determination of nutrients. *in*: Grasshof, K. *Methods of seawater analysis*. Verlag. Chemie. Weinheim, 117-181.
- LAMOUREUX, N. et al. 2004. Biological traits of stream macroinvertebrate communities: Effects of macrohabitat, reach, and basin filters. *Journal of the North American Benthological Society*. 23:449-466.
- MACKERETH, H. F. J. H. et al. 1978. *Water analysis: some revised methods for limnologist*. Freshwater Biological Association Scientific Publishers. 117p.
- MARGALEF, R. 1983. *Limnologia*. Barcelona: Omega. 951p.
- MELLO, J. L. S. 2013. Métodos de avaliação de integridade de cursos d'água: Elaboração e proposição de um protocolo de avaliação rápida (PAR) de córregos e riachos. Monografia (Bacharelado em Gestão e Análise Ambiental), Centro de Ciências Biológica e da Saúde, Universidade Federal de São Carlos, São Carlos, São Paulo. 34p.
- MOISEENKO, T. I. 2008. Aquatic ecotoxicology: theoretical principles and practical application. *Wat. Red.*, 35:530-541.
- MÜLLER, R. et al. 2012. Simulated climate change conditions unveil the toxic potential of the fungicide pyrimethanil on the midge *Chironomus riparius*: a multigeneration experiment. *Ecol. Evol.* 2(1), 196-210.
- ODUM, H. T. 1960. Ten classroom sessions in ecology. *Am Biol. Teacher*, 22:71-78.
- ODUM, E. P. 1984. The mesocosm. *BioScience* 34:558-562.
- PLAA, G. L. 1982. Present status: toxic substances in the environment. *Can. J. Physiol. Pharmacol.*, 60:1010-1016.
- RAND, G. M. et al. 1995. *Fundamentals of Aquatic Toxicology. Effects, environmental fate and risk assessment*. Second Edition. Taylor & Francis, Washington, DC. 1125p.

RIBO, J. M. 1997. Interlaboratory comparison studies of the luminescent bacteria toxicity bioassay. *Environmental Toxicology and Water Quality*. V. 12 N. 4. pp. 283-294.

RICHARDS, C. et al. 1996. Landscape-scale influences on stream habitats and biota. *Can. J. Fish. Aquat. Sci.* 53:295-311.

ROCHE, K. F. 1993. Impact of *Holoscheses heterodon* Eigenmann (Pisces: Characidae) on the plankton community of a subtropical reservoir: the importance of predation by *Chaoborus* larvae. *Hydrobiologia*. 254:7-20.

RODRIGUES, A. S. L. 2008. Adequação de um protocolo de avaliação rápida para o monitoramento ambiental de cursos d'água inseridos em campos rupestres. Dissertação (Mestrado em Ciências Naturais). Pós-Graduação em Evolução Crustal e Recursos Naturais, Universidade Federal de Ouro Preto, Ouro Preto, Minas Gerais. 118p.

ROY, A. H. et al. 2003. Habitat-specific responses of stream insects to land disturbance: Biological consequences and monitoring implications. *Journal of the North American Benthological Society*. 22:292-307.

SANCHEZ, A. L. 2012. Análise de risco ecológico para o diagnóstico de impactos ambientais em ecossistemas aquáticos continentais tropicais. Dissertação (Mestrado em Ciências da Engenharia Ambiental). Escola de Engenharia de São Carlos, Universidade de São Carlos, São Carlos, São Paulo. 216 p.

SEELAND, A. et al. 2012. Aquatic ecotoxicity of the fungicide Pyrimethanil: Effect profile under optimal and thermal stress conditions. *Environmental Pollution*. 168:61-169.

SEELAND, A. et al. 2013. Life stage-specific effects of the fungicide Pyrimethanil and temperature on the snail *Physella acuta* (Draparnaud, 1805) disclose the pitfalls for the aquatic risk assessment under global climate change. *Environmental Pollution*. 174:1-9.

SHAW, J. L. & KENNEDY, J. H. 1996. The use of aquatic field mesocosm studies in risk assessment. *Environmental Toxicology and Chemistry*. 15(5):605-607.

SHAW, J. L. & MANNING, J. P. 1996. Evaluating macroinvertebrate population and community level effects in outdoor microcosms: Use of in situ bioassays and multivariate analysis. *Environ. Toxicol. Chem.* 15:608-617.

SHIIN, C. et al. 2015. Immediate and mid-term effects of pyrimethanil toxicity on microalgae by simulating an episodic contamination. *Chemosphere*. 120: 407-413.

STATZNER, B. et al. 2005. Invertebrate traits for the biomonitoring of large European rivers: Na initial assessment of traits patterns in least impacte driver reaches. *Freshwater Biology*, 50:2136-2161.

STRIXINO, T. S. & STRIXINO, G. 1982. Ciclo de vida de *Chironomus sancticaroli* Strixino & Strixino, (Diptera: Chironomidae). *Revista Brasileira de Entomologia*. V.26, n.2, p.183-189.

STRIXINO, S. 1980. Estudos sobre a fecundidade de *Chiromus sancarlensis* sp (Diptera: Chironomidae). Instituto de Biociências, Universidade de São Paulo, São Paulo. 349p.

TOMLIN, C. 1997. The Pesticide Manual, 11^o edition. The British Crop Protection Council and the Royal Society of Chemistry Bath Press, Bath.

TRIVINHO-STRIXINO, S. & STRIXINO, G. 1995. Larvas de Chironomidae (Diptera) do Estado de São Paulo: Guia de identificação e diagnose de gêneros. São Carlos: Programa de Pós-Graduação em Ecologia e Recursos Naturais. 227p.

TSUI, M. T. K. & CHU, L. M. 2004. Comparative Toxicity of Glyphosate-Based Herbicides: Aqueous and Sediment Porewater Exposures. *Archives of Environmental Contamination and Toxicology*. V.46, n.3. p.316-323.

TUNDISI, J. G. & MATSUMURA-TUNDISI, T. 2008. Limnologia. São Paulo: Oficina de Textos. 631p.

VERDISSON, S. et al. 2001. Effects of procymidone, fludioxonil and Pyrimethanil on two non-target aquatic plants. *Chemosphere*. 44(3):467-474.

VOLLENWEIDER, R. A. 1968. Scientific Fundamentals of the Eutrophication of lakes and flowing waters, with particular reference to Nitrogen and Phosphorus

as factors in Eutrophication. Pari Rep. Organization for Economic cooperation and Development. 192p.

VÖROSMARTY, C. J. et al. 2010. Global threats to human water security and river biodiversity. Nature 467:555-561.

WETZEL, R. G. Limnology: Lake and River Ecosystems. Elsevier Academic Press. 2001. 1006p.

ZAGATTO, P. A. & BERTOLETTI, E. 2006. Ecotoxicologia aquática princípios e aplicações. São Carlos, RIMA, 478 p.