UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
ESCOLA DE ENGENHARIA DE SÃO CARLOS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS DA
ENGENHARIA AMBIENTAL

Júlio César dos Santos Lima

Avaliação da toxicidade de metais sobre os macroinvertebrados bentônicos tropicais *Tramea cophysa* (Libellulidae, Odonata), *Chlamydotheca* sp. (Cyprididae, Ostracoda) e *Strandesia trispinosa* (Cyprididae, Ostracoda)

São Carlos -SP
2019

Júlio César dos Santos Lima

**Avaliação da toxicidade de metais sobre os macroinvertebrados bentônicos tropicais
Tramea cophysa (Libellulidae, Odonata), *Chlamydotheca* sp. (Cyprididae, Ostracoda) e
Strandesia trispinosa (Cyprididae, Ostracoda)**

Versão Corrigida

Tese apresentada a Escola de Engenharia de São Carlos,
Universidade de São Paulo, como parte dos pré-
requisitos para a obtenção do título de Doutor em
Ciências da Engenharia Ambiental.

Orientadora: Pra. Dra. Odete Rocha

São Carlos -SP

2019

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.

Ficha catalográfica elaborada pela Biblioteca Prof. Dr. Sérgio Rodrigues Fontes da
EESC/USP com os dados inseridos pelo(a) autor(a).

D732a dos Santos Lima, Júlio César
Avaliação da toxicidade de metais sobre os
macroinvertebrados bentônicos tropicais *Tramea cophisa*
(Libellulidae, Odonata), *Chlamydotheca* sp. (Cyprididae,
Ostracoda) e *Strandesia trispinosa* (Cyprididae,
Ostracoda) / Júlio César dos Santos Lima; orientadora
Odete Rocha. São Carlos, 2019.

Tese (Doutorado) - Programa de Pós-Graduação e Área
de Concentração em Ciências da Engenharia Ambiental --
Escola de Engenharia de São Carlos da Universidade de
São Paulo, 2019.

1. Toxicidade. 2. Metais. 3. Espécies Tropicais. 4.
Odonata. 5. Ostracoda. 6. Distribuição da Sensibilidade
de Espécies. 7. Toxicidade de Misturas. I. Título.

FOLHA DE JULGAMENTO

Candidato: Bacharel **JÚLIO CÉSAR DOS SANTOS LIMA**.

Título da tese: "Avaliação da toxicidade de metais sobre os macroinvertebrados bentônicos tropicais *Tramea cophisa* (Libellulidae, Odonata), *Chlamydoteca* sp. (Cyprididae, Ostracoda) e *Strandesia trispinosa* (Cyprididae, Ostracoda)".

Data da defesa: 28/02/2019.

Comissão Julgadora:

Profa. Dra. **Odete Rocha**
(Orientadora)
(Universidade Federal de São Carlos/UFSCar)

Prof. Associado **Juliano Jose Corbi**
(Escola de Engenharia de São Carlos/EESC)

Profa. Dra. **Maria da Graça Gama Melão**
(Universidade Federal de São Carlos/UFSCar)

Prof. Dr. **Irineu Bianchini Junior**
(Universidade Federal de São Carlos/UFSCar)

Profa. Dra. **Mirna Helena Regali Seleglim**
(Universidade Federal de São Carlos/UFSCar)

Resultado:

Odete Rocha
APROVADO

APROVADO

Aprovado

Fu B. J.
Aprovado

APROVADO

Coordenador do Programa de Pós-Graduação em Ciências da Engenharia Ambiental:

Prof. Associado **Frederico Fabio Mauad**

Decano da Comissão de Pós-Graduação:

Prof. Titular **Humberto Breves Coda**

AGRADECIMENTOS

-À professora Dra. Odete Rocha, pela amizade, confiança, paciência, pelos ensinamentos e pelos exemplos de cooperação e solidariedade;

-Ao CNPQ pela concessão de bolsa de estudos durante 36 meses do Doutorado;

-À CAPES pela concessão da bolsa de estudos durante 07 meses do Doutorado;

-Aos docentes, Coordenação e Secretaria do Programa de Pós-Graduação em Ciências da Engenharia Ambiental da Escola de Engenharia de São Carlos da Universidade de São Paulo;

-Aos docentes, Coordenação e Secretaria do Programa de Pós-Graduação em Ecologia e Recursos Naturais da Universidade Federal de São Carlos;

-Aos docentes que participaram da minha banca de qualificação e de defesa da Tese, pelo tempo cedido e pelas tantas contribuições ao trabalho;

-Aos meus colaboradores e futuros co-autores;

- Ao professor Dr. Michiel Adriaan Daam, do Departamento Departamento de Ciências Ambientais e Engenharia da Faculdade de Ciências e Tecnologia, Nova Universidade de Lisboa, Portugal, por todo auxílio na construção deste trabalho;

- A Dr. Norma Luíza Wurdig, da Universidade Federal do Rio Grande do Sul, pela identificação das espécies de Ostracoda;

- Aos funcionários do Departamento de Ecologia e Biologia Evolutiva da Universidade Federal de São Carlos;

- A toda minha família (Mãe Neusa, Pai Júlio, Tia Maria e Tio João, Vó Helena, Irmã Juliana, Companheira Soraya, Enteada Maryna) que de alguma forma contribuíram, com todo amor, carinho e paciência, para o desenvolvimento e finalização desse trabalho;

RESUMO

Santos Lima, J. C. Avaliação da toxicidade de metais sobre os macroinvertebrados bentônicos tropicais *Tramea cophysa* (Libellulidae, Odonata), *Chlamydotheca* sp. (Cyprididae, Ostracoda) e *Strandesia trispinosa* (Cyprididae, Ostracoda) 2019. 128 f. Tese (Doutorado em Ciências da Engenharia Ambiental) – Escola de Engenharia de São Carlos, Universidade de São Paulo, São Carlos, 2019.

Os metais são de grande importância para os seres vivos em geral e particularmente para o homem. Alguns metais são essenciais ao metabolismo em pequenas quantidades, mas em maiores concentrações tornam-se tóxicos. Com o aumento da população humana e o desenvolvimento tecnológico, a poluição pelos metais tem se tornado um problema mundialmente grave. Nesta pesquisa foi investigada a toxicidade aguda, de forma isolada e em misturas, de quatro metais comuns na face da Terra, o cobre, o cádmio, o mercúrio e o manganês, os quais são muito utilizados e reconhecidamente tóxicos a diversos organismos, sobre a sobrevivência dos invertebrados tropicais, *Tramea cophysa* (Odonata), *Chlamydotheca* sp. e *Strandesia trispinosa* (Ostracoda). A sobrevivência das espécies expostas a uma série de concentrações de cada metal foi avaliada e a sensibilidade comparada entre as espécies estudadas e entre diferentes espécies de regiões tropicais e temperadas por meio de curvas de distribuição das sensibilidades (SSDs). O manganês foi o metal menos tóxico dentre aqueles testados, possivelmente devido à imobilização deste na cutícula das espécies-teste. *T. cophysa* esteve entre as espécies mais tolerantes aos metais e *S. trispinosa* entre as espécies mais sensíveis, quando comparadas a outros invertebrados utilizados em testes ecotoxicológicos. Pelas respostas observadas nos testes com os compostos isolados concluiu-se que as espécies selecionadas são organismos adequados para avaliações de toxicidade. Para as combinações dos compostos sulfato de cobre/cloreto de cádmio o modelo da Adição da Concentração foi o que melhor explicou a toxicidade sobre a sobrevivência de *S. trispinosa* indicando ajuste antagonístico. Para sulfato de cobre/cloreto de mercúrio e sulfato de cobre/sulfato de manganês, o modelo da Adição da Concentração também foi o que melhor explicou a toxicidade sobre a sobrevivência de *S. trispinosa*, mas indicando sinergismo quando o sulfato de cobre predominou na mistura e antagonismo quando o cloreto de mercúrio e o sulfato de manganês predominaram nas misturas. Já para a mistura cloreto de cádmio/cloreto de mercúrio, o modelo que melhor explicou os efeitos da mistura sobre a sobrevivência de *S. trispinosa* foi o de Ação Independente, sendo o melhor ajuste aos dados dado pelo desvio sinérgico. Um outro aspecto da toxicidade dos metais avaliados foram os efeitos da exposição de *Tramea cophysa* e de *Chlamydotheca* sp. a concentrações sub-letais dos quatro metais. Foi verificado que a taxa de predação de *T. cophysa* diminuiu quando exposta a concentrações crescentes de sulfato de cobre, cloreto de cádmio e cloreto de mercúrio, enquanto para *Chlamydotheca* sp. houve um aumento na taxa de predação para a maioria das concentrações dos metais testados. Portanto, para entender como os metais afetam as comunidades, é preciso avaliar a toxicidade para cada espécie tanto aguda quanto crônica. Enfrentar esse desafio na Ecotoxicologia é essencial para a compreensão do modo como os contaminantes podem afetar desde o comportamento de indivíduos a comunidades ecológicas.

Palavras-chave: Ecotoxicologia tropical, Distribuição da Sensibilidade de Espécies, Cobre, Cádmio, Mercúrio, Manganês.

ABSTRACT

Santos Lima, J. C. Evaluation of metal toxicity on tropical benthic macroinvertebrates *Tramea cophysa* (Libellulidae, Odonata), *Chlamydotheca* sp. (Cyprididae, Ostracoda) and *Strandesia trispinosa* (Cyprididae, Ostracoda). 2019. 128 f. Tese (Doutorado em Ciências da Engenharia Ambiental) – Escola de Engenharia de São Carlos, Universidade de São Paulo, São Carlos, 2019.

Metals are very important for live beings in general and particularly for men. Some metals are essential to metabolism in small amounts, but in higher concentrations they become toxic. With the exponential increase of human population and technological development, metal pollution has become a severe world-wide problem. In this study we investigated the acute toxicity of isolately and in mixture combinations of four common metals on Earth, which are widely used, but well recognized as toxicants to both, terrestrial and aquatic organisms. The acute toxicity of copper, cadmium, mercury and manganese on the survival of tropical invertebrates, *Tramea cophysa* (Odonata), *Chlamydotheca* sp. and *Strandesia trispinosa* (Ostracoda) was evaluated for each metal isolately and as binary mixtures. The survival of this species exposed to a series of concentrations of each metal was evaluated and their sensitivity compared among the species studied and with different species of tropical and temperate regions by constructing Species Sensitivity Distribution curves (SSDs). Manganese was the least toxic compared to other tested metals, possibly due to its immobilization in the cuticle of the test species. *T. cophysa* was among the species more tolerant to these metals and *S. trispinosa* among the most sensitive species when compared to other invertebrates used in ecotoxicological tests. From the responses observed in the tests with the isolated compounds it was concluded that the selected species are adequate to toxicity evaluations. For the combinations of the copper sulfate/cadmium chloride compounds the Concentration Addition model was the one which best explained the toxicity on *S. trispinosa* survival indicating antagonistic adjustment. For copper sulphate and mercury chloride mixture and copper sulphate and manganese sulphate, the Concentration Addition model also best explained the toxicity of *S. trispinosa* survival, but indicating synergism when copper sulphate predominated in the mixture and antagonism when mercury chloride and manganese sulphate predominated in the mixtures. For the mixture of cadmium chloride and mercury chloride, the model that best explained the effects of the mixture on the survival of *S. trispinosa* was that of Independent Action, being the best fit to the data given by the synergistic deviation. Other aspects of the toxicity of the evaluated metals were the effects of the exposure of *Tramea cophysa* and *Chlamydotheca* sp. to sub-lethal concentrations of the four metals. It was verified that the predation rate of *T. cophysa* decreased when exposed to increasing concentrations of copper sulphate, cadmium chloride and mercury chloride, whereas for *Chlamydotheca* sp. there was an increase in the rate of predation for most concentrations of the metals tested. Therefore, to understand how metals affect communities, it is necessary to assess the toxicity for each species both acute and chronic. Addressing this challenge in Ecotoxicology is essential for understanding how contaminants can affect from the behavior of individuals to ecological communities.

Keywords: Tropical ecotoxicology, Species sensitivity distribution, Copper, Cadmium, Mercury, Manganese.

LISTA DE FIGURAS

Capítulo 1

Figura 1. Faixas de sensibilidade das espécies nativas tropicais de Odonata (A) *Tamea cophysa* e dos ostrácodes (B) *Chlamydotheca* sp. e (C) *Strandesia trispinosa* ao composto de referência sulfato de cobre (CuSO_4) como indicado nos 20 testes de toxicidade aguda realizados com cada espécie. Os limites superior e inferior dos intervalos de confiança de 95% também são indicados nas figuras.....42

Figura 2. Distribuições de sensibilidade de espécies (DSEs) construídas com os valores de $\text{CL}_{50-48\text{h}}$ para os invertebrados aquáticos testados com os quatro metais no presente estudo (*Tamea cophysa*, *Chlamydotheca* sp. e *Strandesia trispinosa* em negrito), complementadas com dados de toxicidade para outros invertebrados. A - Sulfato de cobre; B - Cloreto de Cádmio; C - Cloreto de Mercúrio; D - Sulfato de Manganês.....47-48

Capítulo 2

Figura 1. Isoblograma dos efeitos das misturas dos metais cobre e cádmio sobre o ostrácodo *Strandesia trispinosa*, mostrando um desvio antagonístico para os resultados de sobrevivência a partir do modelo AC.....67

Figura 2. Isoblograma dos efeitos das misturas dos metais cobre e mercúrio sobre *Strandesia trispinosa*, mostrando um desvio da proporção da dose (DR) para a sobrevivência a partir do modelo AC.....69

Figura 3. Isoblograma dos efeitos das misturas dos metais cobre e manganês sobre *S. trispinosa*, mostrando um desvio da proporção da dose (DR) para a sobrevivência a partir do modelo AC.....71

Fig. 4 Isoblograma dos efeitos das misturas dos metais cádmio e mercúrio sobre *Strandesia trispinosa*, mostrando um desvio sinérgico para a sobrevivência a partir do modelo AI.....73

Capítulo 3

Figura 1 - Comparação entre as taxas médias de predação da Odonata *Tramea cophysa* e do Ostracoda *Chlamydotheca* sp. quando expostos ao sulfato de cobre, ao cloreto de cádmio, ao cloreto de mercúrio e ao sulfato de manganês. O eixo y está representado em valores decimais da porcentagem máxima de consumo de presas (1 = 100%).....91

Figura 2 - Consumo de presas (em %) por ninfas de *Tramea cophysa* em relação ao número inicialmente oferecido de cada presa, nos tratamentos sem exposição (controle) e nos tratamentos com exposição ao sulfato de cobre, cloreto de cádmio, cloreto de mercúrio e sulfato de manganês por 24 horas. O eixo y está representado em valores decimais da porcentagem máxima de consumo de presas (1 = 100%).....93

Figura 3 - Consumo de presas (em %) pelo *Chlamydotheca* sp., em relação ao número inicialmente oferecido de cada presa, nos tratamentos sem exposição (controle) e nos tratamentos com exposição ao sulfato de cobre, cloreto de cádmio, cloreto de mercúrio e sulfato de manganês por 24 horas. O eixo y está representado em valores decimais da porcentagem máxima de consumo de presas (1 = 100%).....94

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Principais formas de ocorrência (natural e antrópica) e de efeitos da dosagem elevada, em organismos aquáticos e em humanos, dos metais cobre, cádmio, mercúrio e manganês.....8

Capítulo 1

Tabela 1 - Concentrações nominais das soluções-teste (em $\mu\text{g L}^{-1}$) dos compostos de sulfato de cobre (CuSO_4), cloreto de cádmio (CdCl_2), cloreto de mercúrio (HgCl_2) e sulfato de manganês (MnSO_4) cuja toxicidade aguda foi avaliada após 48h para as três espécies de invertebrados tropicais. Em todos os testes, um tratamento controle (concentração de metal = $0,0 \mu\text{g L}^{-1}$) foi incluído.....40

Tabela 2 - Valores médios e respectivos desvios-padrão para variáveis físicas e químicas (média $\pm$ DP) medidas no início e no final dos experimentos com a ninfa da libélula *Tamea cophysa* e os ostrácodes *Chlamydotheca* sp. e *Strandesia trispinosa*.....41

Tabela 3 - Valores médios de CL_{50-48} e respectivos intervalos de confiança de 95% (em $\mu\text{g L}^{-1}$) para os compostos sulfato de cobre (CuSO_4), cloreto de cádmio (CdCl_2), cloreto de mercúrio (HgCl_2) e sulfato de manganês (MnSO_4) obtidos em testes de toxicidade aguda para as ninfas da libélula *Tamea cophysa*, e os ostrácodes *Chlamydotheca* sp. e *Strandesia trispinosa*.....45

Tabela 4 - HC5 e HC50 (concentração de perigo para 5% e 50% das espécies, respectivamente; em $\mu\text{g L}^{-1}$) e intervalos de 95% de confiança para sulfato de cobre (CuSO_4), cloreto de cádmio (CdCl_2), cloreto de mercúrio (HgCl_2) e sulfato de manganês (MnSO_4), a partir das curvas DSEs construídas com base nos valores de 48- CL_{50} para invertebrados (cf. Figura 2).....48

Capítulo 2

Tabela 1 - Concentrações das soluções-teste ($\mu\text{g L}^{-1}$) utilizadas nos testes toxicológicos com as misturas binárias para cada composto.....63

Tabela 2 - Interpretação dos parâmetros adicionais (“a” e “b”) que definem a forma funcional dos desvios-padrão do modelo de ação independente (IA); adaptado de Jonker *et al.* (2005).....64

Tabela 3. Resumo da análise do teste de toxicidade aguda feito com indivíduos de *Strandesia trispinosa* expostos às misturas de cobre (Cu) e cádmio (Cd).....66

Tabela 4. Resumo da análise do teste de toxicidade aguda feito com os indivíduos de *Strandesia trispinosa* expostos às misturas do cobre (Cu) e do mercúrio (Hg).....68

Tabela 5. Resumo da análise do teste de toxicidade aguda feito com os indivíduos *Strandesia trispinosa* expostos às misturas do cobre (Cu) e do manganês (Mn).....71

Tabela 6. Resumo da análise do teste de toxicidade aguda feito com os indivíduos de *Strandesia trispinosa* expostos às misturas do cádmio (Cd) e do mercúrio (Hg).....73

Capítulo 3

Tabela 1 - Concentrações-teste dos compostos sulfato de cobre, cloreto de cádmio, cloreto de mercúrio e sulfato de manganês, as quais as ninfas de *Tramea cophysa* (Odonata, Libellulidae) e os adultos de *Chlamydotheca* sp. (Ostracoda, Cyprididae) foram expostos por 24 horas. As concentrações testadas correspondem aos valores do controle e os valores das CL₁, CL₅, CL₁₀ e CL₂₀ obtidos nos testes de toxicidade aguda de cada metal para ambas as espécies (Dados não publicados).....85

Tabela 2 - Taxa de predação e consumo de presas (cinco presas por réplica) por ninfas de *Tramea cophisa* sem exposição prévia (controle: 0,0 mg L⁻¹) e com exposição por 24 h ao sulfato de cobre, cloreto de cádmio, cloreto de mercúrio e sulfato de manganês. p: diferenças entre as concentrações-teste e o controle.....88

Tabela 3 - Taxa de predação e consumo de presas (quatro presas por réplica) por *Chlamydotheca* sp. sem exposição prévia (controle: 0,0 mg L⁻¹) e com exposição por 24 h ao sulfato de cobre, cloreto de cádmio, cloreto de mercúrio e sulfato de manganês. p: diferenças entre as concentrações-teste e o teste-controle.....90

Tabela 4 - Valores do Índice de Eletividade de Ivlev (IEI) obtidos nos testes de seletividade alimentar para *Tramea cophysa* e *Chlamydotheca* sp. no controle e nos diferentes tratamentos (exposição de 24 h) dos compostos CuSO₄, CdCl₂, HgCl₂ e MnSO₄.....95

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO GERAL.....	1
2 REVISÃO DE LITERATURA.....	3
2.1 Ecotoxicologia e testes ecotoxicológicos.....	3
2.2 Metais e os ambientes aquáticos.....	5
2.2.1 Cádmio.....	9
2.2.2 Cobre.....	10
2.2.3 Mercúrio.....	12
2.2.4 Manganês.....	13
2.3 Utilização de macroinvertebrados bentônicos, Odonata e Ostracoda, como organismos-teste em ensaios de toxicidade com metais.....	15
3 JUSTIFICATIVA.....	18
4 HIPÓTESES.....	19
5 OBJETIVOS.....	20
5.1 Objetivo geral.....	20
5.2 Objetivos específicos.....	20
REFERÊNCIAS.....	21

Capítulo 1

Toxicidade aguda dos metais cobre, cádmio, mercúrio e manganês para três invertebrados aquáticos bentônicos: *Tramea cophysa* (Insecta, Odonata), *Chlamydotheca sp.* e *Strandesia trispinosa* (Crustacea, Ostracoda)

Resumo.....	34
Abstract.....	35
1 INTRODUÇÃO.....	36
2 MATERIAL E MÉTODOS.....	38
2.1 Organismos-teste e condições de cultivo.....	38
2.2 Testes de toxicidade aguda.....	38
2.3 Distribuição ad sensibilidade de espécies.....	40
3 RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	41
3.1 Variáveis físicas e químicas das soluções-teste.....	41
3.2 Faixa de sensibilidade das espécies e resultados dos testes de toxicidade aguda.....	41
3.3 Distribuição da sensibilidade das espécies.....	45

4 CONCLUSÕES.....	50
REFERÊNCIAS.....	51

Capítulo 2

Toxicidade aguda das misturas binárias dos metais cobre, cádmio, mercúrio e manganês para o invertebrado aquático *Strandesia trispinosa* (Pinto & Purper, 1965), Cyprididae, Ostracoda

Resumo.....	59
Abstract.....	60
1 INTRODUÇÃO.....	61
2 MATERIAL E MÉTODOS.....	63
2.1 Organismos-teste e condições de cultura.....	63
2.2 Testes agudos de toxicidade com misturas.....	63
2.3 Análise dos dados.....	64
3 RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	65
3.1 Toxicidade da mistura de Sulfato de cobre x Cloreto de cádmio.....	65
3.2 Toxicidade da mistura de Sulfato de cobre x Cloreto de mercúrio.....	67
3.3 Toxicidade da mistura de Sulfato de cobre x Sulfato de manganês.....	69
3.4 Toxicidade da mistura de Cloreto de cádmio x Cloreto de mercúrio.....	72
4 CONCLUSÕES.....	74
REFERÊNCIAS.....	75

Capítulo 3

Alterações nas taxas de alimentação e seletividade alimentar de ninfas de *Tramea cophysa* (Odonata, Libellulidae) e adultos de *Chlamydotheca* sp. (Ostracoda, Cyprididae) quando expostos a metais

Resumo.....	80
Abstract.....	81
1 INTRODUÇÃO.....	82
2 MATERIAL E MÉTODOS.....	84
2.1 Organismos-teste e condições de cultura.....	84
2.2 Taxa de predação e seletividade alimentar.....	84
2.3 Análise dos dados.....	85
3 RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	87

3.1 Taxa de predação.....	87
3.2 Taxa de predação por item oferecido (Índice de Eletividade de Ivlev).....	91
4 CONCLUSÕES.....	96
REFERÊNCIAS.....	97

CONCLUSÕES GERAIS.....	102
-------------------------------	------------

APÊNDICES

Apêndice A - Indivíduo de <i>Tramea cophysa</i> sob lupa estereoscópica (A); Lagoa Mayaca localizada na Universidade Federal de São Carlos (B).....	103
--	-----

Apêndice B - Indivíduo de <i>Strandesia trispinosa</i> sob lupa estereoscópica (A); Tanques de concreto localizado na Estação Experimental de Aquicultura do Departamento de Hidrobiologia na Universidade Federal de São Carlos (B).....	103
--	-----

Apêndice C - Indivíduo de <i>Chlamydotheca</i> sp. sob lupa estereoscópica (A); Tanque de 1000 L localizado na Estação de Piscicultura da UFSCar (B); Vista externa da Estação de Piscicultura localizada no Departamento de Hidrobiologia na Universidade Federal de São Carlos (C).....	104
--	-----

Apêndice D - Recipientes (capacidade 50 ml) utilizados na montagem dos testes de toxicidade aguda com os metais isolados e em misturas.....	104
--	-----

Apêndice E - Recipientes (8 cm de altura e 11 cm de diâmetro) utilizados na montagem dos testes de predação e seletividade alimentar.....	105
--	-----

Apêndice F - Produtos químicos e soluções-teste. Sulfato de cobre (CuSO_4 ; CAS no: 7758-98-8; marca Dinâmica); Cloreto de cádmio (CdCl_2 ; CAS no: 35658-65-2; marca Carlo Erba Reagents); Cloreto de mercúrio (HgCl_2 ; CAS no: 7487-94-7; marca Merck); Sulfato de manganês (MnSO_4 ; CAS no: 1034-96-5; marca Carlo Erba Reagents). Foto: Daniele Cristina Schiavone, 2018.....	105
--	-----

Apêndice G - Planejamento fatorial para os testes com misturas binárias (em $\mu\text{g L}^{-1}$) dos compostos sulfato de cobre/cloreto de cádmio, sulfato de cobre/cloreto de mercúrio, sulfato de cobre/sulfato de manganês e cloreto de cádmio/cloreto de mercúrio.....	106
---	-----

1 INTRODUÇÃO GERAL

A água é considerada uma substância essencial e de importância imensurável para a vida em seus mais diversos aspectos. Neste sentido, destaca-se sua indiscutível pluralidade, característica que representa sua importância, especialmente no que refere ao prisma econômico-produtivo. Ainda, percebe-se que a água, e mais precisamente os recursos hídricos, representam em tempos recentes fonte de riqueza e de conflitos (MELO, 2016; SANTOS; CESAR; BONADIO, 2016). O crescente aumento da demanda pela água, contrapondo os métodos de governança que nem sempre conseguem fazer refletir na prática a importância do tema, podem levar a um déficit global de água cada vez maior (UNESCO, 2015), sendo que o debate acerca do uso da água merece uma especial atenção ao aprofundar-se aos meandros do consumo e disponibilidade hídrica, devido a água doce constituir um recurso indispensável e finito para todas as formas de vida presentes na terra (SANTOS; CESAR; BONADIO, 2016).

Os ecossistemas aquáticos superficiais exercem diversas funções ambientais valiosas, sendo locais de intensa reciclagem de nutrientes, de purificação da água, e de atenuação de enchentes, contribuindo também para a recarga das águas subterrâneas e fornecendo habitat para a vida selvagem (NATIONAL RESEARCH COUNCIL, 1992). Estes ecossistemas apresentam uma alta biodiversidade, especialmente os de água doce, no entanto estão incluídos entre os ambientes mais ameaçados no mundo (SAUNDERS; MEEUWIG; VINCENT, 2002). A maior parte das perturbações que ocorrem nos sistemas aquáticos é decorrente de impactos antrópicos, que além de alterar as características físicas e químicas da água também influenciam a estrutura das diversas comunidades nela presentes (TUNDISI; MATSUMURA-TUNDISI, 2008).

A poluição dos sistemas aquáticos por compostos químicos tóxicos é um problema preocupante e progressivo em todo o planeta e, ainda que seja uma questão abordada por legislação específica em diversos países, sua ocorrência prossegue pela falta de controle e fiscalização em relação ao descarte de efluentes domésticos, industriais e agrícolas, principais fontes responsáveis pela contaminação dos mesmos (LEMOES et al., 2005; MATSUMOTO et al., 2006; KUMAR, 2012). Essa constante descarga, ou a liberação acidental de substâncias químicas nocivas nos ambientes aquáticos podem perturbar a estrutura e a função dos ecossistemas naturais e, portanto, representar uma grave ameaça à diversidade biológica (KUMAR et al., 2012).

As potenciais reservas de água doce estão drasticamente reduzidas, e esse fato se deve à distribuição irregular das chuvas e das populações humanas, ao aumento exponencial do

consumo total de água em decorrência do crescimento demográfico, severa degradação da qualidade da água (WETZEL, 1993), urbanização e o advento das superpopulações humanas, que justificam a urgência de se avaliar a saúde dos sistemas ecológicos assim como de seus componentes bióticos (CARVALHO, 2017). Ademais, a poluição provocada pelo ser humano, o precário tratamento dos efluentes domésticos aliados à baixa disponibilidade hídrica em alguns locais, também geram a escassez da água tornando-a inutilizável ao ponto de não estar mais disponível para o consumo humano, para a vida aquática ou para outras destinações (ANA, 2015).

Nas últimas décadas, os ambientes aquáticos têm dado sinais de esgotamento na qualidade e na quantidade de água, mesmo havendo registros de que essas mudanças são resultantes de problemas naturais como inundações, secas, intemperismos e erosões. Contudo, estes ambientes têm sido os mais comprometidos por atividades antrópicas como a falta de saneamento urbano e industrial, a destruição das matas ciliares, além da expansão das atividades agropastoris com o uso intensivo de fertilizantes, herbicidas e fungicidas (ALVES; TERESA; NABOUT, 2014; OLIVEIRA; NOGUEIRA; SARTORI, 2014). Essas atividades produzem e favorecem o escoamento de águas não tratadas contendo substâncias químicas como os metais, que são os contaminantes mais encontrados em águas residuais, os quais retornam aos ecossistemas aquáticos podendo interagir com a água e com a biota além de alcançar diferentes extensões por longos períodos, afetando toda a biodiversidade (ESPINOZA-QUIÑONES et al., 2009; ALI; KHAN; SAJAD, 2013).

As análises químicas possuem limitações inerentes em sua habilidade de caracterizar a composição das misturas de compostos e permitir uma avaliação ecotóxica químico-específica devido à natureza química complexa dos compostos. Em contrapartida, os bioensaios fornecem um meio de avaliação da toxicidade de misturas complexas na ausência de um conhecimento prévio sobre a composição química das mesmas (CLAXTON; HOUK; HUGHES, 1998).

Os bioensaios são empregados no monitoramento de efluentes, substâncias químicas e poluentes emergentes lançados em corpos receptores a partir da exposição de organismos-teste a várias diluições da amostra a ser testada, por um período determinado de tempo, e os valores são obtidos em fatores de toxicidade aguda, crônica, subcrônica ou genotoxicidade (ABNT, 2016). A utilização dos bioensaios resultou na avaliação de uma vasta gama de efluentes e misturas industriais, uma demanda urgente quando se trata de países com abundantes recursos hídricos, tais como o Brasil (CLAXTON; HOUK; HUGHES, 1998).

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 Ecotoxicologia e testes ecotoxicológicos

A toxicologia fundamenta-se em averiguar a intoxicação sob todos os enfoques, e entende-se como a manifestação, clínica e/ou laboratorial, de efeitos prejudiciais que indicam um estado patológico ocasionado pela interação de um agente químico com um organismo, ou seja, substâncias químicas capazes de quebrar o equilíbrio orgânico e provocar alterações na homeostase de organismos (LARINI, 1993). Segundo Zagatto (2006), as análises químicas das concentrações dos compostos contaminantes não são suficientes para a avaliação de impactos ambientais, devido às diferentes formas de interação dos agentes tóxicos com os componentes do solo, da água e da biota. No entanto, os testes de toxicidade, que avaliam o efeito dessas substâncias sobre a biota, não substituem as análises químicas tradicionais que identificam e quantificam as concentrações das substâncias tóxicas (COSTA et al., 2008).

O termo ecotoxicologia surgiu em 1969, tendo como precursor René Truhalt, sendo esse derivado de uma subárea da toxicologia. Zagatto (2006) define ecotoxicologia como a ciência que estuda os efeitos dos poluentes sobre os organismos e como esses interagem com o habitat em que vivem. Para o autor, estudos ecotoxicológicos consistem em averiguar os danos ocorridos em ecossistemas após a contaminação e a identificação de impactos futuros, relacionados com a comercialização de compostos químicos e seus despejos. Azevedo e Chasin (2003) e Hoffman et al. (2010) definem o termo como o estudo dos efeitos dos agentes tóxicos nos ecossistemas e em espécies não-alvo, visando a proteção do meio ambiente como um todo e não apenas em determinadas seções. Truhaut (1977) complementa que os estudos ecotoxicológicos abrangem as averiguações das emissões, da distribuição e do destino dos compostos no meio abiótico, a contaminação da biota, assim como a análise quantitativa e qualitativa dos efeitos tóxicos promovidos pelos agentes tóxicos.

A preocupação com os ambientes aquáticos começou na década de 1930, nos Estados Unidos e em países Soviéticos, onde foram implantados os primeiros testes de toxicidade aguda com organismos aquáticos, visando estabelecer a relação causa/efeito de compostos químicos e de despejos líquidos, sobre a qualidade da água. Na década de 1940 foi proposto o uso de peixes para tal avaliação, contudo, pouco mais tarde, observou-se que havia espécies de peixes resistentes a certos químicos, surgindo assim à necessidade da utilização de outras espécies mais sensíveis, de importância econômica e representativa em ecossistemas aquáticos. Nas décadas de 1950 e 1960, foi dada maior importância a critérios e padrões que permitiram as

disposições desses agentes em níveis compatíveis a preservação dos recursos hídricos, e na década de 1970, o desenvolvimento de sistemas adequados para a condução dos testes de toxicidade aguda e crônica aumentou com a utilização de ovos e larvas de peixes (RAND, 1995).

No Brasil, os estudos sobre toxicologia em ambientes aquáticos começaram a ser desenvolvidos em 1976, baseados nos critérios norte-americanos e soviéticos, que avaliavam somente a potabilidade da água e não a qualidade da vida nela presente. Com o avanço dos estudos, a manutenção da vida aquática começou a ser utilizada como critério de avaliação da toxicidade das substâncias químicas, estabelecendo-se assim padrões seguros para o ambiente e para a qualidade da água (ZAGATTO; BERTOLETTI, 2006). Contudo, foi na década de 1990 que esses estudos se consolidaram no Brasil (ABESSA, 2002), sendo a Companhia de Tecnologia e Saneamento Ambiental do Estado de São Paulo (CETESB) a iniciar os ensaios ecotoxicológicos e as padronizações dos mesmos (VEIGA; VITAL, 2002) e a inclusão em programas de monitoramento, constituindo uma das análises indispensáveis no controle de fontes de poluição (CÉSAR-RIBEIRO, 2010).

Os estudos ecotoxicológicos são embasados em bioensaios em laboratório, podendo ser realizados em microcosmos ou em mesocosmos. No primeiro, as espécies avaliadas devem ser representativas do ecossistema, tendo como principal objetivo identificar e prever prováveis impactos ocasionados por substâncias tóxicas no ambiente natural. Já no segundo (estudos de campo, controlados) são averiguadas as variações das condições naturais e aplicações químicas em sistema fechado, geralmente avaliando, no âmbito da ecologia, espécies naturais sujeitas ao contato com elevadas concentrações químicas (HOFFMAN et al., 2010). Esses ensaios têm por finalidade estimar a toxicidade de compostos químicos, efluentes líquidos, lixiviados de resíduos sólidos, entre outros, instaurar critérios e padrões sobre a qualidade das águas, assegurar limites máximos de lançamento de efluentes líquidos em corpos hídricos, avaliar a necessidade de tratamento quanto às exigências de controle ambiental, comparar a toxicidade relativa de diferentes substâncias, avaliar a sensibilidade de organismos aquáticos, auxiliar programas de monitoramento ambiental e estimar os impactos provocados em acidentes ambientais (RAND; PETROCELLI, 1985).

Os testes podem ser avaliados através de dois tipos de exposição: (1) aguda, na qual os critérios de avaliação final são a mortalidade e a imobilidade dos organismos-teste, sendo usualmente utilizadas a mortalidade para peixes e a imobilidade para invertebrados. Esses critérios empregados são facilmente determinados e têm significado biológicos e ecológicos para o ambiente (ZAGATTO; BERTOLETTI, 2006); (2) crônica, na qual são observados os

efeitos de concentrações subletais por períodos mais longos, pelo menos 10% da duração da vida do organismo, sendo observados efeitos não mensuráveis em exposições curtas. Geralmente, esse teste é realizado com uma duração intermediária entre a exposição aguda e a crônica, devido aos longos ciclos de vidas de alguns organismos e utilizando-se as fases mais sensíveis do ciclo de vida (ARAGÃO; ARAÚJO, 2007). Existem ainda outros testes, como o teste de evitação, onde é observado o comportamento de esquiva pelo organismo-teste mediante a exposição a um contaminante (GARCIA et al., 2007).

Os resultados de testes ecotoxicológicos podem ser comprometidos por fatores bióticos (ex. tamanho e idade dos organismos). Os organismos nas primeiras fases da vida são mais sensíveis aos poluentes, sendo o seu uso recomendado. Nos testes, os organismos devem ter a mesma idade e provenientes da mesma cultura. Fatores abióticos (ex. pH, temperatura, condutividade e dureza da água) devem ser monitorados durante a execução do teste (ZAGATTO; BERTOLETTI, 2006).

Os resultados dos ensaios de toxicidade aguda são expressos através das concentrações efetivas medianas (CE_{50}) ou concentrações letais medianas (CL_{50}) que são as concentrações dos poluentes testados aptos de causar a mortalidade ou a imobilidade de 50% da população averiguada. Valores acima da CE_{50} ou CL_{50} ameaçam a sobrevivência da espécie e o equilíbrio e a dinâmica do ecossistema (RAND; PETROCELLI, 1985).

Em organismos aquáticos, os testes de toxicidade têm sido cada vez mais utilizados para a determinação dos efeitos deletérios (BELANGER; RAWLINGS; CARR, 2013; PARK et al., 2014; ADAM et al., 2015; MANSANO et al., 2017; MOREIRA et al., 2017; SANCHES et al., 2018; ROCHA et al., 2018), atribuído principalmente pelo potencial risco de transferência de poluentes do ambiente para os organismos, inclusive para o homem (FERREIRA et al., 2012).

2.2 Metais e os ambientes aquáticos

Dos 118 elementos químicos conhecidos atualmente, 92 são metais (IUPAC, 2015), que são caracterizados por conduzirem calor e eletricidade além de serem dúcteis, maleáveis e poderem formar ligas, e, com exceção do mercúrio, todos se encontram na fase sólida nas condições normais de pressão e temperatura. Do ponto de vista químico, estes são elementos definidos pela baixa energia de ionização, ou seja, perdem elétrons facilmente se tornando cátions (ATKINS; SHRIVER, 2010). No estado sólido também são caracterizados pela estrutura cristalina, pelas ligações químicas e pelas propriedades magnéticas (NORDBERG et al., 2007). Devido à alta reatividade, alguns metais como, por exemplo, os alcalinos encontram-

se disponíveis na natureza apenas na forma iônica, enquanto outros podem ser achados na forma de minérios e em poucos casos, na forma metálica, como o ouro (KOTZ, 2008).

As utilidades dos metais são variadas, mas estes são principalmente usados como matéria-prima em diversos tipos de indústria (KOTZ, 2008) e na composição de diversos agrotóxicos, tornando as práticas agrícolas modernas uma ameaça, particularmente relevante no Brasil, devido ao seu potencial de produtividade agrícola, onde, geralmente, se empregam grandes quantidades de agrotóxicos para sua manutenção (WHITE, 2016). Nos ambientes urbanos, as principais fontes de poluição por metais são provindas das emissões veiculares, dos resíduos industriais, da sedimentação de poeira e substâncias suspensas na atmosfera, oriundos da combustão de carvão e da precipitação seca e úmida de outros poluentes (MORTON-BERMEA et al., 2009; SUN et al., 2010). Desta forma, a contaminação residual em áreas urbanas pode apresentar implicações ambientais de longo tempo e alcance (WONG; LI; THORNTON, 2006).

Os metais encontram-se em todos os organismos vivos servindo como elementos estruturais e estabilizadores, componentes de nervos e músculos e do sistema redox. Por conseguinte, muitos metais tornam-se indispensáveis para a sobrevivência e pela saúde da biota de forma geral, incluindo humanos (NORDBERG et al., 2007). Embora muitos metais sejam essenciais em processos bioquímicos e fisiológicos dos organismos, eles podem se tornar tóxicos quando ocorrendo em níveis elevados. Outros metais, chamados de xenóbicos, como o mercúrio e chumbo, são tóxicos em qualquer quantidade (NEWMAN; CLEMENTS, 2008).

Os metais entram nos corpos d'água através de uma variedade de fontes naturais e antropogênicas (BALINTOVA et al., 2016; GALDIERO et al., 2016; LIBRALATO et al., 2016; SATYRO et al., 2017), e a qualidade da água é afetada pelos materiais originários de deposições atmosféricas secas e úmidas, tráfego veicular e atividades relacionadas à indústria e descargas comerciais e industriais (RACE et al., 2016), além de novos contaminantes emergentes (LOFRANO et al., 2016).

O escoamento de águas pluviais através da drenagem ou esgoto combinado de sistemas de transbordamento influenciam não só as variáveis físicas e químicas dos corpos d'água receptores, mas também podem afetar negativamente os organismos vivos na coluna de água e no sedimento de fundo (BARAŁKIEWICZ et al., 2014). Esses ambientes afetados por metais são também usualmente receptores de outros poluentes de descargas ilegais, tais como águas residuais domésticas ligadas diretamente aos esgotos, sem qualquer permissão legal (KOMÍNKOVÁ; NÁBĚLKOVÁ; VITVAR, 2016).

Outra forma de poluição dos ambientes aquáticos por metais que tem despertado atenção, é através dos empreendimentos de mineração, que mesmo sendo fundamental para o desenvolvimento econômico e social, geram grandes pressões e passivos ambientais principalmente em relação a quantidade e a qualidade dos recursos hídricos (MAIA, 2017). Recentemente, em 5 novembro de 2015, uma das barragens de rejeitos da mineradora Samarco (Barragem de Fundão), localizada em Bento Rodrigues, distrito de Mariana (MG), se rompeu liberando aproximadamente 40 milhões de m³ de rejeitos de ferro na bacia do Rio Doce (CPRM, 2015). Os impactos ecológicos registrados foram gravíssimos, sucedendo a diminuição das populações de microrganismos e de várias espécies de peixes e outros organismos aquáticos (MMA, 2015). Em 2013, o monitoramento da qualidade das águas superficiais de Minas Gerais já revelava altos níveis de alumínio e ferro (dissolvidos), além de arsênio, chumbo e manganês na região (IGAM, 2013). As consequências causadas foram a remoção e o revolvimento da camada sedimentar superior nos leitos e a ressuspensão de sedimentos que continham diversos metais e outros poluentes acumulados durante anos do empreendimento (IBAMA, 2015).

Em 25 de janeiro de 2019, ocorreu um novo rompimento de barragem de rejeitos de minério de ferro, agora associada à mineradora Vale S.A., localizada em Brumadinho, MG. Os rejeitos da barragem ligada à mina Córrego do Feijão transbordaram outras duas barragens e escoaram por enorme extensão, até chegarem ao rio Paraopeba (PEREIRA et al., 2019). Nessa região denominada de “Quadrilátero Ferrífero” os rejeitos da mineração de ferro possuem alto potencial de contaminação para a biota e para o ambiente físico, principalmente pelo conteúdo de minério fino e pela presença de metais (QUEIROZ et al., 2018) que atingiram as partes baixas do relevo contaminando os sistemas aquáticos locais, bem como o rio Paraopeba, exterminando a ictiofauna e todos os outros organismos aquáticos (LOPES, 2016). A presença de rejeitos de mineração nesses ecossistemas poderá provocar a distribuição regional de metais, comprometendo a resiliência ambiental em uma ampla escala espacial nos ambientes dulcícolas (DIAS et al., 2018) e causando impactos severos sobre a fauna marinha caso o rejeito alcance o oceano (MAGRIS et al., 2019). A concentração de metais observada ao longo do rio Paraopeba está acima dos limites máximos estabelecidos na legislação. Os metais presentes na água em quantidades nocivas ao ambiente, à saúde humana e à fauna de modo geral são: o ferro, o cobre, o manganês e o cromo, além de concentrações elevadas de chumbo e mercúrio nos primeiros 20 quilômetros do rio (SOS MATA ATLÂNTICA, 2019).

As concentrações de metais também podem servir como indicadores para avaliar a contaminação de sedimentos, no entanto, não são suficientes avaliar seu potencial impacto ambiental, porque a mobilidade, a toxicidade potencial e a biodisponibilidade desses elementos

dependem das formas químicas em que estão presentes (BARAN; TARNAWSKI, 2015). Ademais, o comportamento dos metais no meio aquático é frequentemente influenciado por várias características da água e do sedimento tais como pH, potencial redox, salinidade, temperatura, conteúdo de matéria suspensa e distribuição de tamanho de partículas (CAETANO; MADUREIRA; VALE, 2003). Uma diminuição na concentração de oxigênio dissolvido e do potencial redox, por exemplo, é causado por compostos orgânicos biodegradáveis, e alterações no pH podem afetar fortemente a remobilização de metais na água através de precipitação, dissolução, adsorção e dos processos de dessorção (RACE, 2017).

Outro indicador de qualidade em ecossistemas de água doce é a biota, principalmente os macroinvertebrados, que apresentam alta sensibilidade às mudanças na qualidade da água (HUSSAIN; PANDIT, 2012). O teor de metais na biota é determinado pela bioconcentração dinâmica (metal por espécie específica), dependendo da sazonalidade, estágio de desenvolvimento, comportamento, sexo e condições de exposição aos poluentes (EGGLETON; THOMAS, 2004), sendo que a acumulação de uma quantidade mensurável de metais na biota aquática pode ter consequências drásticas à biodiversidade (KOMÍNKOVÁ; NÁBĚLKOVÁ; VITVAR, 2016).

Entre os vários poluentes que afetam a água e os recursos naturais, os metais são particularmente importantes devido à sua alta toxicidade, mesmo em baixas concentrações (VATANDOOST et al., 2018), e o monitoramento dos metais no ambiente tem sido motivo de grande preocupação, pois entre os metais e metaloides que ocorrem naturalmente, cerca de trinta são considerados potencialmente tóxicos para os seres vivos (SARKAR, 2002), incluindo o cádmio, o cobre, o mercúrio e o manganês, alvos da presente pesquisa.

Tabela 1. Principais formas de ocorrência (natural e antrópica) e de efeitos em dosagem elevada, em organismos aquáticos e em humanos, para os metais cobre, cádmio, mercúrio e manganês.

Metal	Ocorrência Natural	Ocorrência Antrópica em sistemas aquáticos	Seres Vivos	Efeitos em Organismos Aquáticos	Efeitos em Humanos
Cobre	Sulfetos; Óxidos; Cloretos; Metal	Processos industriais; Mineração; Agricultura	Essencial	Alterações comportamentais; Inibição do crescimento	Hipertensão; Depressão; Esquizofrenia
Cádmio	Sulfetos e Esfarelita	Processos industriais ex. Ligas metálicas	Não essencial	Redução da reprodução; Alterações do crescimento	Carcinogênico Disfunção renal; Arteriosclerose
Mercúrio	Sulfetos	Processos industriais; Agricultura;	Não essencial	Redução na absorção de oxigênio; Alteração de comportamento	Demência; Alterações renais, psíquicas; tremores
Manganês	Sulfetos; Óxidos; Carbonatos; Silicatos; Pirolusita (MnO ₂)	Processos industriais ex. Produção de aço e ferro	Essencial	Problemas nos sistemas sensoriais e motores	Efeitos adversos nos sistemas nervoso e respiratório; Rigidez muscular; Tremores

2.2.1 Cádmio

O cádmio (Cd) descoberto pelo químico alemão Friedrich Stromeyer em 1817, é um metal flexível e prateado (SARKAR, 2002). Frequentemente existe na forma de um cátion com uma carga 2+ (NATIONAL CENTER FOR BIOTECHNOLOG INFORMATION, 2018), e naturalmente é encontrado em pequenas quantidades, geralmente, associado aos minérios de zinco, como a esfarelita (ZnS), na proporção de 0,1 a 5%; na forma de sulfeto (CdS) e como subprodutos dos minérios de zinco, cobre e chumbo (AZEVEDO; CHASIN, 2003).

Os processos industriais exclusivos do cádmio incluem o refino de metais e a queima de combustíveis fósseis (WANG; ENGSTROM; XIA, 2017). Esse metal é utilizado na fabricação de ligas metálicas, em baterias de Ni-Cd. Também é utilizado em peças de automóveis e aviões e como fortalecedor de material plástico (VAITSMAN; AFONSO; DUTRA, 2001; NORDBERG et al., 2007). Estas aplicações industriais liberam partículas de cádmio ao ambiente, permitindo que esse metal penetre no solo (HASHEMI; FARAJPOUR, 2016) podendo deteriorar sua qualidade e contaminar os lençóis freáticos (HSU et al., 2016).

O cádmio é considerado de alta toxicidade e como elemento não essencial para os seres vivos podendo acarretar efeitos tóxicos crônicos e agudos (CETESB, 2005). É classificado pela Agência Internacional de Pesquisa do Câncer como um grupo carcinogênico, o que significa que causa câncer de forma conclusiva em seres humanos (MAO et al., 2007), além de disfunção renal, hipertensão, arteriosclerose, inibição no crescimento e doenças crônicas em idosos (CETESB, 2005). Os efeitos oncogênicos do cádmio são agravados pela exposição crônica a este elemento devido à sua meia-vida biológica longa e suas propriedades cumulativas (CABRAL et al., 2015).

Nos ambientes aquáticos a entrada do cádmio ocorre por ações naturais como o intemperismo de rochas fosfáticas e da erosão de depósitos naturais de cádmio. Por outro lado, as atividades antrópicas contribuem significativamente para o aumento desse metal nos sistemas aquáticos (ex. efluentes e emissões das siderúrgicas; fabricação de fertilizantes fosfatados que contêm cádmio originário das rochas (VIGNOLA et al., 2010; BAIRD; CANN, 2011; PURKAYASTHA; MISHRA; BISWAS, 2014).

Nesses sistemas, o cádmio ocorre naturalmente em baixas concentrações, sendo encontrado valores geralmente menores que $0,5 \mu\text{g L}^{-1}$ nos ambientes de água doce e de $0,02 \mu\text{g L}^{-1}$ em água salgada (PAN et al., 2010). Contudo, estudos recentes relataram níveis altos de cádmio em Bangladesh com 5,29 a $27,45 \mu\text{g L}^{-1}$ (ALI et al., 2016), na Polônia com variação de 8,0 a $14,5 \mu\text{g L}^{-1}$ (WOJTKOWSKA; BOGACKI; WITESKA, 2016) e na China com

amplitude de concentrações entre 0,2 a 5,89 $\mu\text{g L}^{-1}$ (LI; ZHANG, 2010) e níveis muito altos em áreas poluídas no norte da China, com 4.500 $\mu\text{g L}^{-1}$ no rio Guangdong e entre 1.120 a 4.474 $\mu\text{g L}^{-1}$ no rio Luan (LI; LIU, 2009).

No Brasil, a concentração permitida de cádmio nas águas doces varia entre 1 $\mu\text{g L}^{-1}$, para águas da Classe 1, a 10 $\mu\text{g L}^{-1}$ para águas da Classe 3 (CONAMA, 2005), sendo permitido para o despejo de efluentes 20 $\mu\text{g L}^{-1}$ (CONAMA, 2011). Para água potável, a legislação brasileira, por meio da Portaria nº 2914, de dezembro de 2011, estabeleceu valor máximo permitido de 0,005 mg L^{-1} , o mesmo limite estabelecido pela agência de proteção ambiental dos Estados Unidos (BIS, 2009; USEPA, 2009; MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2011).

A forma iônica do cádmio (Cd^{2+}) é a mais disponível para as espécies aquáticas, no entanto, a absorção desse metal pelos organismos aquáticos varia significativamente de acordo com a espécie e os fatores ambientais envolvidos, como a temperatura, o pH, o teor de matéria orgânica e a dureza da água (WHO, 1992). A toxicidade do cádmio nesses organismos depende da biodisponibilidade e da concentração no ambiente, entretanto, através de interações competitivas com outros íons como por exemplo o cálcio (Ca^{2+}) ou pela complexação com ânions orgânicos ou inorgânicos, a toxicidade desse metal pode ser reduzida (MCGEER; NIYOGI; SMITH, 2012).

Em plantas aquáticas, invertebrados, peixes e mamíferos o cádmio pode bioacumular de tal forma que sua concentração se eleva quanto maior for o nível trófico do organismo (AZEVEDO; CHASIN, 2003), sendo que em mamíferos, o fígado e o rim são os principais órgãos de bioacumulação (ZHU; CHAN, 2012).

2.2.2 Cobre

O cobre (Cu) é um dos metais mais antigos utilizados pela civilização humana, com registros de seu uso há 8.000 anos A.C. (MCHENRY, 1992). Foi usado inicialmente para substituir a pedra como ferramenta de trabalho e na confecção de armas e objetos de decoração e se tornou imprescindível para o desenvolvimento industrial em 1831, quando Michael Faraday inventou o gerador de energia elétrica (BRASIL, 2016).

É um metal avermelhado, com brilho metálico, maleável e ótimo condutor de calor e eletricidade (OLIVEIRA, 2014) que apresenta elevada resistência à tensão física e à corrosão, além de ser um metal de transição com propriedade redox (YRUELA, 2005). Na natureza ocorre nas formas de sulfetos, óxidos, carbonatos, cloretos e eventualmente como metal propriamente dito, dentre outras combinações que formam mais de 350 minerais. Os compostos

de Cu, geralmente possuem valência +2, mais estáveis, mas também são encontrados nos estados +1 e +3 (VAITSMAN; AFONSO; DUTRA, 2001; AZEVEDO; CHASIN, 2003).

É um elemento abundante na natureza, ocorrendo em maiores concentrações em rochas, solo, sedimento e água e, em níveis mais baixos, no ar. Na atmosfera, ocorre naturalmente através das erupções vulcânicas, das névoas de águas marinhas e dispersões pelos ventos (ATSDR, 2004), da decomposição de vegetações, incêndios naturais de florestas e da liberação de poeiras originadas de erosões da crosta terrestre, que possuem naturalmente o cobre na sua composição. Por outro lado, as principais fontes antropogênicas deste metal estão relacionadas às atividades de mineração e fundição, incineração de resíduos, queima de carvão como fonte de energia, emissões veiculares e atividades agrícolas (BRULAND et al., 1979; EVANS et al., 1983; GHAEDI; AHMADI; SHOKROLLAHI, 2007).

Industrialmente, esse metal é mais utilizado para fabricação de geradores de energia e fios elétricos, linhas de transmissão e enrolamentos de motores (CETESB, 2005; VAITSMAN; AFONSO; DUTRA, 2001). O cobre é também utilizado para a cunhagem de moedas e utensílios de cozinha, em tubulações para sistemas de distribuição de água, em inseticidas e fungicidas, na produção de ligas metálicas (ATSDR, 2004; NASCIMENTO; LEITE; RIZZO, 2016). Entretanto, seu uso crescente e o descarte inadequado viabilizam sua entrada nos ecossistemas, colocando toda a biota em risco devido ao seu potencial tóxico quando em concentrações elevadas (ANDERSEN, 2005).

Em pequenas quantidades, o cobre é um nutriente essencial para os seres vivos sendo um componente de proteínas, auxiliando no transporte e na mobilização do ferro e na fosforilação oxidativa (THIT; SELCK; BJERREGAARD, 2013; KROPAT et al., 2015). Nos seres humanos, é encontrado em todos os órgãos, principalmente no fígado. Esse elemento catalisa a assimilação do ferro e seu aproveitamento na síntese da hemoglobina, para a manutenção do sistema nervoso central e do sistema ósseo, contudo, seu excesso pode ocasionar asma, hipertensão, depressão, esquizofrenia e convulsões (NORDBERG et al., 2007). Esse metal também desempenha importante papel na prevenção e controle de certas condições patológicas (VALE et al., 2016).

Nos sistemas aquáticos, o cobre ocorre naturalmente em concentrações inferiores a 20 $\mu\text{g L}^{-1}$, e o aporte desse metal para esses ambientes ocorre por intemperismo do solo, através de efluentes industriais e de esgoto doméstico não tratado e também por aplicação intencional para o controle do crescimento de algas (WHO, 1998; CETESB, 2005). Sua toxicidade varia em função das mudanças nas características físicas e químicas da água, tais como temperatura, compostos orgânicos dissolvidos, partículas suspensas, pH e diversos cátions e ânions

inorgânicos (GROSELL; NIELSEN; BIANCHINI, 2002). Os efeitos tóxicos sobre a biota aquática dependem da biodisponibilidade desse metal na água, que pode ser reduzida pela complexação e adsorção pela matéria orgânica, pelo ferro, por oxido de manganês hidratado, por agentes quelantes excretados por algas e por outros organismos aquáticos (WHO, 1998).

Nos centros urbanos, o cobre contamina a água através do sistema de abastecimento de água, pois os equipamentos mecânicos o liberam no sistema. Contudo, a contaminação da água por fungicidas, algicidas, resíduos provenientes de depósitos de lixo, a atividade vulcânica e algumas atividades industriais, agrícolas e de mineração também podem ocorrer, aumentando significativamente a concentração desse metal na água (WINTER, 2009).

2.2.3 Mercúrio

O mercúrio (Hg) é conhecido pelo homem desde a antiguidade, encontrado em tumbas egípcias datadas de 1500 a.C. Na natureza ocorrem sete isótopos: ^{196}Hg , ^{198}Hg , ^{199}Hg , ^{200}Hg , ^{201}Hg , ^{202}Hg e ^{204}Hg (VAITSMAN; AFONSO; DUTRA, 2001). É um metal líquido, prateado e denso, quando encontrado a 25 °C. Conduz mal o calor e relativamente bem, a eletricidade. Ocorre na crosta terrestre principalmente na forma de sulfetos (AZEVEDO, 2003).

Este metal possui propriedade de constituir ligas com outros metais, como por exemplo, podendo ser líquidas ou sólidas, conforme a quantidade (CETESB, 2005). É um elemento que ocorre naturalmente na litosfera, com concentração média de $80 \mu\text{g L}^{-1}$. Os combustíveis fósseis são considerados fontes substanciais de Hg com concentrações de até $100 \mu\text{g L}^{-1}$. O Hg entra na atmosfera como mercúrio elementar volátil de atividades vulcânicas e geotérmicas, incêndios florestais ou, mais comumente, através de atividades antropogênicas (GANTNER et al., 2010) relacionadas às indústrias de cloro, de baterias, de lâmpadas fluorescentes e elétricas, de termômetros, de tintas de impressão, de pesticidas, de catalisadores, de medicamentos, de efluentes de laboratórios analíticos, dentre outras (QUINÁGLIA, 2006).

O mercúrio é considerado uma questão ambiental local, regional e global, que tem implicações adversas para a saúde dos seres humanos e de animais (GANTNER et al., 2010). Nos seres humanos, os sais de mercúrio são considerados venenosos e cumulativos, podendo causar diferentes danos (ex. demência, alterações hepáticas, renais, psíquicas e tremores). Já a intoxicação pelos compostos orgânicos desse metal, é bem mais preocupante, afetando de forma permanente o sistema nervoso central (VAITSMAN; AFONSO; DUTRA, 2001).

Nos sistemas aquáticos o mercúrio se encontra relacionado à quantidade de carbono orgânico, argila, ferro, fósforo e enxofre encontrados nos sedimentos (QUINÁGLIA, 2006). A

atmosfera é um reservatório significativo de Hg, contribuindo para a deposição em águas naturais (FITZGERALD; LAMBORG; HAMMERSCHMIDT, 2007) e aumentando as concentrações nas águas superficiais oceânicas (CORBITT et al., 2011).

Esse metal tem, relativamente, longo tempo de residência de 0,5 a 2 anos (SCHROEDER; MUNTHER, 1998), podendo ser transportado a grandes distâncias (até 1.000 km) de sua fonte original (JOHANSSON; BERGBÄCK; TYLER, 2001), e uma vez presente em águas superficiais, o movimento e a distribuição de mercúrio torna-se grandemente influenciado pelas circulações de água lateral e vertical e pela matéria particulada no sistema bentônico (MASON et al., 2012). O Hg é persistente em ambientes aquáticos e pode se acumular na matéria particulada e na biota (AIKEN; HSU-KIM; RYAN, 2011).

O metilmercúrio (MeHg) é a forma mais tóxica para a biota nos sistemas aquáticos (ULLRICH; TANTON; ABDRAHIMOVA, 2001) e embora os sedimentos sejam o principal depósito de Hg e MeHg e uma potencial fonte de dissolução de MeHg para a coluna de água, a contaminação da biota bentônica por MeHg não se relaciona diretamente com o conteúdo deste metal nos sedimentos (BENOIT et al., 2006). No entanto, a bioacumulação de Hg e MeHg é grandemente influenciada pelo fornecimento aquoso de MeHg para a cadeia alimentar pelágica, onde o transporte desse elemento, dos sedimentos para a coluna de água, é um mecanismo-chave da disponibilidade de MeHg, tanto para o fitoplâncton quanto na captação de partículas posteriormente ingeridas por invertebrados e peixes (CHEN et al., 2009).

Nos invertebrados aquáticos, os estágios larval e juvenil são os mais vulneráveis à exposição a esse elemento (GAGNON; FISHER, 1997), além disso, o potencial de envenenamento por Hg e a bioacumulação de MeHg são problemas ambientais significativos mundialmente, sendo a concentração de Hg correlacionada positivamente com o tamanho do corpo e com a idade. Também, a captura de presas por organismos predadores e aspectos da ecologia de forrageamento desempenham um papel essencial na dinâmica do MeHg dentro de um sistema aquático. Os efeitos da exposição aguda e crônica a esse elemento são agressivos para a fauna bentônica resultando na diminuição da atividade geral e do recrutamento populacional e morte (TRUDEL; RASMUSSEN, 1997).

2.2.4 Manganês

O manganês (Mn) é o terceiro metal mais encontrado na Terra, possui cor preta e já era utilizado há mais de 30.000 anos em pinturas rupestres, e atualmente o seu principal uso é na indústria metalúrgica (LEE, 2013). Segundo a British Geological Survey (2016), em 2014 o

mundo produziu 54,7 milhões de toneladas de minérios de manganês, principalmente para a produção de aço, tendo como função principal o aumento da resistência e da dureza da liga.

Esse metal está presente em aproximadamente 0,1% da crosta terrestre, não ocorrendo naturalmente como metal de base, mas como componente de mais de 100 minerais, incluindo sulfetos, óxidos, carbonatos, silicatos, fosfatos e boratos (HOWE; MALCOLM; DOBSON, 2005), sendo encontrado na natureza principalmente na forma de pirolusita - MnO_2 (LEE, 2013). As principais fontes antropogênicas de manganês são as descargas municipais de águas residuais, lodo de esgoto, mineração, produção de aço e ferro e emissões da combustão de aditivos para combustíveis (HOWE; MALCOLM; DOBSON, 2005).

O manganês é um nutriente essencial para os seres vivos, apresentando-se principalmente na forma de metaloenzimas (FISCHER; HEMP; JOHNSON, 2015; NAJAFPOUR et al., 2016). Nos seres humanos, promove o desenvolvimento de tecidos, esqueletos e no processo de reprodução, atua como antioxidante e participa do metabolismo de carboidratos, aminoácidos e do colesterol (ZHANG et al., 2016). Pode representar séria ameaça para os ecossistemas aquáticos e terrestres, e à medida que os problemas ambientais se tornam globais, a contaminação por Mn, especialmente nos países menos desenvolvidos, tem levantado graves preocupações sobre seus possíveis efeitos ecológicos adversos, pois o manganês é atualmente considerado como um novo contaminante emergente no meio ambiente e sua toxicidade tem atraído considerável interesse científico de ecotoxicólogos e químicos ambientais (BORDEAN et al., 2014).

O manganês não se perde no ambiente, apenas muda sua forma ou fica preso ou separado das partículas. Na água, a maior parte do manganês tende a se ligar a partículas ou se depositar no sedimento, estando assim sujeito à ingestão por animais e/ou por absorção pelas plantas aquáticas (WILLIAMS et al., 2012). Na maioria dos estudos, o acúmulo de manganês em animais está relacionado ao consumo de alimentos (ATSDR, 2008) sendo os moluscos e os crustáceos de água doce os invertebrados mais sensíveis ao manganês, seguidos pelos oligoquetos (HOWE; MALCOLM; DOBSON, 2005). Mesmo sendo um micronutriente essencial, o manganês pode ser tóxico aos organismos aquáticos, podendo ser mais ou menos tóxico dependendo da espécie, do estágio de vida e das características físicas e químicas da água (VIEIRA et al., 2012).

O Mn na água doce possui três estados de oxidação (II, III, IV), e nessas condições o Mn II solúvel é oxidado à forma $\text{Mn}^{\text{IV}}\text{O}_2$, insolúvel (GRAHAM et al., 2012). Além da relação com a oxigenação da água, a distribuição das espécies de Mn II é influenciada pelas variações de pH e do potencial redox (HERNANDÉZ, 2009). O Mn trivalente (III) e o tetravalente (IV)

são bons agentes oxidantes (HOWE; MALCOLM; DOBSON, 2005). A forma Mn (III) pode ser detectada em solução, mesmo tendo, geralmente, uma vida muito curta (STUEBEN et al., 2004).

Segundo dados da agência para a Proteção ao Meio Ambiente dos EUA (USEPA) e da Organização Mundial da Saúde (OMS) os níveis seguros de Mn em águas superficiais situam-se entre 1 e 200 $\mu\text{g L}^{-1}$ (SARIC; LUCCHINI, 2007) e 2,0 mg L^{-1} para águas de irrigação (COLOMBINI; FUOCO, 1983). Para o consumo humano a USEPA e a Food and Drug Administration (FDA) sugerem que a concentração máxima de Mn nas águas não deve ultrapassar 0,05 mg L^{-1} (SARIC; LUCCHINI, 2007).

Nos sistemas aquáticos, esse metal se encontra principalmente nos sedimentos, onde as concentrações variam de 410 a 6700 mg/kg de peso seco, podendo chegar a 13400 mg/kg em ambientes poluídos (HOWE; MALCOLM; DOBSON, 2005). O ciclo do Mn no sedimento é comandado por fatores químicos como o índice de oxigênio na água, pela penetração deste no sedimento e por fontes de carbono bentônico, ou seja, originário do metabolismo ou da decomposição dos organismos que vivem no fundo dos ambientes aquáticos (HOWE; MALCOLM; DOBSON, 2005).

2.3 Utilização de macroinvertebrados bentônicos, Odonata e Ostracoda, como organismos-teste em ensaios de toxicidade com metais

Os macroinvertebrados bentônicos são organismos que vivem sobre ou no interior de sedimentos de ecossistemas aquáticos, durante pelo menos parte de seu ciclo de vida. Estão associados aos mais diversos tipos de substratos, sejam eles orgânicos ou inorgânicos (HAUER; RESH, 1996). Participam ativamente da ciclagem de nutrientes, reduzindo o tamanho de partículas orgânicas, facilitando a ação de microrganismos decompositores e transportando matéria orgânica (CALLISTO; ESTEVES, 1995). Esses organismos são excelentes indicadores de mudanças ambientais, devido a uma maior exposição às substâncias tóxicas presentes no ambiente, pelo fato de terem história de vida mais longa se comparado com outros invertebrados, como por exemplo, o zooplâncton, e por viverem associados diretamente com o sedimento, o qual pode acumular diversos poluentes (REICE; WOHLBERG, 1993), fornecendo assim uma resposta integrada que permite uma avaliação holística das alterações no sistema (JOHNSON; WIEDERHOLM; ROSENBERG, 1993).

A ordem Odonata, que desempenha um papel importante na dinâmica dos ecossistemas aquáticos (COSTA; IDE; SIMONKA, 2006) foi recentemente, nesta última década, incluída

como organismos-chave para as avaliações ambientais (VALENTE-NETO et al., 2016; MIGUEL et al., 2017) podendo ser utilizados como indicadores da contaminação por metais (WAYLAND; CROSLY, 2006). Entretanto, os estudos que documentaram as respostas desses organismos à toxicidade dos metais ainda são escassos. Sloof (1983) expôs larvas de *Ischnura elegans* ao mercúrio e ao cádmio, e a uma mistura de concentrados orgânicos da água do rio Reno e observou que esta espécie foi mais tolerante ao cádmio na comparação com outros invertebrados aquáticos e similares na tolerância a outras larvas de insetos aquáticos. Em outro estudo, larvas de *Libellula depressa*, *L. quadrimaculata* e *Aeshna cyanea* foram expostas ao chumbo para se medir a bioacumulação nos órgãos e a oxidação da atividade enzimática (MEYER, HARISCH E SAGREDOS, 1986). Estes autores constataram que a maior parte do chumbo estava acumulado na cutícula e que a atividade enzimática foi significativamente reduzida apenas no cérebro. Para *Somatochlora cingulata*, Correa, Coler e Yin (1985) analisaram a toxicidade do alumínio em baixos níveis de pH e observaram efeito adverso, como a diminuição do consumo de oxigênio, enquanto Rockwood, Jones e Coler (1990) observaram reduções no peso e no consumo de oxigênio e mudanças na composição química da hemolinfa em larvas de *Libellula julia* expostas ao alumínio.

Os Ostracoda, mesmo sendo reconhecidos como de grande importância para a biota de água doce, ainda são negligenciados em pesquisas ecológicas e ecotoxicológicas devido às dificuldades de identificação das espécies (HIGUTI, 2006). Esses organismos possuem estreita relação com o sedimento (MARTENS, 1995) sendo altamente sensíveis à poluição por metais (KHANGAROT; DAS, 2009; RUIZ et al., 2013). Para representantes dessa ordem, embora sejam poucos, existem estudos relevantes em relação à toxicidade dos metais. Assim, Khangarot e Ray (1987) expuseram *Cypris subglobosa* ao sulfato de cobre em diferentes valores de pH e observaram que a toxicidade do cobre diminuiu abruptamente com o aumento do pH. Em avaliações da toxicidade de sedimentos naturais, Havel e Talbot (1995) expuseram *Cyprinotus incongruens* em testes de toxicidade crônica com duração de 10 dias e verificaram grande variação nos parâmetros reprodutivos, como a fecundidade (0 - 64 total de ovos por fêmea) e o tempo de desenvolvimento embrionário (1-1,57 dias) indicando que ostrácodos podem ser bastante sensíveis à toxicidade de poluentes existentes em sedimentos.

Em um estudo mais recente, em que o ostrácodo *Cypris subglobosa* foi exposto a 36 metais e 12 outros compostos tóxicos de referência constatou-se que o ósmio foi o metal mais tóxico, enquanto o boro foi o metal menos tóxico para esta espécie (KHANGAROT; DAS, 2009). Ainda em relação à toxicidade de metais, testes de toxicidade aguda com cobre, cádmio, zinco, chumbo, níquel, ferro, alumínio e manganês, realizados com o ostrácodo *Stenocypris*

major mostraram que as maiores toxicidades foram causadas pelos metais cobre e cádmio (SHUHAIMI-OTHMAN et al., 2011).

Atualmente, as informações a respeito dos descartes irregulares ou acidentais de metais nos ambientes aquáticos não são suficientes para uma clara compreensão dos efeitos nocivos a organismos não-alvo, e com base em informações disponíveis encontradas, diversos órgãos competentes negligenciam a fiscalização do descarte de efluentes contendo metais e outros agentes tóxicos, pelos diversos empreendimentos, assim como permitem o uso indiscriminado, pela agricultura, de fertilizantes, pesticidas, inseticidas, entre outros, que possuem diferentes tipos de metais em suas formulações.

3 JUSTIFICATIVA

Os metais são elementos particularmente importantes devido à sua alta toxicidade, mesmo em baixas concentrações (VATANDOOST et al., 2018), sendo cerca de trinta (dos metais existentes) considerados potencialmente tóxicos para os seres vivos (SARKAR, 2002), incluindo o cádmio, o cobre, o mercúrio e o manganês.

Relativamente poucos estudos ecotoxicológicos tem sido realizados para espécies de regiões tropicais quando comparados com as de regiões temperadas, como por exemplo, Moreira et al. (2017) e Rocha et al. (2018), resultando na frequente utilização de dados de espécies de clima temperado para as avaliações de risco para espécies de ambiente tropical (DAAM; RICO, 2016; MOREIRA et al., 2017). Contudo, a sensibilidade das espécies de diferentes regiões pode diferir amplamente entre os compostos (DOMINGUES et al., 2007).

Comparativamente, há poucos estudos de toxicidade realizados com espécies de Odonata e de Ostracoda nativas da região Neotropical (ex. ROCHA et al., 2018) constituindo assim uma lacuna de informações científicas em diversos aspectos, tais como distribuição geográfica, biologia, ecologia, ciclo de vida e, especialmente de dados sobre toxicidade. Sabe-se que os Odonata da família Libellulidae e os Ostracoda da família Cyprididae possuem maior riqueza de espécies em áreas tropicais (KALKMAN et al., 2008; MARTENS et al., 2008), podendo-se também supor a possibilidade de que entre estes haja também maior número de espécies sensíveis, o que torna viável que bioensaios de toxicidade em condições tropicais possam ser realizados com espécies nativas. Isto evitaria a super ou a sub-estimação de risco para as espécies locais, baseadas em testes realizados com espécies de regiões temperadas.

4 HIPÓTESES

- As espécies nativas de Odonata (*Tramea cophysa*) e de Ostracoda (*Strandesia trispinosa* e *Clamydotheca* sp. apresentarão sensibilidade características adequadas para sua utilização como organismos-teste em avaliações de toxicidade por meio de testes laboratoriais, comparadas a outras espécies de invertebrados nativos e não-nativos.
- Os compostos metálicos sulfato de cobre, cloreto de cádmio, cloreto de mercúrio e sulfato de manganês, tanto isolados como em mistura e em condições de teste semelhantes, causarão efeitos deletérios à sobrevivência dos Odonata e dos Ostracoda nativos estudados.
- As três espécies nativas selecionadas serão mais sensíveis do que outras espécies mundialmente utilizadas como organismos-teste em ensaios padronizados para avaliação da toxicidade dos compostos sulfato de cobre, cloreto de cádmio, sulfato de manganês e cloreto de mercúrio.
- A espécies nativas de Odonata *Tramea cophysa* e de Ostracoda *Chlamydotheca* sp. terão suas capacidades de predação diminuídas e seletividades alimentares alteradas após a exposição aos compostos metálicos, isoladamente.

5 OBJETIVOS

5.1 Objetivo geral

O objetivo geral do presente estudo foi avaliar os efeitos tóxicos do sulfato de cobre (CuSO_4), cloreto de cádmio (CdCl_2), cloreto de mercúrio (HgCl_2) e sulfato de manganês (MnSO_4) sobre os macroinvertebrados bentônicos tropicais *Tamea cophysa* (Hagen, 1861 - Libellulidae, Odonata), *Chlamydotheca* sp. (Saussure, 1858 – Cyprididae, Ostracoda) e *Strandesia trispinosa* (Pinto & Purper, 1965 – Cyprididae, Ostracoda).

5.2 Objetivos específicos

- a) Determinar a sensibilidade das espécies *Tamea cophysa*, *Chlamydotheca* sp. e *Strandesia trispinosa* à substância de referência sulfato de cobre e comparar esses dados com outros disponíveis para espécies de regiões tropicais e temperadas;
- b) Avaliar os efeitos tóxicos agudos do sulfato de cobre, sulfato de manganês, cloreto de cádmio e cloreto de mercúrio de forma isolada sobre a capacidade de sobrevivência dos organismos-teste selecionados, por meio da resposta de sobrevivência à toxicidade aguda destes metais.
- c) Avaliar os efeitos tóxicos de algumas combinações binárias dos metais cobre e cádmio, cobre e mercúrio, cobre e manganês e cádmio e mercúrio ao ostrácode *Strandesia trispinosa* a partir de testes de toxicidade aguda.
- d) Avaliar os efeitos tóxicos do sulfato de cobre, cloreto de cádmio, cloreto de mercúrio e sulfato de manganês sobre a intensidade de predação e a preferência alimentar dos invertebrados *Tamea cophysa* e *Chlamydotheca* sp.

REFERÊNCIAS

- ABESSA, D. M. S. **Avaliação da qualidade de sedimentos do sistema estuarino de Santos, SP, Brasil**. Tese de Doutorado. Instituto Oceanográfico, Universidade de São Paulo, 2002.
- ABNT - Associação Brasileira de Normas Técnicas - NBR 12713. **Ecotoxicologia aquática - Toxicidade aguda - Método de ensaio com *Daphnia* spp** (Crustacea, Cladocera), 2016. 27p.
- ADAM, N.; SCHMITT, C.; DE BRUYN, L.; KNAPEN, D.; BLUST, R. Aquatic acute species sensitivity distributions of ZnO and CuO nanoparticles. **Science of the Total Environment**, v. 526, p. 233-242, 2015.
- AIKEN, G. R.; HSU-KIM, H.; RYAN, J. N. Influence of dissolved organic matter on the environmental fate of metals, nanoparticles, and colloids. **Environmental Science & Technology**, v. 45, n. 8, p. 3196–3201, 2011.
- ALI, H.; KHAN, E.; SAJAD, M. A. Phytoremediation of heavy metals – Concepts and applications. **Chemosphere**, v. 91, p. 869-881, 2013.
- ALI, M. M.; ALI, M. L.; ISLAM, M. S.; RAHMAN, M. Z. Preliminary assessment of heavy metals in water and sediment of Karnaphuli River, Bangladesh. **Environmental Nanotechnology, Monitoring and Management**, v.5, p. 27–35, 2016.
- ALVES, M. T. R.; TERESA, F. B.; NABOUT, J. C. A. A global scientific literature of research on water quality indices: trends, biases and future directions. **Acta Limnologica Brasiliensia**, v. 26, n. 3, p. 245-253, 2014.
- ANA - Agência Nacional de Águas. **Conjuntura dos recursos hídricos: informe 2015**. Brasília: ANA, 2015. Disponível em: http://www3.snirh.gov.br/portal/snirh/centrais-de-conteudos/conjuntura-dos-recursos-hidricos/conjuntura_informe_2015.pdf. Acesso em: 14/09/2018.
- ANDERSEN, R. A. **Algal Culturing Techniques**. 1st Edition. Academic Press. ISBN: 0120884267. 2005, 596p.
- ARAGÃO, M. A.; ARAÚJO, R. Métodos de ensaios de toxicidade com organismos aquáticos. In: ZAGATTO, P. A.; BERTOLETTI, E. (Eds.). **Ecotoxicologia Aquática: princípios e aplicações**. São Carlos: Rima Editora, 2006. p. 117-152, cap. 6.
- ATKINS, P. W.; SHRIVER, D. F. **Inorganic Chemistry**. 5a edição, Oxford University Press, USA, 2010, 914p.
- ATSDR - Agency for Toxic Substances and Disease Registry. **Toxicological Profile for Copper, 2004**. U.S. Department of Health and Human Services. Disponível em: <https://stacks.cdc.gov/view/cdc/7006>. Acesso em: 24/09/2018.
- ATSDR (Agency for Toxic Substances and Disease Registry). **Draft toxicological profile for manganese, 2008**. Division of toxicology and environmental medicine/applied toxicology branch. Disponível em: <http://www.atsdr.cdc.gov/hazdat.html> Acesso em: 28/09/2018.

AZEVEDO, F. A. **Toxicologia do mercúrio**. São Carlos, RiMA, 2003. São Paulo: InterTox, 2003, 292p.

AZEVEDO, F. A.; CHASIM, A. A. M. **As bases toxicológicas da ecotoxicologia**. São Carlos: Rima, 2003. 340p.

BAIRD, C.; CANN, M. C. **Química ambiental**. 4th ed. Porto Alegre, RS: Bookman; 2011, 844p.

BALINTOVA, M.; SINGOVSKA, E.; VODICKA, R.; PURCZ, P. Statistical evaluation of dependence between pH, metal contaminants, and flow rate in the AMD-affected Smolnik Creek. **Mine Water and the Environment**, v. 35, n. 1, p. 10-17, 2016.

BARAŁKIEWICZ, D.; CHUDZIŃSKA, M.; SZPAKOWSKA, B.; ŚWIERK, D.; GOŁDYN, R.; DONDAJEWSKA, R. Storm water contamination and its effect on the quality of urban surface waters. **Environmental Monitoring and Assessment**, v. 186, n. 10, p. 6789-6803, 2014.

BARAN, A.; TARNAWSKI, M. Assessment of heavy metals mobility and toxicity in contaminated sediments by sequential extraction and a battery of bioassays. **Ecotoxicology**, v. 24, n. 6, p. 1279-1293, 2015.

BELANGER, S. E.; RAWLINGS, J. M.; CARR, G. J. Use of fish embryo toxicity tests for the prediction of acute fish toxicity to chemicals. **Environmental Toxicology and Chemistry**, v. 32, n. 8, p. 1768-1783, 2013.

BENOIT, J. M.; SHULL, D. H.; ROBINSON, P.; UCRAN, L. R. Infaunal burrow densities and sediment monomethyl mercury distributions in Boston Harbor, Massachusetts. **Marine Chemistry**, v. 102, n. 1-2, p. 124-133, 2006.

BIS - Bureau of Indian Standards. 2009. Disponível em: [http://bis.org.in/sf/fad/FAD25\(2047\)C.pdf](http://bis.org.in/sf/fad/FAD25(2047)C.pdf). Acesso em: 21/09/2018.

BORDEAN, D. M.; NICA, D. V.; HARMANESCU, M.; BANATEAN-DUNEA, I.; GERGEN, I. I. Soil Manganese enrichment from industrial inputs: a gastropod perspective. **PloS one**, v. 9, n. 1, 2014.

BRASIL. **Ministério da Indústria, Comércio Exterior e Serviços 2016**. Disponível em: <http://www.mdic.gov.br/noticias/9-assuntos/categ-comercio-exterior/480-metalurgia-e-esiderurgia-4>. Acesso em: 26/09/2018.

BRITISH GEOLOGICAL SURVEY. **World Mineral Production** (2010-2014). Londres, 2016.

BRULAND, K. W.; FRANKS, R. P.; KNAUER, G. A.; MARTIN, J. H. Sampling and analytical methods for the determination of copper, cadmium, zinc, and nickel at the nanogram per liter level in sea water. **Analytica Chimica Acta**, v. 105, n. Supplement C, p. 233-245, 1979.

CABRAL, M.; TOURE, A.; GARÇON, G.; DIOP, C.; BOUHSINA, S.; DEWAELE, D.; DIOUF, A. Effects of environmental cadmium and lead exposure on adults neighboring a discharge: Evidences of adverse health effects. **Environmental Pollution**, v. 206, p. 247-255, 2015.

CAETANO, M.; MADUREIRA, M. J.; VALE, C. Metal remobilisation during resuspension of anoxic contaminated sediment: short-term laboratory study. **Water, Air, and Soil Pollution**, v. 143, n. 1-4, p. 23-40, 2003.

CALLISTO, M.; ESTEVES, F. A. Distribuição da comunidade de macroinvertebrados bentônicos em um lago amazônico impactado por rejeito de bauxita, Lago Batata (Pará, Brasil). **Oecologia Brasiliensis**. v. 1, p. 281-291, 1995.

CARVALHO, F. P. Pesticides, environment, and food safety. **Food and Energy Security**, v. 6, p. 609-619, 2017.

CÉSAR-RIBEIRO, C. **Avaliação e identificação da toxicidade aguda e crônica do Light-Stick, sinalizador utilizado em pesca de espinhel, através de ensaios com diferentes organismos marinhos**. 59f. 2010. (Monografia) Centro Universitário Monte Serrat, Santos-SP. 2010.

CETESB – Companhia Ambiental do Estado de São Paulo. **Relatório de qualidade das águas interiores do estado de São Paulo 2004**. São Paulo, 2005, 297p.

CHEN, J.; SHIYAB, S.; HAN, F. X.; MONTS, D. L.; WAGGONER, C. A.; YANG, Z.; SU, Y. Bioaccumulation and physiological effects of mercury in *Pteris vittata* and *Nephrolepis exaltata*. **Ecotoxicology**, v. 18, n. 1, p. 110, 2009.

CLAXTON, L. D.; HOUK, V. S.; HUGHES, T. J. Genotoxicity of industrial wastes and effluents. **Mutation Research**, v. 410, p. 237–243, 1998.

COLOMBINI, M. P.; FUOCO, R. Determination of manganese at ng/ml levels in natural waters by differential pulse polarography. **Talanta**, v. 30, p. 901-905, 1983.

CORBITT, E. S.; JACOB, D. J.; HOLMES, C. D.; STREETS, D. G.; SUNDERLAND, E. M. Global source–receptor relationships for mercury deposition under present-day and 2050 emissions scenarios. **Environmental Science & Technology**, v. 45, n. 24, p. 10477-10484, 2011.

COSTA, C.; IDE, S.; SIMONKA, C. E. **Insetos ninfas: metamorfose e identificação**. Ribeirão Preto: Holos; 2006.

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

CONAMA - Conselho nacional do meio ambiente. **Resolução nº 357 de 17 de março de 2005**. Ministério do Meio Ambiente. Disponível em: <http://www.mma.gov.br/port/conama/res/res05/res35705.pdf>. Acessado em: 21/09/2018.

CONAMA - Conselho nacional do meio ambiente. **Resolução nº 430 de 13 de maio de 2011.** Ministério do Meio Ambiente. Disponível em: <http://www.mma.gov.br/port/conama/legiabre.cfm?codlegi=646>. Acesso em: 21/09/2018.

CORREA, M.; COLER, R. A.; YIN, C. M. Changes in oxygen consumption and nitrogen metabolism in the dragonfly *Somatochlora cingulata* exposed to aluminum in acid waters. **Hydrobiologia**, v. 121, p. 151-156, 1985.

CPRM - Serviço Geológico do Brasil. **Relatório Anual**. Brasília, 2014. Disponível em: http://www.cprm.gov.br/publique/media/informacao_publica/rel_anual_2014.pdf. Acessado em: 02/03/2019.

DAAM, M. A., RICO, A. Freshwater shrimps as sensitive test species for the risk assessment of pesticides in the tropics. **Environmental Science and Pollution Research**, v. 25, p. 13235–13243, 2016.

DIAS, C. A.; DA COSTA, A. S. V.; GUEDES, G. R.; UMBELINO, G. J. M.; DE SOUSA, L. G.; ALVES, J. H.; SILVA, T. G. M. Impactos do rompimento da barragem de Mariana na qualidade da água do rio Doce. **Revista Espinhaço**, v. 7, n. 1, p. 21-35, 2018.

EGGLETON, J.; THOMAS, K. V. A review of factors affecting the release and bioavailability of contaminants during sediment disturbance events. **Environment international**, v. 30, n. 7, p. 973-980, 2004.

ESPINOZA-QUÍÑONES, F. R.; MÓDENES, A. N.; THOMÉ, L. P.; PALÁCIO, S. M.; TRIGUEROS, D. E. G.; OLIVEIRA, A. P.; SZYMANSKI, N. Study of the bioaccumulation kinetic of lead by living aquatic macrophyte *Salvinia auriculata*. **Chemical Engineering Journal**, v. 150, p. 316-322, 2009

EVANS, J. W.; WAINWRIGHT, M. S.; BRIDGEWATER, A. J.; YOUNG, D. J. On the determination of copper surface area by reaction with nitrous oxide. **Applied Catalysis**, v. 7, n. 1, p. 75-83, 1983.

FERREIRA, C. F.; FRUEH, A. B.; DÜSMAN, E.; HECK, M. C.; VICENTINI, V. E. P. Avaliação da citotoxicidade das águas dos Ribeirões Varginha (Califórnia-PR) e Abatinga (Mandaguari-PR), em *Allium cepa*. **Revista Saúde e Biologia**, v. 7, n. 2, p. 46-54, 2012.

FISCHER, W. W.; HEMP, J.; JOHNSON, J. E. Manganese and the evolution of photosynthesis. **Origins of Life and Evolution of Biospheres**, v. 45, n. 3, p. 351-357, 2015.

FITZGERALD, W. F.; LAMBORG, C. H.; HAMMERSCHMIDT, C. R. Marine biogeochemical cycling of mercury. **Chemical Reviews**, v. 107, n. 2, p. 641-662, 2007.

GAGNON, C.; FISHER, N. S. Bioavailability of sediment-bound methyl and inorganic mercury to a marine bivalve. **Environmental Science & Technology**, v. 31, n. 4, p. 993-998, 1997.

GALDIERO, E.; SICILIANO, A.; MASELLI, V.; GESUELE, R.; GUIDA, M.; FULGIONE, D.; FALANGA, A. An integrated study on antimicrobial activity and ecotoxicity of quantum dots and quantum dots coated with the antimicrobial peptide indolicidin. **International journal of nanomedicine**, v. 11, p. 4199, 2016.

GANTNER, N.; POWER, M.; IQALUK, D.; MEILI, M.; BORG, H.; SUNDBOM, M.; MUIR, D. C. Mercury concentrations in landlocked Arctic char (*Salvelinus alpinus*) from the Canadian Arctic. Part I: insights from trophic relationships in 18 lakes. **Environmental Toxicology and Chemistry**, v. 29, n. 3, p. 621-632, 2010.

GARCIA, M.; ROMBKE, J.; BRITO, M. T.; SCHEFFCZYK, A. Effects of three pesticides on the avoidance behavior of earthworms in laboratory tests performed under temperate and tropical conditions. **Environmental Pollution**, v. 153, p. 450-456, 2007.

GHAEDI, M.; AHMADI, F.; SHOKROLLAHI, A. Simultaneous preconcentration and determination of copper, nickel, cobalt and lead ions content by flame atomic absorption spectrometry. **Journal of Hazardous Materials**, v. 142, n. 1, p. 272-278, 2007.

GRAHAM, M. C.; GAVIN, K. G.; KIRIKA, A.; FARMER, J. G. Processes controlling manganese distributions and associations in organic-rich freshwater aquatic systems: the example of Loch Bradan, Scotland. **Science of the total environment**, v. 424, p. 239-250, 2012.

GROSELL, M.; NIELSEN, C.; BIANCHINI, A. Taxa de rotatividade de sódio determina a sensibilidade ao cobre aguda e exposição de prata em animais de água doce. Comparative Biochemistry and Physiology Parte C. **Toxicologia e Farmacologia**, v. 133, n. 1, p. 287-303, 2002.

HASHEMI, S. A.; FARAJPOUR, G. Investigation of cadmium pollution in the spruce saplings near the metal production factory. **Toxicology and Industrial Health**, v. 32, n. 2, p. 323-327, 2016.

HAUER, F. R.; RESH, W. H. Benthic macroinvertebrates. In: HAUER, F. R.; LAMBERTI, G. A. **Methods in Stream Ecology**. San Diego: Academic Press. p. 339-369, 1996.

HAVEL, J. E.; TALBOTT, B. L. Life history characteristics of the freshwater ostracod *Cyprinotus incongruens* and their application to toxicity testing. **Ecotoxicology**, v. 4, n. 3, p. 206-218, 1995.

HERNÁNDEZ, R. B. **Manganês: o papel do fracionamento químico e da especiação como determinantes de seu comportamento geoquímico e neurotóxico nos organismos em desenvolvimento**. Tese (Doutorado). Universidade de São Paulo, São Paulo, 2009.

HIGUTI, J. **Fatores reguladores da biodiversidade de Ostracoda (crustacean) no vale alluvial do alto rio Paraná**. Tese de doutorado. Universidade Estadual de Maringá. 59p. 2006.

HOFFMAN, D. J.; RATTNER, B. A.; BURTON JR, G. A.; CAIRNS JR, J. **Handbook of ecotoxicology**. CRC press, 2010, 1312p.

HOWE, P. D.; MALCOLM, H.; DOBSON, S. **Manganese and its compounds: environmental aspects**. World Health Organization, Geneva, 2005, 70p.

HSU, L. C.; HUANG, C. Y.; CHUANG, Y. H.; CHEN, H. W.; CHAN, Y. T.; TEAH, H. Y.; TZOU, Y. M. Accumulation of heavy metals and trace elements in fluvial sediments received

effluents from traditional and semiconductor industries. **Scientific Reports**, v. 6, p. 34250, 2016.

HUSSAIN, Q. A.; PANDIT, A. K. Macroinvertebrates in streams: A review of some ecological factors. **International Journal of Fisheries and Aquaculture**, v. 4, n. 7, p. 114-123, 2012.

IBAMA - Instituto Brasileiro do Meio Ambiente e dos Recursos Naturais Renováveis. **Lauda técnico preliminar: impactos ambientais decorrentes do desastre envolvendo o rompimento da barragem de Fundão, em Mariana, Minas Gerais**. Brasília. 2015.

IGAM - Instituto Mineiro de Gestão das Águas. **Monitoramento da qualidade das águas superficiais no estado de Minas Gerais**. Relatórios 1º, 2º e 3º trimestres. Belo Horizonte. IGAM. 2013.

IUPAC – International Union of Pure and Applied Chemistr. **Periodic table of the elements**. Disponível em: http://iupac.org/cms/wpcontent/uploads/2015/07/IUPAC_Periodic_Table-8Jan16.pdf. Acesso em: 18/09/2018.

JOHANSSON, K.; BERGBÄCK, B.; TYLER, G. Impact of atmospheric long-range transport of lead, mercury and cadmium on the Swedish forest environment. **Water, Air and Soil Pollution: Focus**, v. 1, n. 3-4, p. 279-297, 2001.

JOHNSON, R. T.; WIEDERHOLM, T.; ROSENBERG, D. M. Freshwater biomonitoring using individual organisms, populations and species assemblages of benthic macroinvertebrates. In: ROSENBERG, D. M.; RESH, V. H., eds. **Freshwater Biomonitoring and Benthic Macroinvertebrates**. New York, Chapman and Hall. 1993. p. 40-158.

KALKMAN, V. J.; CLAUSNITZER, V.; DIJKSTRA, K. D. B.; ORR, A. G.; PAULSON, D. R.; VAN TOL, J. Global diversity of dragonflies (Odonata) in freshwater. **Hydrobiologia**, v. 595, p. 351–363, 2008.

KHANGAROT, B. S.; DAS, S. Acute toxicity of metals and reference toxicants to a freshwater ostracod, *Cypris subglobosa* Sowerby, 1840 and correlation to EC50 values of other test models. **Journal of Hazardous Materials**, v. 172, p. 641–649, 2009.

KHANGAROT, B. S.; RAY, P. K. Response of a freshwater ostracod (*Cypris subglobosa* Sowerby) exposed to copper at different pH levels. **Clean - Soil, Air, Water**, v. 15, n. 6, p. 553-558, 1987.

KOMÍNKOVÁ, D.; NÁBĚLKOVÁ, J.; VITVAR, T. Effects of combined sewer overflows and storm water drains on metal bioavailability in small urban streams (Prague metropolitan area, Czech Republic). **Journal of soils and sediments**, v. 16, n. 5, p. 1569-1583, 2016.

KOTZ, J. Ivano Bertini. **Nature chemical biology**, v. 4, n. 3, p. 157, 2008.

KROPAT, J.; GALLAHER, S. D.; URZICA, E. I.; NAKAMOTO, S. S.; STRENKERT, D.; TOTTEY, S.; MERCHANT, S. S. Copper economy in Chlamydomonas: prioritized allocation and reallocation of copper to respiration vs. photosynthesis. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v. 112, n. 9, p. 2644-2651, 2015.

KUMAR, P.; KUMAR, R.; NAGPURE, N.; NAUTIYAL, P.; DABAS, A.; KUSHWAHA, B.; LAKRA, W. Genotoxic and mutagenic assessment of hexavalent chromium in fish following in vivo chronic exposure. **Humam and Ecological Risk Assessment**, v.18, p. 855-870, 2012.

KUMAR, S. P. Micronucleus assay: a sensitive indicator for aquatic pollution. **International Journal of Research in BioSciences**, v. 1, p. 32-37, 2012.

LARINI, L. **Toxicologia**. São Paulo: Editora Manole, 2ª Edição, 1993, 281p.

LEE, J. D. **Química inorgânica não tão concisa**. Blucher. 5ed. São Paulo, 2013, 528p.

LEMOS, N. G.; DIAS, A. L.; SILVA-SOUZA, A. T.; MANTOVANI, M. S. Evaluation of environmental waters using the comet assay in *Tilapia rendalli*. **Environmental Toxicology and Pharmacol**, v. 19, p. 197–201, 2005.

LI, S.; ZHANG, Q. Risk assessment and seasonal variations of dissolved trace elements and heavy metals in the Upper Han River, China. **Journal of Hazardous Materials**, v. 181, p. 1051–1058, 2010.

LI, Y. L.; LIU, J. L. Health risk assessment on heavy metal pollution in the water environment of Luan River. **Journal of Agro-Environment Science**, v. 28, p. 1177– 1184, 2009.

LIBRALATO, G.; DEVOTI, A. C.; ZANELLA, M.; SABBIONI, E.; MIČETIĆ, I.; MANODORI, L.; GHIRARDINI, A. V. Phytotoxicity of ionic, micro-and nano-sized iron in three plant species. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 123, p. 81-88, 2016.

LOFRANO, G.; LIBRALATO, G.; ADINOLFI, R.; SICILIANO, A.; IANNECE, P.; GUIDA, M.; CAROTENUTO, M. Photocatalytic degradation of the antibiotic chloramphenicol and effluent toxicity effects. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 123, p. 65-71, 2016.

LOPES, L. M. N. O rompimento da barragem de Mariana e seus impactos socioambientais. **Sinapse Múltipla**, v. 5, n. 1, p. 1-15, 2016.

MAGRIS, R. A.; MARTA-ALMEIDA, M.; MONTEIRO, J. A.; BAN, N. C. A modelling approach to assess the impact of land mining on marine biodiversity: Assessment in coastal catchments experiencing catastrophic events (SW Brazil). **Science of the Total Environment**, n. 659, p. 828-840, 2019.

MAIA, F. F. **Elementos traços em sedimentos e qualidade da água de rios afetados pelo rompimento da Barragem de Fundão, em Mariana, MG**. (Mestrado). Universidade Federal de Viçosa, Programa de Pós-graduação em Solos e Nutrição de Plantas, 2017.

MANSANO, A. S.; MOREIRA, R. A.; DORNFELD, H. C.; FREITAS, E. C.; VIEIRA, E. M.; SARMENTO, H.; ROCHA, O.; SELEGHIM, M. H. R. Effects of diuron and carbofuran and their mixtures on the microalgae *Raphidocelis subcapitata*. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 142, p. 312-321, 2017.

MAO, W. P.; YE, J. L.; GUAN, Z. B.; ZHAO, J. M.; ZHANG, C.; ZHANG, N. N.; TIAN, T. Cadmium induces apoptosis in human embryonic kidney (HEK) 293 cells by caspase-

dependent and-independent pathways acting on mitochondria. **Toxicology in Vitro**, v. 21, n. 3, p. 343-354, 2007.

MARTENS, K. Recent non-marine Ostracoda. **Workshop on Neotropical aquatic invertebrates**. University of São Paulo, Brazil. 31: 1-18p., 1995.

MARTENS, K.; SCHÖN, I.; MEISCH, C.; HORNE, D. J. Global diversity of ostracods (Ostracoda, Crustacea) in freshwater. **Hydrobiologia**, v. 595, p. 185-193, 2008.

MASON, R. P.; CHOI, A. L.; FITZGERALD, W. F.; HAMMERSCHMIDT, C. R.; LAMBORG, C. H.; SOERENSEN, A. L.; SUNDERLAND, E. M. Mercury biogeochemical cycling in the ocean and policy implications. **Environmental Research**, v. 119, p. 101-117, 2012.

MATSUMOTO, S.; MANTOVANI, M.; MALAGUTTI, M.; DIAS, A. L.; FONSECA, I.; MARIN-MORALES, M. A. Genotoxicity and mutagenicity of water contaminated with tannery effluents, as evaluated by the micronucleus test and comet assay using the fish *Oreochromis niloticus* and chromosome aberrations in onion root-tips. **Genetics and Molecular Biology**, v. 29, p. 148-158, 2006.

MCGEER, J. C.; NIYOGI, S.; SMITH, D. S. Cadmium. In: WOOD, C. M.; FARRELL, A. P.; BRAUNER, C. J. (Eds). **Homeostasis and Toxicology of Non-Essential Metals**. London: Academic Press, UK, ed. 1, 2012. 507p.

MCHENRY, R. **The New Encyclopaedia Britannica**. (Ed.) 15th edn, Vols. 4 and 8, Encyclopaedia Britannica, Chicago (1992), 612p.

MELO, A. Princípios norteadores da gestão dos recursos hídricos no Brasil e no Estado de São Paulo em tempos de escassez. In: GIOMETTI, A. B. R.; DAVID, C. M. **Um descortinar sobre o patrimônio e desenvolvimento sustentável, no século XXI** – Volume I. Curitiba: CRV, 2016.

MEYER, W.; HARISCH, G.; SAGREDOS, A. N. Biochemical and histochemical aspects of lead exposure in dragonfly larvae (Odonata: Anisoptera). **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 11, n. 3, p. 308-319, 1986.

MIGUEL, T. B.; OLIVEIRA-JUNIOR, J. M. B.; LIGEIRO, R.; JUAN, L. Odonata (Insecta) as a tool for the biomonitoring of environmental quality. **Ecological Indicators**, 81, 555-566, 2017.

MINISTÉRIO DA SAÚDE. 2011. Disponível em: http://bvsms.saude.gov.br/bvs/saudelegis/gm/2011/prt2914_12_12_2011.html. Acesso em: 21/09/2018.

MOREIRA, R. A.; DAAM, M. A.; VIEIRA, B. H.; SANCHES, A. L. M.; REGHINI, M. V.; MANSANO, A. S.; FREITAS, E. C.; ESPINDOLA, E. L. G.; ROCHA, O. Toxicity of abamectin and difenoconazole mixtures to a Neotropical cladoceran after simulated run-off and spray drift exposure. **Aquatic Toxicology**, v. 185, p. 58-66, 2017.

MORTON-BERMEA, O.; HERNÁNDEZ-ÁLVAREZ, E.; GONZÁLEZ-HERNÁNDEZ, G.; ROMERO, F.; LOZANO, R.; BERAMENDI-OROSCO, L. E. Assessment of heavy metal pollution in urban topsoils from the metropolitan area of Mexico City. **Journal of Geochemical Exploration**, v. 101, n. 3, p. 218-224, 2009.

MMA - Ministério do Meio Ambiente, Brasil. **Rio Doce: acompanhe as ações ambientais do Governo Federal**. 2015. Disponível em: <<http://www.mma.gov.br/component/k2/item/10586-mariana>>. Acessado em: 02/03/2019.

NAJAFPOUR, M. M.; RINGER, G.; HOŁYŃSKA, M.; MOGHADDAM, A. N.; ARO, E. M.; CARPENTIER, R.; ALLAKHVERDIEV, S. I. Manganese compounds as water-oxidizing catalysts: from the natural water-oxidizing complex to nanosized manganese oxide structures. **Chemical Reviews**, v. 116, n. 5, p. 2886-2936, 2016.

NASCIMENTO, J. M.; LEITE, S. G. F.; RIZZO, A. C. L. **Estudo da Remoção do Íon Cobre por meio de Biossorção usando Biomassa de Levedura (*Saccharomyces cerevisiae*)**. CETEM/MCTIC, 2016. Disponível em: <http://mineralis.cetem.gov.br/bitstream/cetem/1961/1/STA%2089.pdf>. Acessado em: 24/09/2018.

NATIONAL CENTER FOR BIOTECHNOLOGY INFORMATION (NCBI). **PubChem Compound Database**, 2018. Disponível em: <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/31193>. Acessado em: 19/09/2018.

NATIONAL RESEARCH COUNCIL. **Restoration of aquatic ecosystems: science, technology, and public policy**. Washington D.C: National Academies Press, 1992. 552p.

NEWMAN, M. C.; CLEMENTS, W. H. **Ecotoxicology: a comprehensive treatment**. CRC Press, 2008, 880p.

NORDBERG, G. F.; FOWLER, B. A.; NORDBERG, M.; FRIBERG, L. T. **Handbook on the toxicology of metals** (Ed.) 3. ed. Amsterdam: Elsevier, 2007, 995p.

OLIVEIRA, M, R. **Eficiencia de extração de cobre e níquel utilizando sistemas de microemulsionados bifásicos e trifásicos**. Tese (Doutorado), Universidade Federal do Rio Grande do Norte, 128f. Centro de Ciências Exatas e da Terra – Programa de Pós-graduação em Química, 2014.

PAN, J.; PLANT, J. A.; VOULVOULIS, N.; OATES, C. J.; IHLENFELD, C. Cadmium levels in Europe: implications for human health. **Environmental Geochemistry and Health**, v. 32, n. 1, p. 1-12, 2010.

PARK, J.; KIM, S.; YOO, J.; LEE, J. S.; PARK, J. W.; JUNG, J. Effect of salinity on acute copper and zinc toxicity to *Tigriopus japonicus*: the difference between metal ions and nanoparticles. **Marine Pollution Bulletin**, v. 85, n. 2, p. 526-531, 2014.

PEREIRA, L. F.; DE BARROS CRUZ, G.; GUIMARÃES, R. M. F. Impactos do rompimento da barragem de rejeitos de Brumadinho, Brasil: uma análise baseada nas mudanças de cobertura da terra. **Journal of Environmental Analysis and Progress**, v. 4, n. 2, p. 122-129, 2019.

PURKAYASTHA, D.; MISHRA, U.; BISWAS, S. A comprehensive review on Cd (II) removal from aqueous solution. **Journal of Water Process Engineering**, v. 2, p. 105-128, 2014.

QUEIROZ, H. M.; NÓBREGA, G. N.; FERREIRA, T. O.; ALMEIDA, L. S.; ROMERO, T. B.; SANTAELLA, S. T.; BERNARDINO, F. A.; OTERO, X. L. The Samarco mine tailing disaster: A possible time-bomb for heavy metals contamination? **Science of the Total Environment**, n. 637, p. 498-506, 2018.

QUINÁGLIA, G. A. **Caracterização dos níveis basais de concentração de metais nos sedimentos do sistema estuarino da Baixada Santista**. Tese (Doutorado) 239f. Instituto de Química, Universidade de São Paulo – USP, São Paulo, 2006.

RACE, M.; MAROTTA, R.; FABBRICINO, M.; PIROZZI, F.; ANDREOZZI, R.; CORTESE, L.; GIUDICIANNI, P. Copper and zinc removal from contaminated soils through soil washing process using ethylenediaminedisuccinic acid as a chelating agent: A modeling investigation. **Journal of Environmental Chemical Engineering**, v. 4, n. 3, p. 2878-2891, 2016.

RACE, M. Applicability of alkaline precipitation for the recovery of EDDS spent solution. **Journal of Environmental Management**, v. 203, p. 358-363, 2017.

RAND, G. M. **Fundamentals of aquatic toxicology: effects, environmental fate and risk assessment**. CRC Press, 1995, 912p.

RAND, G. M.; PETROCELLI, S. R. **Fundamentals of aquatic toxicology: methods and applications**, New York: Hemisfere, 1985. 665p.

REICE, S. R.; WOHLLENBERG, M. 1993. **Monitoring freshwater benthic macroinvertebrates and benthic process: measures for assessment of ecosystem health**. London: Chapman & Hall. 488p.

ROCHA, O.; NETO, A. J. G.; SANTOS LIMA, J. C.; FREITAS, E. C.; MIGUEL, M.; MANSANO, A. S.; DAAM, M. A. Sensitivities of three tropical indigenous freshwater invertebrates to single and mixture exposures of diuron and carbofuran and their commercial formulations. **Ecotoxicology**, p. 1-11, 2018.

ROCKWOOD, J. P.; JONES, D. S.; COLER, R. A. The effect of aluminum in soft water at low pH on oxygen consumption by the dragonfly *Libellula julia* Uhler. **Hydrobiology**, v. 190, p.55-59, 1990.

RUIZ, F.; ABAD, M.; BODERGAT, A. M.; CARBONEL, P.; RODRÍGUEZ-LÁZARO, J.; GONZÁLEZ REGALADO, M. L.; TOSCANO, A.; GARCÍA, E. X.; PRENDA, J. Freshwater ostracods as environmental tracers. **International Journal of Environmental Science and Technology**, 10, 1115–1128, 2013.

SANCHES, A. L. M.; DAAM, M. A.; FREITAS, E. C.; GODOY, A. A.; MEIRELES, G.; ALMEIDA, A. R.; ESPÍNDOLA, E. L. G. Lethal and sublethal toxicity of abamectin and difenoconazole (individually and in mixture) to early life stages of zebrafish. **Chemosphere**, v. 210, p. 531-538, 2018.

SANTOS, A. E.; CESAR, M. P. F. G.; BONADIO, S. L. Estudo de bacias hidrográficas urbanas como ferramenta para o planejamento territorial sustentável. In: GIOMETTI, A. B. R.; DAVID, C. M. **Um descortinar sobre o patrimônio e desenvolvimento sustentável, no século XXI** – Volume I. Curitiba: CRV, 2016.

SARIC; M.; LUCCHINI, R. Manganese. In: NORDBERG, G. F. (Eds.). **Handbook on the toxicology of metals**. p. 645-674, 2007.

SARKAR, B. **Heavy metals in the environment** (Ed.). New York: Marcel Dekker, 2002, 725p.

SATYRO, S.; RACE, M.; MAROTTA, R.; DEZOTTI, M.; GUIDA, M.; CLARIZIA, L. Photocatalytic processes assisted by artificial solar light for soil washing effluent treatment. **Environmental Science and Pollution Research**, v. 24, n. 7, p. 6353-6360, 2017.

SAUNDERS, D. L.; MEEUWIG, J. J.; VINCENT, A. C. J. Freshwater protected areas: strategies for conservation. **Conservation Biology**, v. 16, p. 30-41, 2002.

SCHROEDER, W. H.; MUNTHE, J. Atmospheric mercury - an overview. **Atmospheric Environment**, v. 32, n. 5, p. 809-822, 1998.

SHUHAIMI-OTHMAN, M.; YAKUB, N.; RAMLE, N. A.; ABAS, A. Toxicity of metals to a freshwater ostracod: *Stenocypris major*. **Journal of Toxicology**, v. 2011, p. 1-8, 2011.

SLOOF, W. Benthic macroinvertebrates and water quality assessment: some toxicological considerations. **Aquatic Toxicology**, v. 4, p. 73-82, 1983.

SOS MATA ATLÂNTICA. **O retrato da qualidade da água na bacia do rio Paraopeba após o rompimento da barragem Córrego do Feijão – Minas Gerais**. 2019. 43p.

STUEBEN, B. L.; CANTRELLE, B.; SNEDDON, J.; BECK, J. N. Manganese K-edge XANES studies of Mn speciation in Lac des Allemands as a function of depth. **Microchemical Journal**, v. 76, n. 1-2, p. 113-120, 2004.

SUN, F.; WEN, D.; KUANG, Y.; LI, J.; LI, J.; ZUO, W. Concentrations of heavy metals and polycyclic aromatic hydrocarbons in needles of Masson pine (*Pinus massoniana* L.) growing nearby different industrial sources. **Journal of Environmental Sciences**, v. 22, n. 7, p. 1006-1013, 2010.

THIT, A.; SELCK, H.; BJERREGAARD H. F. Toxicity of CuO nanoparticles and Cu ions to tight epithelial cells from *Xenopus laevis* (A6): Effects on proliferation, cell cycle progression and cell death. **Toxicology in Vitro**, v. 27, p.1596–1601, 2013.

TRUDEL, M.; RASMUSSEN, J. B. Modeling the elimination of mercury by fish. **Environmental Science & Technology**, v. 31, n. 6, p. 1716-1722, 1997.

TRUHAUT, R. Ecotoxicology: objectives, principles and perspectives. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 1, n. 2, p. 151-173, 1977.

TUNDISI, J.G.; MATSUMURA-TUNDISI, T. **Limnologia**. Oficina de Textos. 2008. 632 p.

ULLRICH, S. M.; TANTON, T. W.; ABDRAHITOVA, S. A. Mercury in the aquatic environment: a review of factors affecting methylation. **Critical Reviews in Environmental Science and Technology**, v. 31, n. 3, p. 241-293, 2001.

UNESCO - Organização das Nações Unidas para Educação, Ciência e Cultura. **Relatório mundial das Nações Unidas sobre desenvolvimento dos recursos hídricos: água para um mundo sustentável: sumário executivo**. Perugia, 2015. Disponível em: <http://www.unesco.org/new/fileadmin/MULTIMEDIA/HQ/SC/imagesWWDR2015ExecutiveSummary_POR_web.pdf>. Acesso em: 14/09/2018.

USEPA - United States Environmental Protection Agency. 2009. Disponível em: <http://water.epa.gov/drink/contaminants/basicinformation/cadmium.cfm>. Acesso em: 21/09/2018.

VALE, G.; EHENNAOUI, K.; CAMBIER, S.; LIBRALATO, G.; JOMINI, S.; DOMINGOS, R. F. Manufactured nanoparticles in the aquatic environment-biochemical responses on freshwater organisms: a critical overview. **Aquatic Toxicology**, v. 170, p. 162-174, 2016.

VALENTE-NETO, F.; DE OLIVEIRA ROQUE, F.; RODRIGUES, M. E.; JUAN, L.; SWAN, C. M. Toward a practical use of Neotropical odonates as bioindicators: testing congruence across taxonomic resolution and life stages. **Ecological Indicators**, 61, 952-959, 2016.

VAITSMAN, D. S.; AFONSO, J. C.; DUTRA, P. B. **Pra que serves os elementos químicos**. Rio de Janeiro: Interciência, 2001, 286p.

VATANDOOST, M.; NAGHIPOUR, D.; OMIDI, S.; ASHRAFI, S. D. Survey and mapping of heavy metals in groundwater resources around the region of the Anzali International Wetland; a dataset. **Data in Brief.**, v. 18, p. 463-469, 2018.

VEIGA, L. F.; VITAL, N. Testes de toxicidade aguda com o microcrustáceo *Artemia* sp. In: NASCIMENTO, I. A.; SOUSA, E. C. P. M.; NIPPER, M. (eds.). **Métodos em Ecotoxicologia Marinha**. Aplicações no Brasil. Ed. Artes Gráficas e Indústria Ltda, São Paulo, 2002, p. 111-112.

VIEIRA, M. C.; TORRONTERAS, R.; CÓRDOBA, F.; CANALEJO, A. Acute toxicity of manganese in goldfish *Carassius auratus* is associated with oxidative stress and organ specific antioxidant responses. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 78, p. 212-217, 2012.

VIGNOLA, F.; BORGES, D. L.; CURTIUS, A. J.; WELZ, B.; BECKER-ROSS, H. Simultaneous determination of Cd and Fe in sewage sludge by high-resolution continuum source electrothermal atomic absorption spectrometry with slurry sampling. **Microchemical Journal**, v. 95, n. 2, p. 333-336, 2010.

WANG, H.; ENGSTROM, A. K.; XIA, Z. Cadmium impairs the survival and proliferation of cultured adult subventricular neural stem cells through activation of the JNK and p38 MAP kinases. **Toxicology**, v. 380, p. 30-37, 2017.

WAYLAND, M.; CROSLEY, R. Selenium and other trace elements in aquatic insects in coalmine-affected streams in the Rocky Mountains of Alberta, Canada. **Archives of Environmental Contamination and Toxicology**, v. 50, n. 4, p. 511-522, 2006.

WETZEL, R. G. **Limnologia**. Lisboa, Fundação Calouste Gulbenkian. 1993. 696p.

WHO – World Health Organization. **Cadmium: environmental aspects?** Geneva: WHO, 1992, 156p.

WILLIAMS, M.; TODD, G. D.; RONEY, N.; CRAWFORD, J.; COLES, C.; MCCLURE, P. R.; CITRA, M. **Toxicological Profile for Manganese (Atlanta, GA)**: Agency for Toxic Substances and Disease Registry (ATSDR), 2012.

WINTER, M. **Web Elements, the periodic table**. The University of Sheffield, UK. 2009. Disponível em: <<http://www.webelements.com>>. Acesso em: 26/09/2018.

WONG, C. S. C; LI, X.; THORNTON, I. Urban environmental geochemistry of trace metals. **Environmental Pollution**, v. 142, n. 1, p. 1-16, 2006.

WOJTKOWSKA, M.; BOGACKI, J.; WITESKA, A. Assessment of the hazard posed by metal forms in water and sediments. **Science of the Total Environment**, v. 551-552, p. 387–392, 2016.

YRUELA, I. Copper in plants. **Brazilian Journal of Plant Physiology.**, v. 17, n. 1, p. 145-156, 2005.

ZAGATTO, P. A. Avaliação de risco e do potencial de periculosidade ambiental de agentes químicos para o ambiente aquático. In: ZAGATTO, P. A.; BERTOLETTI, E. **Ecotoxicologia Aquática: princípios e aplicações**. São Carlos: Rima, 2006a. Cap. 16, p. 383-411.

ZAGATTO, P. A. E BERTOLETTI, E. **Ecotoxicologia Aquática - Princípios e Aplicações**. Editora Rima, São Carlos, 2006, 478p.

ZHANG, H.; SUN, R.; XU, W.; ZHOU, H.; ZHANG, W.; MAI, K. Dietary manganese requirement of juvenile large yellow croaker *Larimichthys crocea* (Richardson, 1846). **Aquaculture**, v. 450, p. 74-79, 2016.

ZHU, J. Y.; CHAN, K. M. Mechanism of cadmium-induced cytotoxicity on the ZFL zebrafish liver cell line. **Metallomics**, v. 4, p. 1064–1076, 2012.

Capítulo 1

Toxicidade aguda dos metais cobre, cádmio, mercúrio e manganês para três invertebrados aquáticos bentônicos: *Tamea cophysa* (Insecta, Odonata), *Chlamydotheca* sp. e *Strandesia trispinosa* (Crustacea, Ostracoda)

Resumo

Estudos de toxicidade de metais para espécies de invertebrados de águas doces nos neotrópicos são ainda insuficientes. A sensibilidade de vários grupos de invertebrados de é pouco conhecida ou inexistente, como é o caso para as ninfas de libélulas e os ostrácodes. O objetivo do presente estudo foi avaliar a toxicidade aguda de quatro metais (cádmio, cobre, manganês e mercúrio) para as espécies de invertebrados aquáticos *Tamea cophysa* (libélula), *Chlamydotheca* sp. e *Strandesia trispinosa* (ostrácodes). Dados de toxicidade de outros invertebrados (de regiões temperadas e tropicais) foram compilados para permitir a comparação da sensibilidade destes com as três espécies-testadas. O manganês foi o metal menos tóxico dentre os quatro metais testados, o que pode ser devido a uma possível transferência de metal para a cutícula das espécies-teste. *T. cophysa* e *Chlamydotheca* sp. foram em geral mais tolerantes e *S. trispinosa* mais sensível aos metais testados, quando comparados a outros invertebrados. No geral, concluiu-se que as espécies-teste são organismos adequados para avaliações de toxicidade.

Palavras-chave: Metais, Organismos tropicais, Ecotoxicologia, Distribuição da sensibilidade de espécies.

Abstract

Studies on the toxicity of metals to freshwater invertebrate species in the neotropics are relatively rare. The sensitivity of several groups of invertebrates is not well known or non-existent as is the case of dragonflies and ostracodes. The aim of the present study was therefore to evaluate the acute toxicity of four metals (cadmium, copper, manganese and mercury) to the Aquatic invertebrates *Tamea cophysa*, *Chlamydotheca* sp. and *Strandesia trispinosa*. Toxicity data for other invertebrates were also mined to allow comparing the sensitivity of the three test species with that of other (temperate and tropical) invertebrates. Manganese was the least toxic metal tested, which is hypothesized to be due to a possible metal transfer to the cuticle of the moulting test species. *T. cophysa* and *Chlamydotheca* sp. were generally more tolerant and *S. trispinosa* more sensitive to the tested metals when compared to other invertebrates. Overall, it was concluded that the test species are suitable test organisms for tropical toxicity evaluations.

Keywords: Metals, Tropical organisms, Ecotoxicology; Species sensitivity distributions.

1 INTRODUÇÃO

Nas últimas décadas, grandes alterações em diferentes graus e escalas têm ocorrido nos ecossistemas aquáticos em todo o mundo (FORNO, 1999). Esses ecossistemas acabam se tornando reservatórios temporários ou finais de diversos poluentes lançados diretamente neles ou então lançados no ar e no solo (MEYBECK; HELMER, 1992). Desta forma, a poluição ambiental, a qual está diretamente relacionada com a diminuição da qualidade da água, influencia negativamente as comunidades aquáticas, tornando-as expostas a diversas combinações de contaminantes (CARVALHO et al., 2018).

De forma natural, todos os organismos vivos requerem quantidades variadas de alguns metais para o desempenho de suas atividades metabólicas (ROSABAL et al., 2015), que podem atuar como elementos estruturais, estabilizadores de estruturas biológicas, componentes de mecanismos de controle, como nervos e músculos ou, em particular, ativadores ou componentes de sistemas redox (NORDBERG et al., 2007). Contudo, já foi demonstrado que tanto os metais essenciais como os não essenciais afetam adversamente os parâmetros do ciclo de vida de muitos invertebrados de água doce, particularmente aqueles relacionados ao crescimento e à reprodução, mesmo em baixas concentrações (TIMMERMANS, 1993; WU et al., 2016).

Os metais essenciais manganês e cobre, e os metais não essenciais cádmio e mercúrio são contaminantes comuns que entram no ambiente aquático a partir de fontes naturais, bem como através da atividade humana, como por exemplo, efluentes industriais, escoamento agrícola e atividades de mineração (LESCH; BOUWMAN, 2016; HUDSPITH; REICHELT-BRUSHETT; HARRISON, 2017). Estima-se que a liberação anual total de cobre, cádmio e mercúrio nos sistemas aquáticos continentais seja da ordem de 0,3 a 1,0 milhão de toneladas (SCHWARZENBACH, 2006).

Esse fluxo contínuo de metais para ambientes aquáticos cria uma ameaça potencial aos ecossistemas naturais devido à sua ação direta sobre a fisiologia dos organismos (BILA; DEZOTTI, 2007). A não-degradabilidade dos metais aliada a alta biodisponibilidade tornam os organismos aquáticos especialmente suscetíveis e fazem com que os metais tenham grande possibilidade de ser bioacumulados através da cadeia alimentar (BALISTRIERI; MEBANE, 2014; WU et al., 2016; YUAN et al., 2017).

Bioensaios laboratoriais com invertebrados para avaliações de risco em ecossistemas aquáticos utilizando organismos dos primeiros níveis da cadeia alimentar têm sido tradicionalmente conduzidos com o crustáceo *Daphnia* spp. e larvas de Diptera *Chironomus* spp. (por exemplo, EFSA, 2013). As avaliações em níveis mais altos, por exemplo, a

distribuições de sensibilidade, também incluem dados de toxicidade de outros taxa de invertebrados, embora a disponibilidade de dados para vários grupos taxonômicos seja limitada. Por exemplo, libélulas (Anisoptera) e libelulinhas (Zygoptera), ambas pertencentes à ordem dos insetos predadores Odonata, têm sido consideradas bons indicadores de poluição por metais (SILVA; DE MARCO; REZENDE, 2010; NASIRIAN; IRVINE, 2017). Os ostrácodes são organismos de reconhecida importância funcional nas redes alimentares aquáticas e são igualmente, ou mais sensíveis, a diversos compostos químicos, em comparação com outros invertebrados (DAAM et al., 2013; RUIZ et al., 2013; SHUHAIMI-OTHMAN et al., 2011, ROCHA et al., 2018). A sensibilidade de Odonata e Ostracoda, no entanto, foi pouco testada em testes de toxicidade laboratorial (SHUHAIMI-OTHMAN et al., 2011; RUIZ et al., 2013; GŁADYSZ et al., 2016; LESCH; BOUWMAN, 2018).

Além de uma distribuição desigual dos dados de toxicidade em termos de grupos taxonômicos, relativamente poucos dados de toxicidade estão disponíveis para os taxa de regiões tropicais quando comparados os de regiões temperadas (ex. MOREIRA et al., 2017; ROCHA et al., 2018). Na ausência de dados de toxicidade com espécies tropicais, dados de toxicidade com espécies de clima temperado têm sido frequentemente utilizados em avaliações de risco tropical (DAAM; RICO, 2016; MOREIRA et al., 2017). Dada a enorme variabilidade natural na estrutura taxonômica e no funcionamento das comunidades de água doce nessas regiões climaticamente distintas, isso pode ser pelo menos ser questionável (DAAM; VAN DEN BRINK, 2010; DORNFELD et al., 2018). Os Odonata e os Ostracoda, respectivamente pertencentes às famílias Libellulidae e Cyprididae, foram, por exemplo, relatados tendo maior diversidade em áreas tropicais do que em áreas temperadas (KALKMAN et al., 2008; MARTENS et al., 2008). Isso determina que a possibilidade de ter representantes sensíveis desses grupos taxonômicos em áreas tropicais também seja maior.

O objetivo do presente estudo foi avaliar a sensibilidade da libélula tropical *Tramea cophysa* Hagen, 1867 (Libellulidae, Anisoptera, Odonata) e dos ostrácodes tropicais *Chlamydotheca* sp. Saussure, 1858 (Cyprididae, Ostracoda) e *Strandesia trispinosa* (Pinto e Purper, 1965; Cyprididae, Ostracoda) a quatro metais, esperando-se que essas espécies nativas apresentem sensibilidade equivalente ou menor do que espécies mundialmente utilizadas em testes ecotoxicológicos e com protocolos padronizados. Para este fim, foram realizados testes de toxicidade aguda em laboratório para avaliar a sensibilidade destes organismos ao sulfato de cobre (CuSO₄), manganês sulfato (MnSO₄), cloreto de cádmio (CdCl₂) e cloreto de mercúrio (HgCl₂).

2 MATERIAL E MÉTODOS

2.1 Organismos-teste e condições de cultura

Os espécimes de *Tamea cophysa* foram coletados na lagoa Mayaca localizada no campus da UFSCar, inserido em uma área de preservação permanente com vegetação de cerrado (ALBUQUERQUE, 1990). O ostrácodo *Strandesia trispinosa* foi coletado em tanques de concreto da Estação Experimental do Departamento de Ecologia e Biologia Evolutiva da UFSCar, SP e os indivíduos de *Chlamydotheca* sp. foram cultivados em tanques de 3000 litros na Estação Experimental de Aquicultura do Departamento de Hidrobiologia da Universidade Federal de São Carlos (Apêndices A, B e C). Em laboratório foram mantidos em bandejas plásticas (34 cm de comprimento x 29 cm de largura x 6,7 cm de altura) para aclimação às condições dos testes durante sete dias sob fotoperíodo de 16h luz: 8h escuro em temperatura de 25 °C (± 1 °C). Como alimento utilizaram-se larvas de *Chironomus inquinatus* e náuplios de *Artemia franciscana* para *Tamea cophysa*, folhas de *Eucalyptus* em decomposição para *Strandesia trispinosa* e suspensão de *Chlorella sorokiniana* ($\approx 10^8$ cells L⁻¹) para *Chlamydotheca* sp. Os tamanhos médios dos organismos utilizados nos testes foram: 1,44 mm $\pm$ 0,68 mm para *T. cophysa*; 3,93 $\pm$ 0,33 mm para *Chlamydotheca* sp. e 0,9 $\pm$ 0,09 mm para *S. trispinosa*.

A água reconstituída foi preparada conforme descrito em um protocolo para cladóceros tropicais (ABNT, 2016) e um protocolo da OCDE para testes com oligoquetos bentônicos (OECD, 2008). A adequação a essas condições de qualidade da água, bem como às condições de alimentação se mostraram adequadas para a manutenção dessas espécies em laboratório.

2.2 Testes de toxicidade aguda

As faixas de sensibilidade das espécies estudadas foram determinadas por meio de testes de toxicidade aguda com o sulfato de cobre (CuSO₄; CAS no: 7758-98-8; marca Dinâmica), que é frequentemente usado como composto de referência (por exemplo, ABNT, 2016; OECD, 2008). No presente estudo, vinte testes definitivos de toxicidade aguda foram inicialmente realizados com sulfato de cobre para determinar a sensibilidade de cada espécie a este metal. Estas informações foram usadas para verificar a condição fisiológica dos organismos cultivados ou coletados em campo, antes de submetê-los a testes de toxicidade. A solução-estoque do

sulfato de cobre foi preparada na concentração de 10 mg L⁻¹ imediatamente antes do uso nos experimentos, e a partir desta foram preparadas as diluições.

Além dos testes para obtenção da faixa de sensibilidade das espécies estudadas ao sulfato de cobre também foram realizados testes com os compostos sulfato de manganês (MnSO₄; CAS no: 1034-96-5; marca Carlo Erba Reagents), com o cloreto de cádmio (CdCl₂; CAS no: 35658-65-2; marca Carlo Erba Reagents) e com o cloreto de mercúrio (HgCl₂; CAS no: 7487-94-7; marca Merck). Para cada composto foi avaliada uma série de cinco ou seis concentrações, as quais foram baseadas em testes preliminares, além de um controle não tratado contendo apenas água reconstituída (Tabela 1).

Nos testes de toxicidade com as duas espécies de ostrácodes, quatro repetições foram estabelecidas por concentração, com cinco indivíduos cada. Para *T. cophysa* também foram usadas quatro repetições, contudo apenas um indivíduo foi usado por réplica devido ao tamanho populacional limitado desta espécie no pequeno lago natural (Mayaca) em que foi coletada e devido ao fato de um indivíduo de *T. cophysa* preda o outro quando juntos e sem alimentação (observação pessoal). Cada réplica consistia em um recipiente de plástico (Apêndice D) contendo 10 ml de solução-teste e uma ninfa de libélula. Os experimentos foram realizados em temperatura controlada de 25 ± 1 °C, no escuro, e os animais não foram alimentados durante os testes, os quais tiveram duração de 48 horas. No início e no final dos testes, foram medidos o pH, a condutividade elétrica e a temperatura das soluções-teste. A dureza das soluções-teste foi medida com o método de titulação (MACKERETH, HARON E TALLING, 1978) apenas no início dos testes devido ao baixo volume da solução de tratamento para a titulometria (50 mL). Após os valores de CL₅₀ (concentração letal mediana) e os seus intervalos de confiança de 95% foram calculados usando o programa estatístico PriProbit 1.63. Os organismos foram considerados mortos quando imóveis e com mandíbula distendida (para os odonatas) e permanência sem nenhuma reação após toque físico, em verificação visual sob estereomicroscópio. Os valores de CL_{50-48h} foram calculados com base nas concentrações nominais, conforme sugerido pela ISO (2000).

Tabela 1 - Concentrações nominais das soluções-teste (em $\mu\text{g L}^{-1}$) dos compostos de sulfato de cobre (CuSO_4), cloreto de cádmio (CdCl_2), cloreto de mercúrio (HgCl_2) e sulfato de manganês (MnSO_4) cuja toxicidade aguda foi avaliada após 48h para as três espécies de invertebrados tropicais. Em todos os testes, um tratamento controle (concentração de metal = $0,0 \mu\text{g L}^{-1}$) foi incluído.

Espécies	CuSO_4 ($\mu\text{g L}^{-1}$)	CdCl_2 ($\mu\text{g L}^{-1}$)	HgCl_2 ($\mu\text{g L}^{-1}$)	MnSO_4 ($\mu\text{g L}^{-1}$)
<i>Tramea cophysa</i>	300; 600; 900;	300; 600; 900;	125; 250; 500;	250000; 275000; 300000;
	1200; 1500; 1800	1200; 1500; 1800	1000; 2000; 4000	325000; 350000; 400000
<i>Chlamydotheca</i> sp.	200; 300; 400;	5; 10; 50;	100; 250; 500;	40000; 42000; 44000;
	500; 600; 700	100; 150; 200	1000; 2000; 4000	46000; 48000; 50000
<i>Strandesia trispinosa</i>	25; 50; 100;	3,12; 6,25;	1,56; 3,12;	500; 1000;
	200; 400; 800	12,5; 25; 50	6,25; 12,5; 25	2000; 4000; 8000

2.3 Distribuição da sensibilidade das espécies

Para permitir a comparação da sensibilidade de *T. cophysa*, *Chlamydotheca* sp. e *S. trispinosa* com a de outros invertebrados aquáticos, as curvas de distribuição de sensibilidade das espécies (DSEs) foram construídas para os quatro metais selecionados. Para este fim, os dados de toxicidade gerados no presente estudo foram complementados com dados de toxicidade agudas de CL_{50-48} de outros invertebrados, que foram obtidos do banco de dados US EPA ECOTOX (<http://cfpub.epa.gov/ecotox/>) e complementados com dados da literatura aberta. Foram incluídos apenas dados de toxicidade aguda obtidos em laboratório para organismos aquáticos, que puderam ser confirmados nos artigos publicados e que respeitaram os critérios de seleção. Se mais de um valor de toxicidade estivesse disponível para uma espécie, a média geométrica foi calculada e usada para evitar a super-representação de espécies frequentemente testadas.

As DSEs foram construídas com o programa ETX, versão 2.0 (VAN VLAARDINGEN et al., 2004). O HC_5 (concentração de perigo para 5% das espécies) e o HC_{50} (concentração de perigo para 50% das espécies) e seus limites de confiança também foram determinados com este software com base na metodologia delineada por Aldenberg e Jaworska (2000). Como uma distribuição log-normal dos dados é assumida neste programa, a log-normalidade foi avaliada com o teste de Anderson-Darling incluído no pacote do software ETX, no nível de significância de 5%.

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1 Variáveis físicas e químicas das soluções-teste

As variáveis físicas e químicas permaneceram estáveis ao longo dos testes e similares para as três espécies, com valores médios variando entre: pH = 7,4 - 7,7; condutividade elétrica = 586 - 639 ($\mu\text{S cm}^{-1}$); temperatura = 23 - 24 °C e dureza = 187 - 189 mg $\text{CaCO}_3 \text{ L}^{-1}$ (Tabela 2). As porcentagens de sobrevivência observadas nos tratamentos controles foram superiores a 90% ao final de todos os testes.

Tabela 2 - Valores médios e respectivos desvios-padrão para variáveis físicas e químicas (média $\pm$ DP) medidas no início e no final dos experimentos com a ninfa da libélula *Tamea cophysa* e os ostrácodes *Chlamydotheca* sp. e *Strandesia trispinosa*.

Parâmetros	Espécies		
	<i>Tamea cophysa</i>	<i>Chlamydotheca</i> sp.	<i>Strandesia trispinosa</i>
pH – Inicial	7,7 $\pm$ 0,26	7,6 $\pm$ 0,25	7,5 $\pm$ 0,24
pH – Final	7,6 $\pm$ 0,29	7,5 $\pm$ 0,25	7,4 $\pm$ 0,18
EC – ($\mu\text{S cm}^{-1}$) Inicial	639 $\pm$ 96	586 $\pm$ 132	606 $\pm$ 117
EC – ($\mu\text{S cm}^{-1}$) Final	628 $\pm$ 94	592 $\pm$ 124	602 $\pm$ 75
T – (°C) Inicial	23 $\pm$ 0,92	23 $\pm$ 2,2	23 $\pm$ 1,6
T – (°C) Final	23 $\pm$ 0,95	23 $\pm$ 2,4	24 $\pm$ 1,3
Dureza (mg $\text{CaCO}_3 \text{ L}^{-1}$) Inicial	187 $\pm$ 8,7	189 $\pm$ 9,3	188 $\pm$ 8,9

3.2 Faixa de sensibilidade das espécies e resultados dos testes de toxicidade aguda

As variações nos valores de CL_{50-48} gerados nos vinte testes com sulfato de cobre são apresentados na Figura 1, enquanto o valor médio e limites de confiança de 95% da CL_{50} são relacionados na Tabela 3. Com base na pesquisa bibliográfica realizada, a toxicidade do sulfato de cobre para *T. cophysa* e *Chlamydotheca* sp. nunca foi avaliada antes. Para *S. trispinosa*, Rocha et al. (2018) estabeleceram um $\text{CE}_{50-48\text{h}}$ de 755 $\mu\text{g L}^{-1}$, o que é próximo ao o valor médio indicado no presente estudo (750 $\mu\text{g L}^{-1}$; Tabela 3). Para se obter uma melhor indicação da variação nos vinte valores de CL_{50-48} , a distribuição destes valores de toxicidade foi calculada para cada uma das três espécies-teste tomando-se a razão dos limites superior e inferior do IC 95% (cf. Brock et. al., 2008). Os valores resultantes foram 1,7 (*Chlamydotheca* sp.), 1,8 (*T. cophysa*) e 2,4 (*S. trispinosa*). Estas razões são bastante baixas em comparação com as reportadas para outras substâncias de referência. Por exemplo, a dispersão na faixa aceitável da

substância de referência dicromato de potássio para *Daphnia* sp. foi 3,5 (variação: 0,6 - 2,1 mg L⁻¹; OECD, 2004). Para *Chironomus* spp, os correspondentes valores de dispersão baseados nas faixas de referência para cloreto de potássio e 3,5-diclorofenol na OCDE (2011) foram 3,5 e 7,2, respectivamente. Embora se reconheça que o intervalo obtido no presente estudo ainda não abranja a variação interlaboratorial, os intervalos de toxicidade do sulfato de cobre apresentados na Tabela 3 podem servir como valores de referência iniciais para as três espécies selecionadas.

Figura 1. Faixas de sensibilidade das espécies nativas tropicais de Odonata (A) *Tramea cophisa* e dos ostrácodes (B) *Chlamydoteca* sp. e (C) *Strandesia trispinosa* ao composto de referência sulfato de cobre (CuSO₄) como indicado nos 20 testes de toxicidade aguda realizados com cada espécie. Os limites superior e inferior dos intervalos de confiança de 95% também são indicados nas figuras.

Em relação à toxicidade aguda, verificou-se que para *Tramea cophysa* o sulfato de cobre foi mais tóxico do que os outros compostos metálicos testados (Tabela 3). A maior mortalidade desta espécie por exposição ao cobre pode estar associada à capacidade dos insetos aquáticos em bioacumular mais facilmente o cobre devido à proteína metalotioneína se ligar a esse metal, como sugerido por Maroni e Watson (1985) para *Drosophila melanogaster* (Diptera; Drosophilidae) e por Suzuki, Sunaga e Aoki (1988) para *Baetis thermicus* (Ephemeroptera; Baetidae). No entanto, a presença desta proteína em Odonata ainda permanece desconhecida (TOLLETT et al., 2009).

Os resultados do presente estudo assemelham-se àqueles obtidos para as larvas de insetos aquáticos *Lycorias Acroneuria* (Plecoptera), *Ephemerella subvaria* (Ephemeroptera) e *Hydropsyche betteni* (Tricoptera) que foram mais sensíveis ao cobre em relação ao cádmio e ao chumbo (WARNICK; BELL, 1969). Milani et al. (2003) também constataram maior sensibilidade ao cobre, em comparação com o cádmio, para as ninfas do Ephemeroptera *Hexagenia* sp. e Nehring (1976) observou que larvas de plecópteros (*Pteronarcys californica*) e de efemerópteros (*Ephemerella grandis*), da mesma forma, foram mais sensíveis ao cobre do que ao zinco, à prata e ao chumbo. De acordo com Kiffney e Clements (1993), alterações significativas ocorreram em comunidades de invertebrados aquáticos expostas a altas concentrações de cobre e Oliveira et al. (2018) observaram alterações comportamentais e redução no peso do peixe *Carassius auratus* expostos durante 24h a esse metal. Abel (1989) ressalta que o cobre juntamente com o cádmio e o mercúrio são os metais mais tóxicos aos organismos aquáticos.

A toxicidade alta do cobre também foi verificada para a anêmona *Aiptasia pulchella* (HOWE; REICHEL-T-BRUSHETT; CLARK, 2014) em comparação com o cádmio, o níquel e o zinco, nas quais altas concentrações de cobre inibiram o crescimento destas por interromperem a fotossíntese realizada pelas algas simbióticas, a respiração, a produção de adenosina trifosfato (ATP) e a síntese de pigmentos (FRANKLIN et al., 2002). Por outro lado, os ostrácodos *Chlamydotheca* sp. e *S. trispinosa* foram mais sensíveis ao cloreto de cádmio do que aos outros compostos metálicos testados, assim como observado por Anderson, Walbridge e Fiandt (1980) para o quironomídeo *Tanytarsus dissimilis*, por Rayms-Keller et al. (1998) para o culicídeo *Aedes aegypti* e por Chapman et al. (1999) para os oligoquetos *Tubifex tubifex* e *Lumbriculus variegatus*, em comparação ao cobre e por Milani et al. (2003) para o anfípodo *Hyaella* sp. em comparação com o cobre e ao níquel.

Carvalho et al. (2018) avaliaram a toxicidade crônica do cádmio para o cladóceros *Ceriodaphnia dubia* e comprovaram que ocorreu redução no desempenho reprodutivo, por duas

gerações, mesmo em concentrações relativamente baixas. Santos et al. (2012) concluíram que esse metal, juntamente com o mercúrio, o chumbo e o arsênio são potencialmente tóxicos e considerados uns dos mais perigosos poluentes aquáticos. Postma, Kyed e Admiraal (1995) relatam que o cádmio, em altas concentrações no ambiente aquático, pode causar alterações no crescimento de algumas espécies de insetos como as larvas de *Chironomus riparius*. Segundo Jackson (2002), o cádmio é mais tóxico para os organismos aquáticos em águas moles (20 – 130 mg CaCO₃/L) do que em águas duras (130 – 300 mg CaCO₃/L) devido ao antagonismo entre a absorção de cálcio ou de magnésio. Kozlova, Wood e McGeer (2009) afirmam que a toxicidade dos íons metálicos diminui em águas duras por causa da competição entre o metal e os íons Ca²⁺ e Mg²⁺ nos locais-alvo de absorção nos organismos. Penttinen, Kostamo e Kukkonen (1998) concluíram que o cálcio e o magnésio competem com os metais, bloqueando seu acesso aos organismos aquáticos. Assim, a dureza do meio é um fator importante a ser considerado em relação aos efeitos tóxicos dos metais sobre os organismos-teste. No presente estudo, o cádmio foi altamente tóxico para as três espécies selecionadas, em águas duras (187 – 189 mg CaCO₃ L⁻¹).

O sulfato de manganês foi o menos tóxico dentre os compostos testados nesse estudo. A menor toxicidade desse metal comparado ao mercúrio e ao cádmio foi observado em testes de toxicidade aguda realizados com o quironomídeo *Tendipes* sp. (RAO; SAXENA, 1981). Do mesmo modo, menor toxicidade desse metal foi constatada para *Labeo rohita* (Cypriniformes, Cyprinidae) comparado ao ferro, chumbo, zinco e níquel (ABDULLAH; JAVED; JAVID, 2007). Parece relativamente estabelecida a concordância de que o sulfato de manganês tem toxicidade moderada aos organismos aquáticos (KEMPSTER; HATTINGH; VAN VLIET, 1982) e Dittman e Buchwalter (2010) consideram que a alta resistência dos invertebrados ao manganês está relacionada com a ecdise, como averiguado por Cid et al. (2010) para o díptero *Ephoron virgo*, no qual foi observada uma perda considerável de manganês após a liberação da exúvia. Este fato é corroborado por Steenkamp et al. (1994) que verificaram o sequestro de manganês no exoesqueleto (partes calcificadas do corpo) de crustáceos, os quais perderam uma quantidade substancial do manganês acumulado durante o processo de muda. Segundo Schofield et al., (2003) o manganês absorvido pode ser transferido através do ectoderma para a cutícula, podendo esse processo atuar como um mecanismo de desintoxicação ou ser um meio para endurecer ou fortalecer a cutícula e as estruturas cuticulares, tais como as mandíbulas.

Contudo, a perda do manganês na ecdise não é total e esse metal ainda pode ser bioacumulado (BUCHWALTER et al., 2007). Embora pouco tóxico, como relatado por Stubblefield et al. (1997) para *Eisenia fetida* e *Enchytraeus crypticus* (Oligochaeta), Félix et al.

(2018) demonstram que o manganês pode ocasionar diversos problemas nos sistemas sensoriais e motores de *Drosophila melanogaster*, como a perda de sensibilidade às mudanças de temperatura e também problemas locomotores.

Tabela 3 - Valores médios de CL_{50-48} e respectivos intervalos de confiança de 95% (em $\mu\text{g L}^{-1}$) para os compostos sulfato de cobre (CuSO_4), cloreto de cádmio (CdCl_2), cloreto de mercúrio (HgCl_2) e sulfato de manganês (MnSO_4) obtidos em testes de toxicidade aguda para as ninfas da libélula *Tamea cophisa*, e os ostrácodos *Chlamydotheca* sp. e *Strandesia trispinosa*.

Composto	Média/Intervalo de Confiança (CL_{50-48h} $\mu\text{g L}^{-1}$)		
	<i>Tamea cophisa</i>	<i>Chlamydotheca</i> sp	<i>S. trispinosa</i>
CuSO_4	611,48 (439,89 - 782,73)	378,31 (277,06 - 479,55)	749,77 (442,65 - 1056,89)
CdCl_2	844,58 (421,9 - 1267,26)	72,95 (47,51 - 98,38)	12,12 (8,75 - 15,49)
HgCl_2	845,53 (398,82 - 1292,24)	748,55 (367,81 - 1129,31)	27,39 (-1,07 - 55,84)
MnSO_4	323058,4 (277248,6 - 368868,2)	48019,48 (47064,56 - 48974,39)	4519,75 (1965,82 - 7073,68)

3.3 Distribuição da sensibilidade das espécies (DSE)

Na análise da DSE, a incerteza dos resultados fornecidos é altamente dependente do número de espécies testadas para gerar as curvas e quanto mais espécies comparadas, menos contestáveis serão os resultados (PENNINGTON, 2003). Neste caso, as DSEs construídas foram baseadas nos valores das CL_{50-48h} utilizando 18 espécies para o CuSO_4 , 19 espécies para o CdCl_2 , 19 espécies para o HgCl_2 e 15 espécies para o MnSO_4 .

A análise das curvas DSEs nos permite inferir que, para o sulfato de cobre (Figura 2A), as três espécies selecionadas (*Tamea cophisa*, *Chlamydotheca* sp. e *Strandesia trispinosa*) apresentaram sensibilidade intermediária quando comparadas com outros invertebrados aquáticos, sendo que *Chlamydotheca* sp. teve uma maior sensibilidade ao cobre com valores de CL_{50} próximos ao valor médio de CL_{50} obtido para *Daphnia laevis*, um organismo-teste amplamente usado para ensaios ecotoxicológicos em regiões tropicais (FORAN; GERMUSKA; DELFINO, 1985; SARMA; PEREDO-ALVAREZ; NANDINI, 2007; RESTANI; FONSECA, 2014; ROCHA et al., 2016; KEPPELER; DE MELO PLESE; VIEIRA, 2016).

As três espécies utilizadas no presente estudo foram altamente sensíveis quando comparadas aos quironomídeos de regiões temperadas, *Chironomus tentans* e *Chironomus riparius*, espécies também muito utilizadas em testes de toxicidade (ANDERSON; ZHU, 2004; MEHLER; SCHULER; LYDY, 2008; WAISSI-LEINONE et al., 2012). Os valores de CL_{50} do cobre para as espécies selecionadas foram também próximos aos reportados na literatura para

espécies de outros táxons comumente utilizadas em estudos de toxicidade dos metais, como os Oligochaeta *Lumbriculus variegatus* e *Limnodrilus hoffmeisteri* (USEPA, 2000; OECD, 2008).

As espécies de Ostracoda investigadas nesse estudo (*Chlamydotheca* sp. e *S. trispinosa*) foram mais sensíveis ao sulfato de cobre do que as espécies deste grupo pertencentes a regiões temperadas (*Cypris subglobosa* e *Diacypris compacta*). Estas duas espécies, no entanto, foram consideravelmente menos sensíveis do que *Stenocypris major* (SHUHAIMI-OTHMAN et al., 2011), um ostrácodo também nativo de regiões temperadas.

Strandesia trispinosa foi altamente sensível ao cloreto de cádmio quando comparada a outras espécies, sendo apenas menos sensível do que *Hydra viridissima* (Figura 2B). Similarmente, *Chlamydotheca* sp. foi bastante sensível a este composto, para o qual a CL_{50-48} foi $72,95 \mu\text{g L}^{-1}$, valor próximo aos obtidos para os cladóceros *Ceriodaphnia dubia* e *Daphnia magna*, espécies consideradas muito sensíveis ao cloreto de cádmio (NADDY; COHEN; STUBBLEFIELD, 2015; OKAMOTO; YAMAMURO; TATARAZAKO, 2015). *Strandesia trispinosa* foi também mais sensível ao cloreto de cádmio do que outras espécies de ostrácodos pertencentes a regiões temperadas (*Stenocypris major*, *Cypridopsis* sp., *Cypris* sp. e *Cypris subglobosa*), assim como *Chlamydotheca* sp. que foi mais sensível do que as três últimas espécies de ostrácodos citadas. Por outro lado, as ninfas da libélula *T. cophisa* foram resistentes ao cloreto de cádmio, ficando posicionada na curva de sensibilidade próxima a espécies resistentes, tais como *Tubifex tubifex*, *Melanoides tuberculata* e *Chironomus tentans* (Figura 2B).

Assim como para o cloreto de cádmio, *Strandesia trispinosa* foi uma das espécies mais sensíveis ao cloreto de mercúrio (Figura 2C), com sensibilidade próxima à de espécies como *Daphnia magna*, *Ceriodaphnia dubia* e *Daphnia similis* que são considerados os organismos-teste mais sensíveis e amplamente utilizados em testes ecotoxicológicos (BUKEMA; GEIGER; LEE, 1980; MAYER; EUERSIECK, 1986). Esta espécie também foi mais sensível ao cloreto de mercúrio do que as espécies de ostrácodos *Cypris* sp. e *Cypris subglobosa* (nativas de regiões temperadas). As ninfas da Odonata *Tamea cophisa* e o ostrácodo *Chlamydotheca* sp. ficaram em uma posição intermediária na curva, sendo mais sensíveis do que *Chironomus* sp., *C. tentans* e *C. plumosus* e mais resistentes do que *Chironomus riparius* e *Limnodrilus hoffmeisteri*. De acordo com Verdonschot (1989), *Limnodrilus hoffmeisteri* pode ser considerada a espécie mais tolerante à poluição dentre outras espécies de Oligochaeta e alguns estudos apontam que espécies do gênero *Chironomus* sp. (Diptera, Chironomidae) podem ser consideradas como alguns dos táxons mais tolerantes aos contaminantes (TRIVINHO-

STRIXINO; STRIXINO, 1995; ADRIANSENS et al., 2004; SIMIÃO-FERREIRA et al., 2009).

O ostrácode *Strandesia trispinosa* foi bastante sensível ao sulfato de manganês (Figura 2D), quando comparado a outras espécies, sendo inclusive mais sensível do que os dafnídeos *Daphnia magna*, *Daphnia obtusa* e *Ceriodaphnia dubia*. No entanto, *S. trispinosa* foi menos sensível do que o ostrácode *Stenocypris major*, uma espécie pertencente a regiões temperadas. *Chlamydotheca* sp. e *Tremea cophisa* foram bastante resistentes ao sulfato de manganês, estando posicionadas próximo a *Melanoides tuberculata* (Mollusca, Gastropoda) e a *Tubifex tubifex* (Annelida) na curva de sensibilidade. Dentre as espécies comparadas, *Tremea cophisa* foi apenas mais sensível que *Tympanotonus fuscatus* (Gastropoda, Potamididae). Os valores das concentrações de perigo para 5% (HC₅) e 50% (HC₅₀) das espécies são apresentados na Tabela 4.

Figura 2. Distribuições de sensibilidade de espécies (DSEs) construídas com os valores de CL_{50-48h} para os invertebrados aquáticos selecionados com os quatro metais no presente estudo (*Tramea cophysa*, *Chlamydotheca* sp. e *Strandesia trispinosa* em negrito), complementadas com dados de toxicidade para outros invertebrados. A - Sulfato de cobre; B - Cloreto de Cádmio; C - Cloreto de Mercúrio; D - Sulfato de Manganês.

Tabela 4 - HC5 e HC50 (concentração de perigo para 5% e 50% das espécies, respectivamente; em $\mu\text{g L}^{-1}$) e intervalos de 95% de confiança para sulfato de cobre (CuSO_4), cloreto de cádmio (CdCl_2), cloreto de mercúrio (HgCl_2) e sulfato de manganês (MnSO_4), a partir das curvas DSEs construídas com base nos valores de CL_{50-48h} para invertebrados (cf. Figura 2).

Composto	HC ₅	HC ₅₀
CuSO_4	27 (7,8 – 61)	380 (198 – 728)
CdCl_2	3,7 (0,49 – 15)	349 (119 – 1028)
HgCl_2	8,3 (1,6 – 25)	319 (134 – 761)
MnSO_4	2,19 (26 – 854)	12442 (4168 – 37143)

Diversos autores compararam a sensibilidade das espécies de regiões tropicais com a sensibilidade das espécies de regiões temperadas, levando-se em conta diferentes poluentes (FREITAS; ROCHA, 2011; FREITAS; ROCHA, 2014; DAAM; RICO, 2016; MANSANO et al., 2016; SILVANO; BEGOSSI, 2016; MOREIRA et al., 2017; BUCH et al., 2017). Embora seja reconhecido que existam diferenças entre as sensibilidades dos organismos pertencentes a

diferentes zonas climáticas, tais diferenças ainda não foram minuciosamente investigadas (KWOK et al., 2007). Os protocolos canadenses para a derivação das diretrizes de qualidade da água para a proteção da vida aquática e as diretrizes federais para inseticidas, fungicidas e rodenticidas da USEPA (CANADIAN COUNCIL OF MINISTERS OF THE ENVIRONMENT, 1991; FIFRA, 1996) reconhecem a diferença potencial da sensibilidade entre as espécies de diferentes zonas climáticas, exigindo dados de toxicidade tanto para as espécies de ambientes temperados como para as espécies de ambientes tropicais. Kwok et al. (2007) ressaltaram que as espécies de regiões tropicais e temperadas diferem quanto à sensibilidade a diferentes classes de compostos químicos, além de diferentes fatores como modos de ação tóxica dissimilares dos compostos-teste ou diferenças relacionadas a alterações no grau de influência da temperatura no metabolismo, absorção e desintoxicação entre espécies tropicais e temperadas.

De acordo com os mesmos autores, as diferenças observadas na sensibilidade entre espécies tropicais e temperadas refletem o verdadeiro quadro ambiental, que é influenciado por dois fatores principais: as diferenças biológicas entre organismos (ex. tropicais e temperados) e as diferenças na metodologia e condições de teste (por exemplo, temperatura) que conduzem a diferenças sistemáticas nas estimativas de toxicidade.

Estudos semelhantes que compararam as sensibilidades de espécies tropicais e temperadas de água doce com base em dados de teste de toxicidade aguda para pesticidas (MALTBY et al., 2005; DOMINGUES et al., 2007) também evidenciaram algumas diferenças na sensibilidade das espécies oriundas das duas regiões climáticas. Com base nos dados de artrópodes, Maltby et al. (2005) compararam as sensibilidades a três pesticidas (clorpirifós, fenitrothion e carbofurano) e demonstraram que os valores de HC₅ para espécies de regiões tropicais foram consideravelmente menores do que os valores de HC₅ para espécies de região temperada. Domingues et al. (2007) utilizaram dimetoato como substância-teste para a comparação da sensibilidade entre *Chironomus riparius* (Chironomidae, Diptera de região temperada) e *Kiefferulus calligaster* (Chironomidae, Diptera de região tropical) e observaram, com base nos valores das CL_{50-48 h}, que a espécie tropical foi, aproximadamente, quatro vezes mais tolerante que *C. riparius*. Os mesmos autores afirmam que bioensaios para avaliar a toxicidade em condições tropicais usando a espécie modelo *C. riparius* poderiam superestimar o risco para as espécies locais.

4 CONCLUSÕES

As três espécies selecionadas para o presente estudo puderam ser mantidas e aclimatadas com sucesso em laboratório e utilizadas como organismos-teste nos testes de toxicidade. Os ostrácodes *Strandesia trispinosa* e *Chlamydotheca* sp. foram mais sensíveis ao cloreto de cádmio em relação aos outros compostos testados e *Tramea cophysa* mais sensível ao sulfato de cobre. Em relação ao sulfato de manganês, as espécies selecionadas para o estudo foram mais resistentes em comparação aos outros compostos testados.

O presente trabalho evidenciou a importância do uso de espécies nativas em estudos ecotoxicológicos de regiões tropicais como demonstrado nas DSEs para *S. trispinosa* que foi muito sensível ao cloreto de cádmio, ao cloreto de mercúrio e ao sulfato de manganês quando comparada com outros invertebrados aquáticos de regiões temperadas e tropicais. Já *T. cophisa* foi considerada resistente para para esses três compostos. Para o sulfato de cobre, as três espécies selecionadas não foram sensíveis, contudo também não foram consideradas resistentes, estando posicionadas na curva de sensibilidade próximas a espécies utilizadas mundialmente em testes de toxicidade.

As espécies estudadas são recomendadas como organismos-teste para a realização de ensaios de toxicidade aguda com metais.

REFERÊNCIAS

- ABDULLAH, S.; JAVED, M.; JAVID, A. Studies on Acute Toxicity of Metals to the Fish (Labeo rohita). **International Journal of Agriculture & Biology**, v. 9, n. 2, p. 333- 337, 2007.
- ABEL, P. D. **Water Pollution Biology**. Ellis Horwood Limited, Chichester, 1989, 296p.
- ABNT - Associação Brasileira de Normas Técnicas, 2016. **Aquatic ecotoxicology – Acute toxicity - Test with *Daphnia* spp (Cladocera, Crustacea)**. NBR 12713. ABNT, Rio de Janeiro.
- ADRIANSENS, V.; SIMONS, F.; NGUYEN, L. T.; GODDEERIS, B.; GOETHALS, P.; DE PAUW, N. Potential of bio-indication of chironomid communities for assessment of running water quality in Flanders (Belgium). **Belgian Journal of Zoology**, v. 134, n. 1, p. 31-40, 2004.
- ALBUQUERQUE, L. B. **Entomofauna aquática do litoral de dois reservatórios da região de São Carlos-SP**. São Carlos, UFSCar, 94p (Master Thesis), 1990.
- ALDENBERG, T.; JAWORSKA, J. S. Uncertainty of the hazardous concentration and fraction affected for normal species sensitivity distributions. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 46, n. 1, p. 1-18, 2000.
- ANDERSON, R. L.; WALBRIDGE, C. T.; FIANDT, J. T. Survival and growth of *Tanytarsus dissimilis* (Chironomidae) exposed to copper, cadmium, zinc, and lead. **Archives of Environmental Contamination and Toxicology**, v. 9, p. 329-335, 1980.
- ANDERSON, T. D.; ZHU, K. Y. Synergistic and antagonistic effects of atrazine on the toxicity of organophosphorodithioate and organophosphorothioate insecticides to *Chironomus tentans* (Diptera: Chironomidae). **Pesticide Biochemistry and Physiology**, v. 80, n. 1, p. 54-64, 2004.
- BALISTRIERI, L. S.; MEBANE, C. A. Predicting the toxicity of metal mixtures. **Science of the Total Environment**, v. 466, p. 788–799, 2014.
- BILA, D. M.; DEZOTTI, M.; Desreguladores endócrinos no ambiente: efeitos e consequências. **Química Nova**. v. 30, p. 651-666, 2007.
- BROCK, T. C. M.; MALTBY, L.; HICKEY, C. H.; CHAPMAN, J.; SOLOMON, K. R. Spatial extrapolation in ecological effect management of chemicals, in: SOLOMON, K. R.; BROCK, T. C. M.; DE ZWART, D.; DYER, S. D.; POSTHUMA, L.; RICHARDS, S. M.; SANDERSON, H.; SIBLEY, P. K.; VAN DEN BRINK, P. J. (Eds.). **Extrapolation practice for ecotoxicological effect characterization of chemicals**. SETAC Europe Press, Brussels, 2008, p. 223–256.
- BUCH, A. C. B.; BROWN, G. G.; CORREIA, M. E. F.; LOURENÇATO, L. F.; SILVA-FILHO, E. V. Ecotoxicology of mercury in tropical forest soils: Impact on earthworms. **Science of the Total Environment**, v. 589, p. 222-231, 2017.
- BUCHWALTER, D. B.; CAIN, D. J.; CLEMENTS, W. H.; LUOMA, S. N. Using biodynamic models to reconcile differences between laboratory toxicity tests and field biomonitoring with aquatic insects. **Environmental Science & Technology**, 41 (13), 4821–4828, 2007.

BUIKEMA, A. L.; GEIGER, J. G.; LEE, D. R. *Daphnia* toxicity tests. In: Buikema, A. L. Jr.; Cairns, J. Jr ed., **Aquatic invertebrate bioassays**, p. 48-69, 1980.

CANADIAN COUNCIL OF MINISTERS OF THE ENVIRONMENT. A protocol for the derivation of water quality guidelines for the protection of aquatic life (April 1991). In: **Canadian Environmental Quality Guidelines**. Canadian Council of Resource and Environment Ministers, 1987. Appendix 9.

CARVALHO, M. M.; LIRA, V. S.; WATANABE, C. H.; FRACÁCIO, R. Estudo da toxicidade de metais (zinco e cádmio) sobre *Ceriodaphnia dubia*, por multivias de exposição e recuperação biológica de descendentes. **Engenharia Sanitaria e Ambiental**, v. 22, n. 5, p. 961-968, 2018.

CHAPMAN, K. K.; BENTON, M. J.; BRINKHURST, R. O.; SCHEUERMA, P. R. Use of the aquatic oligochaetes *Lumbriculus variegatus* and *Tubifex tubifex* for assessing the toxicity of copper and cadmium in a spiked-artificial-sediment toxicity test. **Environmental Toxicology**, v. 14, n. 2, p. 271-278, 1999.

CID, N.; IBANEZ, C.; PALANQUES, A.; PRAT, N. Patterns of metal bioaccumulation in two filter-feeding macroinvertebrates: Exposure distribution, inter-species differences and variability across developmental stages. **Science of the Total Environment**, 408 (14), 2795–2806, 2010.

DAAM, M. A.; VAN DEN BRINK, P. J. Implications of differences between temperate and tropical freshwater ecosystems for the ecological risk assessment of pesticides. **Ecotoxicology**, v. 19, p. 24-37, 2010.

DAAM, M. A.; PEREIRA, A. C. S.; SILVA, E.; CAETANO, L.; CEREJEIRA, M. J. Preliminary aquatic risk assessment of imidacloprid after application in an experimental rice plot. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 97, p. 78-85, 2013.

DAMM, M. A.; RICO, A. Freshwater shrimps as sensitive test species for the risk assessment of pesticides in the tropics. **Environmental Science and Pollution Research**, v. 25, p. 13235-13243, 2016.

DITTMAN, E. K.; BUCHWALTER, D. B. Manganese bioconcentration in aquatic insects: Mn oxide coatings, molting loss, and Mn(II) thiol scavenging. **Environmental Science and Technology**, v. 44, p. 9182-9188, 2010.

DOMINGUES, I.; GUILHERMINO, L.; SOARES, A. M.; NOGUEIRA, A. J. Assessing dimethoate contamination in temperate and tropical climates: potential use of biomarkers in bioassays with two chironomid species. **Chemosphere**, v. 69, n. 1, p. 145-154, 2007.

DORNFELD, C. B.; RODGHER, S.; NEGRI, R. G.; ESPÍNDOLA, E. L. G.; DAAM, M. A. *Chironomus sancticaroli* (Diptera, Chironomidae) as a sensitive tropical test species in laboratory bioassays evaluating metals (copper and cadmium) and field testing. **Archives of Environmental Contamination and Toxicology**, 2018.

EFSA - The European Food Safety Authority. **Guidance on tiered risk assessment for plant protection products for aquatic organisms in the edge-of-field surface waters**. EFSA J. 11, 3290, 2013.

FÉLIX, T. F. T.; PUNTEL, R. L.; DE OLIVEIRA, É. C.; BIANCHINI, M. C.; MENDES, L. N.; PORTELA, J. L. R. Avaliação dos efeitos toxicológicos do Mn em *Drosophila melanogaster* sobre parâmetros comportamentais. **Anais do Salão Internacional de Ensino, Pesquisa e Extensão**, v. 9, n. 3, 2018.

FIFRA. **Federal Insecticide, Fungicide, and Rodenticide Act**. 7 U.S.C. s/s 136 et seq. USA, 1996.

FORAN, J. A.; GERMUSKA, P. J.; DELFINO, J. J. Acute toxicity of aldicarb, aldicarb sulfoxide, and aldicarb sulfone to *Daphnia laevis*. **Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology**, v. 35, N. 1, P. 546-550, 1985.

FORNO, D. A. Sustainable development starts with agriculture. In: FAIRCLOUGH A. J. (ed). **Sustainable agriculture solutions the actions report of the sustainable agriculture initiative**. London: The Novelho Press, 1999. Cap.1. p. 8-11.

FRANKLIN, N. M.; STAUBER, J. L.; LIM, R. P.; PETOCZ, P. Toxicity of metal mixtures to a tropical freshwater alga (*Chlorella* sp): the effect of interactions between copper, cadmium, and zinc on metal cell binding and uptake. **Environmental Toxicology and Chemistry**, 21, 2412–2422, 2002.

FREITAS, E. C.; ROCHA, O. Acute toxicity tests with the tropical cladoceran *Pseudosida ramosa*: the importance of using native species as test organisms. **Archives of Environmental Contamination and Toxicology**, 60, 241-249, 2011.

FREITAS, E. C.; ROCHA, O. Acute and chronic toxicity of chromium and cadmium to the tropical cladoceran *Pseudosida ramosa* and the implications for ecotoxicological studies. **Environmental Toxicology**, 29(2), 176-186, 2014.

GLADYSZ, M.; DOLEŻYCH, B.; CUBER, P.; KARCZ, J.; ŁASZCZYCA, P.; MISZTA, A. Mud sediments on anal pyramids of *Libellula quadrimaculata* larvae - accidental phenomenon or bioindicator of heavy metal pollution? (Odonata: Libellulidae). **Odonatologica**, v. 45, p. 179-189, 2016.

HOWE, P. L.; REICHELT-BRUSHETT, A. J.; CLARK, M. W. Effects of Cd, Co, Cu, Ni and Zn on asexual reproduction and early development of the tropical sea anemone *Aiptasia pulchella*. **Ecotoxicology**, v. 23, p. 1593-606, 2014.

HUDSPITH, M.; REICHELT-BRUSHETT, A.; HARRISON, P. L. Factors affecting the toxicity of trace metals to fertilization success in broadcast spawning marine invertebrates: A review. **Aquatic Toxicology**, v. 184, p. 1–13, 2017.

JACKSON, J. Metais pesados e Outras Substâncias Tóxicas Inorgânicas. In: TUNDISI, J. G. (ed.) **Gerenciamento de Substâncias Tóxicas em lagos e reservatórios**. São Carlos: ILEC; IIE, 2002. pp. 71-87.

KALKMAN, V. J.; CLAUSNITZER, V.; DIJKSTRA, K. D. B.; ORR, A. G.; PAULSON, D. R.; VAN TOL, J. Global diversity of dragonflies (Odonata) in freshwater. **Hydrobiologia**, v. 595, p. 351-363, 2008.

KWOK, K. W. H.; LEUNG, K. M. Y.; LUI, G. S. G.; CHU, S. V. K. H.; LAM, P. K. S.; MORRITT, D.; MALTBY, L.; BROCK, T. C. M.; VAN DEN BRINK, P. J.; WARNE, M. S. J.; CRANE, M. Comparison of tropical and temperate freshwater animal species' acute sensitivities to chemicals: Implications for deriving safe extrapolation factors. **Integrated Environmental Assessment and Management**, v. 3, p. 49-67, 2007.

KEMPSTER, P. L.; HATTINGH, W. A. J.; VAN VLIET, H. R. **Summarized Water Quality Criteria**. Department of Water Affairs, South Africa. Technical Report N°. TR108. 1982. 45p.

KEPPELER, E. C.; DE MELO PLESE, L. P.; VIEIRA, L. J. S. Acute toxicity of methyl parathion on *Daphnia laevis* (Birge, 1879) and its impact on the activity of farmed fish. **Brazilian Journal of Aquatic Science and Technology**, v. 19, n. 1, p. 33-38, 2016.

KIFFNEY, P. M.; CLEMENTS, W. H. Bioaccumulation of heavy metals by benthic invertebrates at the Arkansas River, Colorado. **Environmental Toxicology and Chemistry**, v. 12, p. 1507-1517, 1993.

KOZLOVA, T.; WOOD, C. M.; McGEER, J. C. The effect of water chemistry on the acute toxicity of nickel to the cladoceran *Daphnia pulex* and the development of a biotic ligand model. **Aquatic Toxicology**, v. 91, p. 221-228, 2009.

LESCH, V.; BOUWMAN, H. Adult dragonflies are indicators of environmental metallic elements. **Chemosphere**, v. 209, p. 654-665, 2018.

MACKERETH, F. J.; HARON, J.; TALLING, J. F. **Water analysis**. Freshwater Biol. Assoc. Sci. Publ. No. 36, 1978.

MALTBY, L.; BLAKE, N.; BROCK, T.; VAN DEN BRINK, P. J. Insecticide species sensitivity distributions: Importance of test species selection and relevance to aquatic ecosystems. **Environmental Toxicology and Chemistry**, v. 24, p. 379-288, 2005.

MANSANO, A. S.; MOREIRA, R. A.; DORNFELD, H. C.; DINIZ, L. G.; VIEIRA, E. M.; DAAM, M. A.; SELEGHIM, M. H. Acute and chronic toxicity of diuron and carbofuran to the neotropical cladoceran *Ceriodaphnia silvestrii*. **Environmental Science and Pollution Research**, p. 1-12, 2016.

MARONI, G.; WATSON, D. Uptake and binding of cadmium, copper and zinc by *Drosophila melanogaster* larvae. **Insect Biochemistry**, v. 15, n. 1, p. 55-63, 1985.

MARTENS, K.; SCHÖN, I.; MEISCH, C.; HORNE, D. J. Global diversity of ostracods (Ostracoda, Crustacea) in freshwater. **Hydrobiologia**, v. 595, p. 185-193, 2008.

MAYER, F. L.; ELLERSIECK, M. R. **Manual of acute toxicity**: interpretation and data base for 410 chemicals and 66 species of freshwater animals. United States Department of the Interior Fish and Wildlife Service, Washington, DC. Resource publication 160, 1986, 574p.

MEHLER, W. T.; SCHULER, L. J.; LYDY, M. J. Examining the joint toxicity of chlorpyrifos and atrazine in the aquatic species: *Lepomis macrochirus*, *Pimephales promelas* and *Chironomus tentans*. **Environmental Pollution**, v. 152, n. 1, p. 217-224, 2008.

MEYBECK, M.; HELMER, R. **An introduction to water quality. Water quality assessments: a guide to the use of biota, sediments and water in environmental monitoring.** London: Chapman and Hall, v. 1, p. 1-17, 1992.

MILANI, D.; REYNOLDSON, T. B.; BORGMANN, U.; KOLASA, J. The relative sensitivity of four benthic invertebrates to metals in spiked sediment exposures and application to contaminated field sediment. **Environmental Toxicology and Chemistry**, v. 22, p. 845-854, 2003.

MOREIRA, R. A.; DAAM, M. A.; VIEIRA, B. H.; SANCHES, A. L. M.; REGHINI, M. V. Toxicity of abamectin and difenoconazole mixtures to a Neotropical cladoceran after simulated run-off and spray drift exposure. **Aquatic Toxicology**, v. 185, p. 58-66, 2017.

NADDY, R. B.; COHEN, A. S.; STUBBLEFIELD, W. A. The interactive toxicity of cadmium, copper, and zinc to *Ceriodaphnia dubia* and rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). **Environmental Toxicology and Chemistry**, v. 34, n. 4, p. 809-815, 2015.

NASIRIAN, H.; IRVINE, K. N. Odonata larvae as a bioindicator of metal contamination in aquatic environments: application to ecologically important wetlands in Iran. **Environmental Monitoring and Assessment**, v. 189, p. 436, 2017.

NEHRING, R. B. Aquatic insects as biological monitors of heavy metal pollution. **Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology**, v. 15, p. 147-154, 1976.

NORDBERG, G. F.; FOWLER, B. A.; NORDBERG, M.; FRIBERG, L. T. **Handbook on the Toxicology of Metals** (Ed.) 3. ed. Amsterdam: Elsevier, 2007, 995p.

OECD - Organization for Economic Cooperation Development. **Test no. 202: Guidelines for the testing of chemicals: *Daphnia* sp., acute immobilisation test.** OECD, Paris, 2004.

OECD - Organization for Economic Cooperation Development. **Test no. 315: Guidelines for the testing of chemicals: Bioaccumulation in sediment-dwelling benthic Oligochaetes.** OECD, Paris, 2008.

OECD - Organization for Economic Cooperation Development. **Test no. 235: Guidelines for the testing of chemicals: *Chironomus* sp., acute immobilisation test.** OECD, Paris, 2011.

OKAMOTO, A.; YAMAMURO, M.; TATARAZAKO, N. Acute toxicity of 50 metals to *Daphnia magna*. **Journal of Applied Toxicology**, v. 35, n. 7, p. 824-830, 2015.

OLIVEIRA, S. C.; WAGNER, C. COSTA H. E.; ROSA, R. B.; PERTILLE, D. C. VIVIAN, F. T. Avaliação toxicológica dos efeitos do cobre na espécie *Carassius auratus*. **Revista Gestão & Sustentabilidade Ambiental**, v. 7, n. 2, p. 260-275, 2018.

PENNINGTON, D. W. Extrapolating ecotoxicological measures from small datasets. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 56, n. 2, p. 238-250, 2003.

PENTTINEN, A.; KOSTAMO, A.; KUKKONEN, J. V. K. Combined effects of dissolved organic material and water hardness on toxicity of cadmium to *Daphnia magna*. **Environmental Toxicology and Chemistry**, v. 17, p. 2498-2503, 1998.

POSTMA, J. F.; KYED, M.; ADMIRAAL, W. Site specific differentiation in metal tolerance in the midge *Chironomus riparius* (Diptera, Chironomidae). **Hydrobiologia**, v. 315, p. 159-165, 1995.

RAO, D. S.; SAXENA, A. B. Acute toxicity of mercury, zinc, lead, cadmium, manganese to the *chironomus sp.* **International Journal of Environmental Studies**, v. 16, n. 3-4, p. 225-226, 1981.

RAYMS-KELLER, A.; OLSON, K. E.; MCGAW, M.; ORAY, C.; CARLSON, J. O.; BEATY, B. J. Effect of heavy metals on *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae) larvae. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 39, p. 41-47, 1998.

RESTANI, G. C.; FONSECA, A. L. Effects of *Cylindrospermopsis raciborskii* strains (Woloszynska, 1912) Senayya & Subba Raju on the mobility of *Daphnia laevis* (Cladocera, Daphniidae). **Brazilian Journal of Biology**, v. 74, n. 1, p. 23-31, 2014.

ROCHA, G. S.; TONIETTO, A. E.; LOMBARDI, A. T.; MELÃO, M. G. G. Effect of copper contaminated food on the life cycle and secondary production of *Daphnia laevis*. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 133, p. 235-242, 2016.

ROCHA, O.; NETO, A. J. G.; LIMA, J. C. S.; FREITAS, E. C.; MIGUEL, M.; MANSANO, A. S.; MOREIRA, R. A.; DAAM, M. A. Sensitivities of three tropical indigenous freshwater invertebrates to single and mixture exposures of diuron and carbofuran and their commercial formulations. **Ecotoxicology**, v. 27, p. 834-844, 2018.

ROSABAL, M.; PIERRON, F.; COUTURE, P.; BAUDRIMONT, M.; HARE, L.; CAMPBELL, P. G. Subcellular partitioning of non-essential trace metals (Ag, As, Cd, Ni, Pb, and Tl) in livers of American (*Anguilla rostrata*) and European (*Anguilla anguilla*) yellow eels. **Aquatic Toxicology**, v. 160, p. 128-141. 2015.

RUIZ, F.; ABAD, M.; BODERGAT, A. M.; CARBONEL, P.; RODRÍGUEZ-LÁZARO, J.; GONZÁLEZ-REGALADO, M. L.; TOSCANO, A.; GARCÍA, E. X.; PRENDA, J. Freshwater ostracods as environmental tracers. **International Journal of Environmental Science and Technology**, v. 10, p. 1115-1128, 2013.

SANTOS, S.; OLIVEIRA, L. C.; SANTOS, A.; ROCHA, J. C.; ROSA, H. A. Poluição Aquática. IN: ROSA, H. A.; FRACETO, L. F.; MOSCHINI-CARLOS, V. **Meio Ambiente e Sustentabilidade**. Porto Alegre: Bookman. 2012. Pp. 11-40.

SARMA, S. S. S.; PEREDO-ALVAREZ, V. M.; NANDINI, S. Comparative Study of the Sensitivities of Neonates and Adults of Selected Cladoceran (Cladocera: Crustacea) Species to Acute Toxicity Stress. **Journal of Environmental Science and Health**, v. 42, n. 10, p. 1449-1452, 2007.

SCHWARZENBACH, R. P. The challenge of micropollutants in aquatic systems. **Science**, v. 313, p. 1072-1077, 2006.

SILVA, D.; DE MARCO, P.; RESENDE, D. C. Adult odonate abundance and community assemblage measures as indicators of stream ecological integrity: A case study. **Ecological Indicators**, v. 10, p. 744-752, 2010.

SCHOFIELD, R. M. S.; NESSON, M. H.; RICHARDSON, K. A.; WYETH, P. Zinc is incorporated into cuticular “tools” after ecdysis: The time course of the zinc distribution in “tools” and whole bodies of an ant and a scorpion. **Journal of Insect Physiology**, v. 49, n. 1, p. 31-44, 2003.

SHUHAIMI-OTHMAN, M.; YAKUB, N.; RAMLE, N. A.; ABAS, A. Toxicity of metals to a freshwater ostracod: *Stenocypris major*. **Journal of Toxicology**, v. 2011, p. 1-8, 2011.

SIMIÃO-FERREIRA, J. DeMarco Jr, P.; Mazão, G. R.; Carvalho, A. R. Chironomidae assemblage structure in relation to organic enrichment of an aquatic environment. **Ecology, Behavior and Bionomics**, v. 38, n. 4, p. 464 – 471, 2009.

SILVANO, R. A. M.; BEGOSSI, A. From Ethnobiology to Ecotoxicology: Fishers’ Knowledge on Trophic Levels as Indicator of Bioaccumulation in Tropical Marine and Freshwater Fishes. **Ecosystems**, v. 19, n. 7, p. 1310-1324, 2016.

STEENKAMP, V. E.; DUPREEZ, H. H.; SCHOONBEE, H. J.; VANEEDEN, P. H. Bioaccumulation of manganese in selected tissues of the fresh-water crab, *Potamonautes warreni* (Calman), from industrial and mine-polluted fresh-water ecosystems. **Hydrobiologia**, v. 288, n. 3, p. 137-150, 1994.

STUBBLEFIELD, W. A.; BRINKMAN, S. E.; DAVIES, P. H.; GARRISON, T. D. Effects of water hardness on the toxicity of manganese to developing brown trout (*Salmo trutta*). **Environmental Toxicology and Chemistry**, v. 16, p. 2082-2089, 1997.

SUZUKI, K. T.; SUNAGA, H.; AOKI, Y. Binding of cadmium and copper in the mayfly *Baetis thermicus* larvae that inhabit a river polluted with heavy metals. **Comparative Biochemistry and Physiology**, v. 91, p. 487-492, 1988.

TIMMERMANS, K. R. Accumulation and effects of trace metals in freshwater invertebrates, in: DALLINGER, R.; RAINBOW, P. S. (Eds.), **Ecotoxicology of metals in invertebrates**. Lewis publishers, Boca Raton, FL, 1993. pp. 133-148.

TOLLETT, V. D.; BENVENUTTI, E. L.; DEER, L. A.; RICE, T. M. Differential Toxicity to Cd, Pb, and Cu in Dragonfly Larvae (Insecta: Odonata). **Archives of Environmental Contamination and Toxicology**, v. 56, p. 77-84, 2009.

TRIVINHO-STRIXINO, S.; STRIXINO, G. **Larvas de Chironomidae (Diptera do Estado de São Paulo: Guia de identificação de diagnose dos gêneros)**. São Carlos, SP: Gráfica da Universidade Federal de São Carlos. Programa de Pós-graduação em Ecologia e Recursos Naturais. 1995. 229p.

USEPA - Environmental Protection Agency. EPA/600/R: **Methods for measuring the toxicity and bioaccumulation of sediment associated contaminant with freshwater invertebrates**. 2ª ed., Washington D. C., 2000, 192p.

VAN VLAARDINGEN, P.; TRAAS, T.; WINTERSEN, A.; ALDENBERG, T. ETX 2.0. **A program to calculate hazardous concentrations and fraction affected, based on normally distributed toxicity data**. RIVM Rep 601501028, n. 1, 2004, 68p.

VERDONSCHOT, P, F, M. The role of oligochaetes in the management of waters. **Hydrobiologia**, v. 180, n. 1, p. 213 – 227, 1989.

WAISSI-LEINONEN, G. C.; PETERSEN, E. J.; PAKARINEN, K.; AKKANEN, J.; LEPPÄNEN, M. T.; KUKKONEN, J. V. Toxicity of fullerene (C60) to sediment-dwelling invertebrate *Chironomus riparius* larvae. **Environmental Toxicology and Chemistry**, v. 31, n. 9, p. 2108-2116, 2012.

WARNICK, S. L.; BELL, H. L. The acute toxicity of some heavy metals to different species of aquatic insects. **Journal of Water Pollution Control Federation**. v. 41, p. 280-283, 1969.

WU, X.; COBBINA, S. J.; MAO, G.; XU, H.; ZHANG, Z.; YANG, L. A review of toxicity and mechanisms of individual and mixtures of heavy metals in the environment. **Environmental Science and Pollution Research**, v. 23, p. 8244-8259, 2016.

YUAN, D.; HUANG, L.; ZENG, L.; LIU, S. Acute toxicity of mercury chloride (HgCl₂) and cadmium chloride (CdCl₂) on the behavior of freshwater fish, *Percocypris pingi*. Int. **Journal of Aquaculture Fisheries and Science**, v. 7, p. 66-70, 2017.

Capítulo 2

Toxicidade aguda das misturas binárias dos metais cobre, cádmio, mercúrio e manganês para o invertebrado aquático *Strandesia trispinosa* (Pinto & Purper, 1965), Cyprididae, Ostracoda

Resumo

A maior parte dos produtos químicos que entram nos corpos d'água e outros sistemas não estão isolados, mas em misturas. No entanto, os metais geralmente são avaliados individualmente, em parte porque a compreensão atual não permite uma previsão precisa da toxicidade das misturas metálicas para organismos aquáticos. Com isso, o objetivo deste estudo foi averiguar os efeitos tóxicos das combinações binárias dos metais cobre/cádmio, cobre/mercúrio, cobre/manganês e cádmio/mercúrio a partir de testes de toxicidade aguda a uma espécie de Ostracoda, *Strandesia trispinosa*. Para isso os indivíduos foram expostos simultaneamente em teste único, a cada metal isolado e em combinações, através de um planejamento fatorial para toxicidade. O modelo que melhor explicou os efeitos das mistura sulfato de cobre/cloreto de cádmio, sulfato de cobre/cloreto de mercúrio e sulfato de cobre/sulfato de manganês sobre a sobrevivência de *S. trispinosa* foi o modelo da Adição da Concentração (AC) e os melhores ajuste aos dados foram dados pelos desvios antagonístico (para cobre/cádmio), sinergismo quando o sulfato de cobre predominou na mistura e antagonismo quando a predominância na mistura foi do cloreto de mercúrio (para cobre/mercúrio) e sinergismo quando houve predominância do sulfato de cobre e antagonismo quando o sulfato de manganês predominou na mistura (para cobre/manganês). Já para a mistura cloreto de cádmio/cloreto de mercúrio, o modelo que melhor explicou os efeitos da mistura sobre a sobrevivência de *S. trispinosa* foi o de Ação Independente (AI), sendo que o melhor ajuste aos dados foi obtido pelo desvio sinérgico.

Palavras-chave: Sinergismo, Antagonismo, Toxicidade de misturas, Organismo tropical.

Abstract

Most chemicals entering water bodies and other systems are not just isolated compounds but also joint mixtures. However, metals toxicity is generally evaluated individually, in part because current understanding does not allow accurate prediction of the toxicity of metal blends to aquatic organisms. The objective of this study was to investigate the toxic effects of binary combinations of copper and cadmium, copper and mercury, copper and manganese and cadmium and mercury metals from acute toxicity tests on the tropical ostracod species, *Strandesia trispinosa*. For this, the individuals were exposed simultaneously in a single test, to each isolated metal and to their combinations, through a factorial design for toxicity experimentation. The models that best explained the effects of copper sulfate /cadmium chloride, copper sulfate/mercury chloride and copper sulphate/manganese sulphate mixture on *S. trispinosa* survival were the Concentration of Addition (AC) model and the best fit to data was given by the antagonistic deviations (for copper/cadmium); synergism when copper sulphate predominated in the mixture and antagonism when the predominance in the mixture was of mercury chloride (for copper/mercury); synergism when there was predominance of copper sulphate and antagonism when manganese sulphate predominated in the mixture (for copper/manganese). As for the cadmium chloride/mercury chloride mixture, the model that best explained the effects of the mixture on the survival of *S. trispinosa* was that of Independent Action (AI), and the best fit to the data was obtained by the synergistic deviation.

Keywords: Synergism, Antagonism, Toxicity to mixtures, Tropical Organism.

1 INTRODUÇÃO

Embora no planeta Terra os compostos metálicos sejam originários de substrato rochoso, estes produtos químicos entram em grande parte no ambiente aquático através de despejos de atividades industriais e do escoamento superficial de áreas agrícolas, sendo nestes sistemas absorvidos e transferidos através da cadeia trófica (SCHUTZENDUBEL; POLLE, 2002) podendo ocasionar efeitos tóxicos significativos aos seres vivos, e perturbações ecológicas em diferentes níveis de organização biológica (SCOCCIANI et al., 2008).

A descarga industrial e a eliminação de resíduos urbanos em regiões fluviais e costeiras são as principais fontes de poluição aquática, cujos componentes mais comuns são os compostos de metais como cádmio, cobre, mercúrio, zinco e chumbo (WANG; KONG; WU, 2007). Ao contrário de poluentes orgânicos complexos, os compostos metálicos não podem ser degradados por microrganismos, em vez disso, eles podem ser acumulados participando no processo de bioacumulação ao longo da cadeia alimentar, sendo, portanto, alguns dos poluentes mais persistentes nos ecossistemas aquáticos (KONG et al., 1995).

Grandes quantidades dos produtos químicos que entram nos corpos d'água e outros sistemas não estão isolados, mas ocorrem em misturas complexas (Altenburger et al., 2013), no entanto, os metais geralmente são avaliados individualmente, em parte porque a compreensão atual não permite uma previsão precisa da toxicidade das misturas metálicas para organismos aquáticos (MEYER; FARLEY; GARMAN, 2015a).

As interações sinérgicas ou antagônicas de compostos químicos surgem quando a toxicidade da mistura é maior ou menor que a soma das toxicidades dos componentes individuais, e exceto quando há evidências contrárias, as autoridades geralmente aplicam regulamentos que presumem que concentrações aceitáveis de poluentes podem ser tratadas independentemente, mesmo quando estão presentes em misturas (WALKER et al., 1996). No entanto, graves consequências podem ocorrer quando tais suposições estão incorretas. Por exemplo, a manifestação da síndrome do salmão pigmentado do rio Don, na Escócia, que atingiu proporções epidêmicas no início dos anos 80, foi o resultado da interação sinérgica das toxinas encontradas em duas descargas de efluentes (CROCE et al., 1997). Portanto, a toxicidade da mistura de metais para um dado organismo pode ser menor do que o aditivo, isto é, menor do que o esperado para uma combinação simples dos efeitos das exposições individuais ao metal, aditivo (como esperado) ou maior do que aditivo, ou seja, mais do que o esperado, dependendo dos metais na mistura (MEYER; FARLEY; GARMAN, 2015). Em um experimento sobre a toxicidade de misturas de metais Meyer et al. (2015) observaram que

Daphnia magna exposta a misturas binárias de cádmio e cobre em que a concentração de cádmio foi variada através de uma série de diluições a partir da EC₅₀, a toxicidade foi aditiva ou ligeiramente maior do que aditiva. No entanto, quando a variação da concentração foi a partir de diluições do cobre, os resultados evidenciaram toxicidade menor do que aditiva.

Diferentes grupos de organismos têm sido propostos como bioindicadores e/ou biomonitores (RINDERHAGEN; RITTERHOFF; ZAUKE, 2000) e vários grupos da meiofauna estão incluídos como sentinelas de alterações induzidas pelo homem nos ambientes de água doce. Dentre estes destacam-se espécies de diatomáceas (RIMET; BOUCHEZ, 2011) de nematóides (ZHU et al., 2001) e alguns microcrustáceos (eg Ostracoda), os quais desempenham papéis relevantes na composição estrutural e funcional dos sistemas (LAWRENCE; PACKROFF; NEU, 2002).

Embora os ostrácodes sejam reconhecidos como organismos sensíveis à poluição por metais, os estudos sobre os efeitos tóxicos a esses organismos tem lidado apenas com espécies isoladas de metais (KHANGAROT; RAY, 1987; BROOKS; WHITE; PATON, 1995; HAVEL; TALBOTT, 1995; RUIZ et al., 2004; BERGIN et al., 2006; KHANGAROT; DAS, 2009; SHUHAIMI-OTHTMAN et al., 2011; KHANAL; FURUMAI; NAKAJIMA, 2014; SEVILLA; NAKAJIMA; KASUGA, 2014), não sendo encontrados na literatura estudos que abordem a toxicidade de misturas para esses organismos.

Com isso, o objetivo deste estudo foi averiguar os efeitos tóxicos das seguintes combinações binárias: cobre e cádmio, cobre e mercúrio, cobre e manganês e cádmio e mercúrio, por meio de testes de toxicidade aguda utilizando como organismo-teste o ostrácodo de águas doces *Strandesia trispinosa* (PINTO & PURPER, 1965 – Cyprididae, Ostracoda). Estes quatro metais foram escolhidos dada sua frequente ocorrência como contaminantes em ecossistemas aquáticos e sua toxicidade a diversos organismos ser individualmente bastante documentada (MEBANE; DILLON; DENNESSI, 2012; SEVILLA; NAKAJIMA; KASUGA, 2014; ADAM et al., 2015; KHAN et al., 2015; OKAMOTO; YAMAMURO; TATARAZAKO, 2015; BILAL et al., 2016), além de serem encontrados em mistura nas águas superficiais que recebem descargas industriais, urbanas, agrícolas ou através de drenagem de minas (BUTLER; RANVILLE; ROSS, 2008). É esperado que as combinações binárias atuem de forma sinérgica aumentando os danos ao organismo selecionado.

2 MATERIAL E MÉTODOS

2.1 Organismos-teste e condições de cultura

Os espécimes do ostrácode *Strandesia trispinosa* foram coletados em tanques de concreto (Apêndice B) na Estação Experimental do Departamento de Ecologia e Biologia Evolutiva na Universidade Federal de São Carlos (UFSCar – SP). Esses microcrustáceos foram mantidos no laboratório em bandejas plásticas de 34 cm de comprimento x 29 cm de largura x 6,7 cm de altura e aclimatados às condições de ensaio durante sete dias. As culturas foram mantidas sob condições controladas com fotoperíodo de 16h luz: 8h escuro e temperatura de 25 °C (± 1 °C). O meio de cultivo utilizado foi a água reconstituída com dureza entre 150-180 mg CaCO₃/L, condutividade elétrica entre 150 e 160 μScm^{-1} e pH entre 7,0 e 7,5. Como alimento foram fornecidas folhas de *Eucalyptus* em estado avançado de decomposição e posteriormente, a microalga clorofícea *Chlorella sorokiniana* na densidade de 10^8 cels L⁻¹.

2.2 Testes agudos de toxicidade com misturas

Os indivíduos foram expostos simultaneamente em teste único, tanto para cada metal isoladamente como para algumas combinações binárias entre os metais, através de um planejamento fatorial para toxicidade (Apêndice G). Foram estabelecidas três réplicas por concentração, com cinco indivíduos por réplica. Os testes foram realizados em recipientes plásticos (Apêndice D) contendo 10 mL da solução-teste para cada réplica e 10 mL de água reconstituída para o controle. Os experimentos foram mantidos em temperatura controlada de 25 ± 1 °C, no escuro e sem alimento durante 48 h. As concentrações das soluções-teste testadas são apresentadas na Tabela 1.

Tabela 1 - Concentrações das soluções-teste ($\mu\text{g L}^{-1}$) utilizadas nos testes toxicológicos com as misturas binárias para cada composto.

Espécie	Composto ($\mu\text{g L}^{-1}$)			
	CuSO ₄	CdCl ₂	HgCl ₂	MnSO ₄
<i>Strandesia trispinosa</i>	25; 50; 100;	3,12; 6,25;	1,56; 3,12;	500; 1000;
	200; 400; 800	12,5; 25; 50	6,25; 12,5; 25	2000; 4000; 8000

2.3 Análise dos dados

Os dados dos testes de toxicidade com as misturas dos metais foram analisados através dos modelos conceituais de adição de concentração (CA) e ação independente (IA). Os dados observados foram comparados com o efeito esperado combinado e calculados a partir da ferramenta MIXTOX (JONKER et al., 2005). Em seguida, a análise foi estendida, de acordo com Jonker et al. (2005), e os três desvios dos modelos de referência das interações sinérgica/antagonista (S/A), desvio da relação dose-dose (DR) e dose dependente de nível (DL) foram modelados pela adição de dois parâmetros, “a” e “b” (Tabela 2). O parâmetro “a” torna-se negativo e positivo em desvios sinérgicos e antagônicos, respectivamente. Para descrever o nível de dose dependente do nível (DL), outro parâmetro (b_{DL}) está incluído além do parâmetro “a”, que indica o desvio em doses altas e baixas e o valor de b_{DL} indica em qual nível de dose o desvio é alterado. Outros detalhes sobre as funções de desvio podem ser obtidos de Jonker et al. (2005). Os dados foram verificados para esses modelos conceituais e desvios, e o melhor ajuste foi escolhido por meio do método da máxima verossimilhança.

Depois de identificar estatisticamente o modelo mais apropriado para a descrição do desvio, o padrão de efeitos foi deduzido diretamente dos valores dos parâmetros e o desvio máximo pode ser calculado em termos nível de efeito (JONKER et al., 2005; FREITAS et al., 2014).

Tabela 2 - Interpretação dos parâmetros adicionais (“a” e “b”) que definem a forma funcional dos desvios-padrão do modelo de ação independente (IA); adaptado de Jonker *et al.* (2005).

Desvio	Parâmetro “a”	Parâmetro “b”
Sinergismo/Antagonismo	$a > 0$ - Antagonismo $a < 0$ - Sinergismo	
Relação Dose-Dose (DR)	$a > 0$ - Antagonismo, exceto para aquelas proporções de misturas em que um valor b negativo significativo indicar sinergismo $a < 0$ - Sinergismo, exceto para aquelas proporções de misturas em que um valor de b positivo indicar antagonismo	$bi > 0$ - Antagonismo, onde a toxicidade da mistura é causada principalmente pelo agente tóxico <i>i</i> $bi < 0$ - Sinergismo, onde a toxicidade da mistura é causada principalmente pelo agente tóxico <i>i</i>
Relação Dose dependente de nível (DL)	$a > 0$ - Antagonismo em doses baixas e sinergismo em doses altas $a < 0$ - Sinergismo em doses baixas e antagonismo em doses altas	$b_{DL} > 2$ - Alteração no nível de dose inferior a CL50 $b_{DL} = 2$ - Alteração na CL50 $1 < b_{DL} < 2$ - Alteração no nível de dose maior que a CL50 $b_{DL} < 1$ - Sem alteração, mas a magnitude de S/A é dependente do nível de efeito

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1 Toxicidade da mistura de Sulfato de cobre x Cloreto de cádmio

Neste estudo, as misturas binárias foram analisadas nos modelos AC e AI a fim de analisar qual o melhor modelo que se ajusta às interações e o modelo que melhor explicou os efeitos da mistura dos compostos sulfato de cobre e cloreto de cádmio sobre a sobrevivência de *S. trispinosa* foi o modelo da Adição da Concentração (AC). Esse modelo produziu uma soma dos quadrados dos resíduos (SS) de 59,76 ($p = 2,13 \times 10^{-63}$), com um coeficiente de determinação de 0,83 (Tabela 3). Após adicionar os parâmetros a e b ao modelo AC para descrever os desvios do tipo sinergismo/antagonismo (S/A), do tipo proporção da dose (DR) e do tipo nível da dose (DL), o melhor ajuste aos dados foi dado pelo desvio antagonístico (SS = 50,36; $R^2 = 0,86$; $p = 0,002$; $a = 1,83$), como pode ser visto no padrão dose-resposta da Figura 1.

Os resultados da interação do sulfato de cobre e cloreto de cádmio neste estudo são similares aos obtidos por Prato e Biandolino (2007) que avaliaram a toxicidade dos metais cobre e cádmio, individualmente e em misturas, sobre as larvas de *Mytilus galloprovincialis* (Ostreoida, Mytilidae) e observaram que para a mistura testada, após 48h, ocorreu uma resposta antagonica, assim como encontrado por Visvick e Rachlin (2001) que observaram que as concentrações efetivas da mistura de cobre e cádmio sobre o crescimento populacional da alga *Dunaliella minuta* (Chlorophyta, Chlorophyceae), indicavam que sua ação combinada é antagonica, além de reduzir o crescimento populacional em 50% após 96h de exposição.

Já Jonker et al. (2004), realizaram testes toxicológicos detalhados para determinar se os efeitos da mistura cobre-cádmio em *Caenorhabditis elegans* (Nematoda, Rhabditida) eram similares aos efeitos dos compostos desses metais isolados, e constataram que não ocorreram desvio sinérgico/antagônico, razão de dose dependente e/ou desvio dependente de nível de dose. Durante a exposição, o efeito do cádmio-cobre na reprodução mudou de um desvio sinérgico para um desvio dependente da razão da aditividade, sendo que mais cádmio na mistura diminuiu a toxicidade e mais cobre aumentou a toxicidade.

Qian et al. (2011) analisaram as relações entre a absorção de metais e as atividades das enzimas antioxidantes ou uma resposta à peroxidação lipídica da membrana da microalga *Chlorella vulgaris* (Chlorophyta, Chlorophyceae) exposta a compostos de Cu e Cd isoladamente e em combinação. Os resultados mostraram que a bioacumulação de um único metal foi influenciada pela presença do outro. As atividades de superóxido dismutase e

peroxidase aumentaram mais de cinco vezes e os níveis de malondialdeído aumentaram aproximadamente duas vezes em relação ao controle, após a exposição à mistura dos metais.

Em ecossistema terrestre, Lock e Jansen (2002) averiguaram que os resultados experimentais, para o Oligochaeta *Enchytraeus albidus* (Enchytraeidae), indicaram que as previsões de efeito baseadas no modelo de adição de concentração foram sempre superiores às obtidas com o modelo de ação independente. O efeito observado foi menor que o efeito predito pelo modelo de adição de concentração para as misturas dos metais cobre e cádmio. Esses autores concluíram que o modelo de adição de concentração representa um cenário de pior caso razoável para a avaliação de risco de misturas de metais nesse ecossistema.

Tabela 3. Resumo da análise do teste de toxicidade aguda feito com indivíduos de *Strandesia trispinosa* expostos às misturas de cobre (Cu) e cádmio Cd). max - valor da resposta máxima; β - declive da curva dose resposta de cada composto; CE₅₀ - concentração efetiva a 50%; a, b_{DR} e b_{DL} - parâmetros da função; SS - soma dos resíduos quadrados; R² - coeficiente de determinação; χ^2 ou teste F - testes estatísticos; df - grau de liberdade; e P (χ^2 ou teste F) - nível de significância do teste estatístico. AC é o modelo da adição de concentração, AI é o modelo da ação independente (modelos de referência), S/A é sinergismo ou antagonismo, DR é o desvio dependente da proporção da dose a partir do modelo de referência e DL é o desvio do nível da dose a partir do modelo de referência.

	AC	S/A	DR	DL	AI	S/A	DR	DL
Max	0,88	0,89	0,88	0,87	0,88	0,89	0,88	0,89
β_{Cu}	1,8	1,67	1,69	2,02	1,9	1,76	1,7	1,93
β_{Cd}	3,85	4,51	4,37	4,81	3,39	3,23	3,16	3,66
CE ₅₀ Cu	303,45	220,82	245,35	276,34	248,57	219,31	248,78	218,69
CE ₅₀ Cd	24,89	20,71	19,85	23,86	22,61	21,16	19,39	21
A	-	1,83	2,67	-0,002	-	0,85	3,14	-0,7
b _{DR/DL}	-	-	-1,99	268,23	-	-	-4,58	3,78
SS	59,76	50,36	50,1	56,78	53,97	53,45	52,53	52,6
R ²	0,83	0,86	0,86	0,84	0,85	0,85	0,85	0,85
χ^2 ou teste F	298,64	9,4	0,27	-6,42	304,43	0,53	1,45	1,38
Df	-	1	1	1	-	1	2	2
p (χ^2 /F)	$2,13 \times 10^{-63}$	0,002	0,61	NC	$1,20 \times 10^{-64}$	0,47	0,48	0,5

Figura 1. Isoblograma dos efeitos das misturas dos metais cobre e cádmio sobre o ostrácodo *Strandesia trispinosa*, mostrando um desvio antagonístico para os resultados de sobrevivência a partir do modelo AC.

3.2 Toxicidade da mistura de Sulfato de cobre x Cloreto de mercúrio

Em relação ao teste com a mistura sulfato de cobre e cloreto de mercúrio, o modelo que melhor explicou os efeitos sobre a sobrevivência de *S. trispinosa* também foi o modelo da Adição da Concentração (CA). O modelo CA produziu uma soma dos quadrados dos resíduos (SS) de 74,14 ($p = 8,85 \times 10^{-30}$), com um coeficiente de determinação de 0,66 (Tabela 4), e após a adição dos parâmetros a e b ao modelo CA para descrever os desvios do tipo sinergismo/antagonismo (S/A), do tipo proporção da dose (DR) e do tipo nível da dose (DL), o melhor ajuste aos dados foi dado pelo desvio DR (SS = 67,72; $R^2 = 0,69$; $p = 0,04$), como pode ser visto no padrão dose-resposta da figura 2. O valor positivo de “a” (7,63) e o valor negativo de “b” (-12,82) indicaram sinergismo quando o sulfato de cobre predominou na mistura e antagonismo quando o mercúrio predominou na mistura.

Fernández e Beiras (2001) também observaram que ocorrem efeitos antagônicos e levemente sinérgicos na toxicidade da mistura de cobre e mercúrio para o ouriço marinho *Paracentrotus lividus* (Camarodonta, Parechinidae). Já Macinnes e Calabrese (1980) verificaram efeitos combinados em 25% daqueles preditos por estrita aditividade para combinações de cobre e mercúrio para a ostra *Crassostrea virginica* (Bivalvia, Ostreidae) e Pereira et al. (1998) descreveram que as interações para misturas de cobre com mercúrio, para

as larvas da ostra-do-pacífico *Crassostrea gigas* (Bivalvia, Ostreidae), foram geralmente antagônicos, não se desviando, novamente, mais de 25% das previsões de modelo aditivo.

Jezierska e Sarnowski (2002) observaram que a mistura dos metais cobre e mercúrio reduziram a absorção de oxigênio pelos peixes *Cyprinus carpio* (Cypriniformes, Cyprinidae) e da truta arco-íris *Oncorhynchus mykiss* (Salmoniformes, Salmonidae). As larvas de *C. carpio* utilizaram apenas 0,34 mg O₂ h⁻¹g⁻¹ em comparação com 0,52 mg O₂ h⁻¹g⁻¹ utilizados no controle, enquanto que as larvas de *O. mykiss* consumiram 0,61 mg O₂ h⁻¹g⁻¹ em comparação com o valor de 0,72 mg O₂ h⁻¹g⁻¹ do controle. Ambas as diferenças foram estatisticamente diferentes. Esses autores concluíram que o cobre combinado com o mercúrio foi mais tóxico, para ambas as espécies, do que outras combinações de metais como cádmio e cobre e cádmio e mercúrio, e que esses metais agem apenas de maneira sinérgica, diferentemente do observado no presente estudo no qual também foi observada a ocorrência de efeito antagônico para a combinação de cobre e mercúrio sobre *S. trispinosa*.

Tabela 4. Resumo da análise do teste de toxicidade aguda feito com os indivíduos de *Strandesia trispinosa* expostos às misturas do cobre (Cu) e do mercúrio (Hg). max - valor da resposta máxima; β - declive da curva dose resposta de cada composto; CE₅₀ - concentração efetiva a 50%; a, b_{DR} e b_{DL} - parâmetros da função; SS - soma dos resíduos quadrados; R² - coeficiente de determinação; χ^2 ou teste F - testes estatísticos; df - grau de liberdade; e P (χ^2 ou teste F) - nível de significância do teste estatístico. AC é o modelo da adição de concentração, AI é o modelo da ação independente (modelos de referência), S/A é sinergismo ou antagonismo, DR é desvio dependente da proporção da dose a partir do modelo de referência e DL é o desvio do nível da dose a partir do modelo de referência.

	AC	S/A	DR	DL	AI	S/A	DR	DL
Max	0,98	0,98	0,98	0,98	0,86	0,98	0,98	0,98
β_{Cu}	1,01	0,95	0,93	0,85	1,45	0,9	0,83	0,95
β_{Hg}	0,47	0,56	0,72	0,41	0,33	0,39	0,62	0,46
CE ₅₀ Cu	110,85	96,23	131,99	103,07	223,86	125,21	131,4	120,25
CE ₅₀ Hg	35,36	27,76	16,71	30,06	157,97	36,3	18,53	31,97
A	-	1,24	7,63	4,15	-	1,74	4,47	-0,03
b _{DR/DL}	-	-	-12,82	0,5	-	-	-5,26	93,52
SS	74,14	73,55	67,72	70,4	72,97	68,33	66,18	68,39
R ²	0,66	0,66	0,69	0,67	0,66	0,68	0,69	0,68
χ^2 ou teste F	142,35	0,59	6,42	3,74	143,52	4,64	2,15	-0,06
Df	-	1	2	2	-	1	1	1
P (χ^2 / F)	$8,85 \times 10^{-30}$	0,44	0,04	0,15	$4,96 \times 10^{-30}$	0,03	0,14	NC

Figura 2. Isoblograma dos efeitos das misturas dos metais cobre e mercúrio sobre *Strandesia trispinosa*, mostrando um desvio da proporção da dose (DR) para a sobrevivência a partir do modelo AC.

3.3 Toxicidade da mistura de Sulfato de cobre x Sulfato de Manganês

O modelo que melhor explicou os efeitos das misturas do sulfato de cobre e do sulfato de manganês sobre a sobrevivência de *S. trispinosa* foi o modelo da Adição da Concentração (AC). O modelo AC produziu uma soma dos quadrados dos resíduos (SS) de 58,33 ($p = 1,60 \times 10^{-60}$), com um coeficiente de determinação de 0,83 (Tabela 5). Após adicionar os parâmetros a e b ao modelo AC para descrever os desvios do tipo sinergismo/antagonismo (S/A), do tipo proporção da dose (DR) e do tipo nível da dose (DL), o melhor ajuste aos dados foi dado pelo desvio DR (SS = 34,03; $R^2 = 0,90$; $p = 6,46 \times 10^{-6}$), como pode ser visto no padrão dose-resposta da figura 3. O valor positivo de “a” (2,62) e o valor negativo de “b” (-8,64) indicaram sinergismo quando houve predominância do sulfato de cobre na mistura e antagonismo quando o sulfato de manganês predominou na mistura.

A influência dos íons cobre (II) e manganês (II) também foi estudada isoladamente e em mistura sobre os teores de clorofila a e b e carotenóides da alga verde filamentosa *Cladophora glomerata* (Cladophorales, Cladophoraceae) por Pasichna (2017). As concentrações desses metais foram semelhantes às observadas em águas naturais e verificou-se que a influência combinada dos íons de cobre e de manganês ($0,5 \text{ mg L}^{-1} \text{ Cu}^{2+}$ e $5 \text{ mg L}^{-1} \text{ Mn}^{2+}$) resultou no aumento do teor de pigmentos dessa alga, e sob influência combinada de $10\text{-}20 \text{ µg L}^{-1} \text{ Cu}^{2+}$ e $100\text{-}200 \text{ µg L}^{-1} \text{ Mn}^{2+}$, no sistema de pigmentos, foi menos tóxica que sua

influência individual, explicado pelo antagonismo destes íons metálicos durante o processo acumulação pelas algas, assim como nesse estudo quando o manganês predominou na mistura.

Os efeitos tóxicos da interação entre diferentes metais foram investigados por Kobayashi e Okamura (2005) em bioensaios utilizando embriões do ouriço-do-mar *Anthocardis crassispina* e foi constatado que individualmente o metal zinco, assim como o manganês são os principais causadores de deformidades nos embriões dessa espécie e, quando em mistura, os efeitos do zinco são altamente intensificados pela ação dos metais manganês e cobre. Em uma avaliação da toxicidade aguda das misturas de cobre e zinco e de cobre e manganês sobre os juvenis do peixe *Agosia chrysogaster* Lewis (1978) constatou que a mistura de cobre e zinco foi mais tóxica, exibindo uma toxicidade mais do que aditiva em contraste com a toxicidade aditiva da mistura de cobre e manganês (96 h $LC_{50} = 0,45 \text{ mg l}^{-1}$ cobre e $64,0 \text{ mg l}^{-1}$ manganês).

Musibono e Day (1999) estudando as misturas de alumínio, cobre e manganês sobre a sobrevivência de juvenis de *Paramelita nigroculus* (Amphipoda, Paramelitidae) por meio de análises de risco e regressão múltipla, mostraram que quando a concentração de cada metal aumentou em $1 \mu\text{g L}^{-1}$, o risco de morte aumentou minimamente (1,000086). Por outro lado, as misturas de Al + Cu aumentaram o risco de morte em 2,6 vezes e quando adicionado o manganês a essa mistura (Al + Cu + Mn) o risco de morte de *P. nigroculus* aumentou em apenas 1,5 vezes, sugerindo que o Mn reduz o risco associado aos outros dois elementos, corroborando com esse estudo.

Tabela 5. Resumo da análise do teste de toxicidade aguda feito com os indivíduos *Strandesia trispinosa* expostos às misturas do cobre (Cu) e do manganês (Mn). max - valor da resposta máxima; β - declive da curva dose resposta de cada composto; CE_{50} - concentração efetiva a 50%; a, b_{DR} e b_{DL} - parâmetros da função; SS - soma dos resíduos quadrados; R^2 - coeficiente de determinação; χ^2 ou teste F - testes estatísticos; df - grau de liberdade; e P (χ^2 ou teste F) - nível de significância do teste estatístico. AC é o modelo da adição de concentração, AI é o modelo da ação independente (modelos de referência), S/A é sinergismo ou antagonismo, DR é desvio dependente da proporção da dose a partir do modelo de referência e DL é o desvio do nível da dose a partir do modelo de referência.

	AC	S/A	DR	DL	AI	S/A	DR	DL
Max	0,83	0,84	0,81	0,88	0,92	0,86	0,83	0,86
β_{Cu}	3,45	4	4	2,45	2,62	2,85	3,61	2,35
β_{Mn}	2,14	1,91	2,59	0,97	1,34	1,97	2,57	0,71
CE_{50} para Cu	263,4	344,18	441,66	281,08	210,29	248,66	390,29	270,87
CE_{50} para Mn	3908,97	4151,77	3721,47	4151,91	2498,47	3934,2	3468,89	3933,7
A	-	-1,38	2,62	4,28	-	-2,11	3,34	9,37
$b_{DR/DL}$	-	-	-8,64	1,27	-	-	-16,92	2,18
SS	58,33	54,38	34,03	47,28	59,02	54,77	36,01	44,16
R^2	0,83	0,84	0,9	0,86	0,83	0,84	0,9	0,87
χ^2 ou teste F	285,31	3,95	20,35	7,11	284,62	4,25	18,76	10,61
Df	-	1	1	1	-	1	1	1
p (χ^2 / F)	$1,60 \times 10^{-60}$	0,05	$6,46 \times 10^{-6}$	0,008	$2,24 \times 10^{-60}$	0,04	$1,49 \times 10^{-5}$	0,001

Figura 3. Isoblograma dos efeitos das misturas dos metais cobre e manganês sobre *S. trispinosa*, mostrando um desvio da proporção da dose (DR) para a sobrevivência a partir do modelo AC.

3.4 Toxicidade da mistura de Cloreto de cádmio x Cloreto de mercúrio

O modelo que melhor explicou os efeitos das misturas do cloreto de cádmio e do cloreto de mercúrio sobre a sobrevivência de *S. trispinosa* foi o modelo da Ação Independente (AI). O modelo AI produziu uma soma dos resíduos (SS) de 57,12 ($p = 5,26 \times 10^{-38}$), com um coeficiente de determinação de 0,76 (Tabela 6). Após adicionar os parâmetros a e b ao modelo AI para descrever os desvios do tipo sinergismo/antagonismo (S/A), do tipo proporção da dose (DR) e do tipo nível da dose (DL), o melhor ajuste aos dados foi dado pelo desvio sinérgico (SS = 53,14; $R^2 = 0,78$; $p = 0,04$; $a = -1,55$), como pode ser visto no padrão dose-resposta da Figura 4.

A toxicidade do mercúrio em combinação com cobre, chumbo e cádmio foi investigada por Fernández e Beiras (2001), onde os índices resultantes para estas combinações indicaram aditividade estrita. Assim, a toxicidade combinada em cada caso foi ligeiramente maior do que o previsto pelo modelo aditivo, sendo considerada, como neste estudo, como efeito sinérgico.

Efeitos aditivos foram observados em bivalves para misturas de cobre/prata (COGLIANESE; MARTIN, 1981) e manganês/molibdênio (MORGAN; MITCHELL; CHAPMAN, 1986). MacInnes (1980) encontraram efeitos combinados dentro de 25% dos previstos por estrita aditividade para combinações de mercúrio e cobre e de mercúrio e zinco, e uma interação sinérgica para uma mistura cobre e zinco. Vanegas et al. (1997) também encontraram sinergismo para uma mistura de zinco e cádmio para o camarão branco, *Penaeus setiferus*, e Pavicic (1980) encontrou antagonismo para embriões bivalves.

Interações descritas para misturas de mercúrio com cobre para as larvas de *Crassostrea gigas* foram antagônicas (PEREIRA et al., 1998), não se desviando mais de 25% das previsões do modelo aditivo. Além disso, a interação mudou dependendo das concentrações empregadas em combinação. MacInnes (1980) também descobriu que o grau de sinergismo aumentou à medida que as concentrações nas misturas aumentaram.

Tabela 6. Resumo da análise do teste de toxicidade aguda feito com os indivíduos de *Strandesia trispinosa* expostos às misturas do cádmio (Cd) e do mercúrio (Hg). max é o valor da resposta máxima; β é o declive da curva dose resposta de cada composto; CE_{50} é a concentração efetiva a 50%; a, b_{DR} e b_{DL} são os parâmetros da função; SS é a soma dos resíduos quadrados; R^2 é o coeficiente de determinação; χ^2 ou teste F são testes estatísticos; df é o grau de liberdade; e P (χ^2 ou teste F) é o nível de significância do teste estatístico. CA é o modelo da adição de concentração, IA é o modelo da ação independente (modelos de referência), S/A é sinergismo ou antagonismo, DR é desvio dependente da proporção da dose a partir do modelo de referência e DL é o desvio do nível da dose a partir do modelo de referência.

	AC	S/A	DR	DL	AI	S/A	DR	DL
Max	0,94	0,92	0,89	0,98	0,98	0,95	0,92	0,95
β_{Cd}	2,28	2,51	2,9	1,75	1,82	2,27	2,47	2,21
β_{Hg}	0,64	0,58	0,79	0,47	0,43	0,44	0,6	0,38
CE_{50} para Cd	13,89	18,36	24,23	15,44	14,64	17,32	19,39	18,17
CE_{50} para Hg	20,09	33,62	23,68	23,78	23,1	43,44	36,01	44,71
A	-	-2,63	1,04	0,02	-	-1,55	0,05	0,01
$b_{DR/DL}$	-	-	-6,1	109,16	-	-	-3,63	232,41
SS	64,25	56,06	53,3	56,03	57,12	53,14	51,97	53,38
R^2	0,73	0,76	0,78	0,76	0,76	0,78	0,78	0,78
χ^2 ou teste F	173,57	8,19	2,76	0,04	180,7	3,98	1,17	-0,24
Df	-	1	1	1	-	1	1	1
p (χ^2 / F)	$1,79 \times 10^{-36}$	0,004	0,09	0,85	$5,26 \times 10^{-38}$	0,04	0,28	NC

Fig. 4 Isobolograma dos efeitos das misturas dos metais cádmio e mercúrio sobre *Strandesia trispinosa*, mostrando um desvio sinérgico para a sobrevivência a partir do modelo AI.

4 CONCLUSÕES

Do ponto de vista ambiental, o principal objetivo em testes com misturas é prever a toxicidade das misturas de poluentes, em vez de classificar as combinações de substâncias tóxicas por seus tipos de interação. Para prever o impacto de efluentes poluídos por metais no ambiente aquático seria necessário testar não apenas misturas binárias, mas também combinações de três ou mais metais, ou mesmo combinações de metais com poluentes orgânicos. Esta abordagem torna-se cada vez mais difícil devido à multiplicação exponencial do número de grupos-teste com o aumento do número de produtos químicos em uma mistura (CASSEE et al., 1999). Além disso, os metais não só interagem entre si, mas sua toxicidade combinada também depende de fatores ambientais que afetam a especiação do metal (ex. pH, salinidade e, especialmente, os níveis e tipos de matéria orgânica dissolvida).

Os resultados dos efeitos da mistura de compostos metálicos sobre a espécie nativa *Strandesia trispinosa* (Ostracoda) obtidos neste estudo mostram a relevância dos efeitos danosos que compostos combinados possuem sobre a macrofauna bentônica. De acordo com o ajuste dos dados aos modelos de referência AC e AI, interações sinérgicas (cobre x mercúrio; cobre x manganês; cádmio x mercúrio) entre estes compostos metálicos podem ocorrer, principalmente quando o CuSO_4 é o composto que prepondera na mistura. Mesmo os efeitos tóxicos do composto CuSO_4 isolado ocorrerem em baixas concentrações (ver capítulo 1), este composto pode interagir com o mercúrio e o manganês, aumentando suas toxicidades sobre o ostrácodo *S. trispinosa*, representando um risco ambiental maior para essa espécie e para outras espécies não-alvo. Assim, uma vez que esses compostos metálicos são encontrados em mistura em ecossistemas aquáticos naturais, nossos resultados reforçam que as avaliações de risco ecológicos necessitam considerar a toxicidade de misturas, principalmente de compostos metálicos, com intuito de evitar a sub ou a sobre-estimação dos seus efeitos sobre a comunidade de ostrácodes e da fauna aquática de forma geral.

REFERÊNCIAS

- ADAM, N.; VAKUROV, A.; KNAPEN, D.; BLUST, R. The chronic toxicity of CuO nanoparticles and copper salt to *Daphnia magna*. **Journal of Hazardous Materials**, v. 283, p. 416-422, 2015.
- ALTENBURGER, R.; BACKHAUS, T.; BOEDEKER, W.; FAUST, M.; SCHOLZE, M. Simplifying complexity: mixture toxicity assessment in the last 20 years. **Environmental Toxicology and Chemistry**, v. 32, p. 1685-1687, 2013.
- BERGIN, F.; KUCUKSEZGIN, F.; ULUTURHAN, E.; BARUT, I. F.; MERIC, E.; AVSAR, N.; NAZIK, A. The response of benthic foraminifera and Ostracoda to heavy metal pollution in Gulf of Izmir (Eastern Aegean Sea). **Estuarine, Coastal and Shelf Science**, v. 66, n. 3-4, p. 368-386, 2006.
- BILAL, M.; ASGHER, M.; SHAHID, M.; BHATTI, H. N. Characteristic features and dye degrading capability of agar-agar gel immobilized manganese peroxidase. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 86, p. 728-740, 2016.
- BROOKS, A.; WHITE, R. M.; PATON, D. C. Effects of heavy metals on the survival of *Diacyptris compacta* (Herbst) (Ostracoda) from the Coorong, South Australia. **International Journal of Salt Lake Research**, v. 4, n. 2, p. 133-163, 1995.
- BUTLER, B. A.; RANVILLE, J. F.; ROSS, P. E. Direct versus indirect determination of suspended sediment associated metals in a mining-influenced watershed. **Applied Geochemistry**, v. 23, p. 1218-1231, 2008.
- CASSEE, F. R.; SUHNEL, J.; GROTEN, J. P.; FERON, V. Toxicology of chemical mixtures. In: BALLANTYNE, B.; MARRS, T.; SYVERSEN, T. (eds) **General and Applied Toxicology**, London: MacMillan, v. 1, 1999, pp. 303-319.
- COGLIANESE, M. P.; MARTIN, M. Individual and interactive effects of environmental stress on the embryonic development of the Pacific Oyster, *Crassostrea gigas*. I. The toxicity of copper and silver. **Marine Environmental Research**, v. 5, p. 13-27, 1981.
- CROCE, B.; STAGG, R. M.; EVERALL, N. C.; GROMAN, D. B.; MITCHELL, C. G.; OWEN, R. Ecotoxicological determination of Pigmented Salmon Syndrome. **Ambio**, v. 26, p. 505-510, 1997.
- EFSA - The European Food Safety Authority. **Guidance on tiered risk assessment for plant protection products for aquatic organisms in the edge-of-field surface waters**. EFSA J 11:3290, 2013.
- EFSA - The European Food Safety Authority. **Summary report, EFSA Scientific Colloquium No. 21. Harmonization of human and ecological risk assessment of combined exposure to multiple chemicals**. Edinburg, UK, 2014.
- FERNÁNDEZ, N.; BEIRAS, R. Combined toxicity of dissolved mercury with copper, lead and cadmium on embryogenesis and early larval growth of the *Paracentrotus lividus* sea-urchin. **Ecotoxicology**, v. 10, n. 5, p. 263-271, 2001.

FREITAS, E. C.; PINHEIRO, C.; ROCHA, O.; LOUREIRO, S. Can mixtures of cyanotoxins represent a risk to the zooplankton? The case study of *Daphnia magna* Straus exposed to hepatotoxic and neurotoxic cyanobacterial extracts. **Harmful Algae**, v. 31, p. 143-152, 2014.

HAVEL, J. E.; TALBOTT, B. L. Life history characteristics of the freshwater ostracod *Cyprinotus incongruens* and their application to toxicity testing. **Ecotoxicology**, v. 4, n. 3, p. 206-218, 1995.

INCE, N. H.; DIRILGEN, N.; APIKYAN, I. G.; TEZCANLI, G.; USTUN, B. Assessment of toxic interactions of heavy metals in binary mixtures: a statistical approach. **Archives of Environmental Contamination and Toxicology**, v. 36, p. 365-372, 1999.

JONKER, M. J.; PISKIEWICZ, A. M.; CASTELLÀ, N. I. I.; KAMMENG, J. E. Toxicity of binary mixtures of cadmium-copper and carbendazim-copper to the nematode *Caenorhabditis elegans*. **Environmental Toxicology and Chemistry**, v. 23, n. 6, p. 1529-1537, 2004.

JONKER, M. J.; SVENDSEN, C.; BEDAUX, J. J. M.; BONGERS, M.; KAMMENG, J. E. Significance testing of synergistic/antagonistic, dose-level dependent, or dose ratio dependent effects in mixture dose response analysis. **Environmental Toxicology and Chemistry**, v. 24, p. 2701-2713, 2005.

KHAN, F. R.; PAUL, K. B.; DYBOWSKA, A. D.; VALSAMI-JONES, E.; LEAD, J. R.; STONE, V.; FERNANDES, T. F. Accumulation dynamics and acute toxicity of silver nanoparticles to *Daphnia magna* and *Lumbriculus variegatus*: implications for metal modeling approaches. **Environmental Science & Technology**, v. 49, n. 7, p. 4389-4397, 2015.

KHANAL, R.; FURUMAI, H.; NAKAJIMA, F. Toxicity assessment of size-fractionated urban road dust using ostracod *Heterocypris incongruens* direct contact test. **Journal of Hazardous Materials**, v. 264, p. 53-64, 2014.

KHANGAROT, B. S.; DAS, S. Acute toxicity of metals and reference toxicants to a freshwater ostracod, *Cypris subglobosa* Sowerby, 1840 and correlation to EC50 values of other test models. **Journal of Hazardous Materials**, v. 172, n. 2-3, p. 641-649, 2009.

KHANGAROT, B. S.; RAY, P. K. Response of a freshwater ostracod (*Cypris subglobosa* Sowerby) exposed to copper at different pH levels. **Clean - Soil, Air, Water**, v. 15, n. 6, p. 553-558, 1987.

KOBAYASHI, N.; OKAMURA, H. Effects of heavy metals on sea urchin embryo development. Part 2. Interactive toxic effects of heavy metals in synthetic mine effluents. **Chemosphere**, v. 61, n. 8, p. 1198-1203, 2005.

KONG, I. C.; BITTON, G.; KOOPMAN, B.; JUNG, K. H. Heavy metal toxicity testing in environmental samples. **Reviews of Environmental Contamination and Toxicology**, v. 142, p. 119-149, 1995.

LAWRENCE, J. R.; PACKROFF, G.; NEU, T. R. Microscale evaluation of the effects of grazing by invertebrates with contrasting feeding modes on river biofilm architecture and composition. **Microbial Ecology**, v. 44, p. 199-207, 2002.

LEWIS, M. Acute toxicity of copper, zinc and manganese in single and mixed salt solutions to juvenile longfin dace, *Agosia chrysogaster*. **Journal of Fish Biology**, v. 13, n. 6, p. 695-700, 1978.

LOCK, K.; JANSSEN, C. R. Mixture toxicity of zinc, cadmium, copper, and lead to the potworm *Enchytraeus albidus*. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 52, n. 1, p. 1-7, 2002.

LOUREIRO, S. S. C, FERREIRA, A. L. G.; PINHEIRO, C.; RIBEIRO, F.; SOARES, A. M. V. M. Toxicity of three binary mixtures to *Daphnia magna*: comparing chemical modes of action and deviations from conceptual models. **Environmentl Toxicology and Chemistry**, v. 29, p. 1716–1726, 2010.

MACINNES, J. R.; CALABRESE, A. Response of embryos of the American oyster, *Crassostrea virginica*, to heavy metals at different temperatures. In: **Physiology and behaviour of marine organisms**. 1978. p. 195-202.

MACINNES, J. R. Response of embryos of the American Oyster, *Crassostrea virginica*, to heavy metals mixtures. **Marine Environmental Research**, v. 4, p. 217–27, 1980.

MEBANE, C. A.; DILLON, F. S.; HENNESSY, D. P. Acute toxicity of cadmium, lead, zinc, and their mixtures to stream-resident fish and invertebrates. **Environmental Toxicology and Chemistry**, v. 31, n. 6, p. 1334-1348, 2012.

MEYER, J. S.; FARLEY, K. J.; GARMAN, E. R. Metal Mixtures Modeling Evaluation Project: 1. Background. **Environmental Toxicology and Chemistry**, v. 34, p. 726-740, 2015a.

MEYER, J. S.; RANVILLE, J. F.; PONTASH, M.; GORSUCH, J. W.; ADAMS, W. J. Acute toxicity of binary and ternary mixtures of Cd, Cu, and Zn to *Daphnia magna*. **Environmental Toxicology and Chemistry**, v. 34, p. 799-808, 2015b.

MOREIRA, R. A.; DAAM, M. A.; VIEIRA, B. H.; SANCHES, A. L. M.; REGHINI, M. V.; MANSANO, A. S.; FREITAS, E. C.; ESPINDOLA, E. L. G.; ROCHA, O. Toxicity of abamectin and difenoconazole mixtures to a Neotropical cladoceran after simulated run-off and spray drift exposure. **Aquatic Toxicology**, v. 185, p. 58-66, 2017.

MORGAN, J. D.; MITCHELL, D. G.; CHAPMAN, P. M. Individual and combined toxicity of manganese and molybdenum to mussel, *Mytilus edulis*, larvae. **Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology**, v. 37, p. 303–7, 1986.

MUSIBONO, D. E.; DAY, J. A. The effect of Mn on mortality and growth in the freshwater amphipod *Paramelita nigroculus* (Barnard) exposed to a mixture of Al and Cu in acidic waters. **Water Research**, v. 33, n. 1, p. 207-213, 1999.

OKAMOTO, A.; YAMAMURO, M.; TATARAZAKO, N. Acute toxicity of 50 metals to *Daphnia magna*. **Journal of Applied Toxicology**, v. 35, n. 7, p. 824-830, 2015.

PASICHNA, O. O. Content of Pigments in *Cladophora glomerata* under the Influence of Copper (II) and Manganese (II) Ions in the Aquatic Environment. **Hydrobiological Journal**, v. 53, n. 1, 2017.

PAVICIC, J. Interaction of Cd and Zn in relation to oxygen consumption in early stages of marine bivalve molluscs. **V Journées d'Études des Pollutions**, Cagliari C.I.E.S.M., p. 627–34, 1980.

PEREIRA, S.A.; NASCIMENTO, A.; SMITH, H.; LEITE, N. L.; DE ARAUJO, M. S.; SILVA, A. The combined effects of temperature and metals copper, zinc and mercury on the embryological development of the mangrove oyster, *Crassostrea rhizophorae*. **Ecotoxicology and Environmental Restoration**, v. 1, n. 1, p. 21-32, 1998.

PRATO, E.; BIANCOLINO, F. Combined toxicity of mercury, copper and cadmium on embryogenesis and early larval stages of the *Mytilus galloprovincialis*. **Environmental Technology**, v. 28, n. 8, p. 915-920, 2007.

QIAN, H.; LI, J.; PAN, X.; SUN, L.; LU, T.; RAN, H.; FU, Z. Combined effect of copper and cadmium on heavy metal ion bioaccumulation and antioxidant enzymes induction in *Chlorella vulgaris*. **Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology**, v. 87, n. 5, p. 512, 2011.

RIMET, F.; BOUCHEZ, A. Use of diatom life-forms and ecological guilds to assess pesticide contamination in rivers: Lotic mesocosm approaches. **Ecological Indicators**, v. 11, p. 489-499, 2011.

RINDERHAGEN, M.; RITTERHOFF, J.; ZAUKE, G. Crustaceans as bioindicators. In: Biomonitoring of Polluted Water-Reviews on Actual Topics. **Trans Tech Publications-Scitech Publications**. Environmental Research Forum., 2000, pp. 161-194.

SCHUTZENDUBEL, A.; POLLE, A. Plant responses to abiotic stresses: heavy metal induced oxidative stress and protection by mycorrhization. **Journal of Experimental Botany**, v. 53, p. 1351-1365, 2002.

SCOCCHIANTI, V.; IACOBUCCI, M.; PAOLETTI, M. F.; FRATERNALE, A.; SPERANZA, A. Species dependent chromium accumulation, lipid peroxidation, and glutathione levels in germinating kiwifruit pollen under Cr (III) and Cr (VI) stress. **Chemosphere**, v. 73, p. 1042-1048, 2008.

SEVILLA, J. B.; NAKAJIMA, F.; KASUGA, I. Comparison of aquatic and dietary exposure of heavy metals Cd, Cu, and Zn to benthic ostracod *Heterocypris incongruens*. **Environmental Toxicology and Chemistry**, v. 33, n. 7, p. 1624-1630, 2014.

SHUHAIMI-OTHMAN, M.; YAKUB, N.; RAMLE, N. A.; ABAS, A. Toxicity of metals to a freshwater ostracod: *Stenocypris major*. **Journal of Toxicology**, v. 2011, 2011.

VANEGAS, C.; ESPINA, S.; BOTELLO, A. V.; VILLANUEVA, S. Acute toxicity and synergism of cadmium and zinc in white shrimp, *Penaeus setiferus*, juveniles. **Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology**, v. 58, p. 87-92, 1997.

VISVIKI, I.; RACHLIN, J. W. The toxic action and interactions of copper and cadmium to the marine Alga *Dunaliella minuta*, in both acute and chronic exposure. **Archives of Environmental Contamination and Toxicology**, v. 20, n. 2, p. 271-275, 1991.

WALKER, C. H.; HOPKIN, S. P.; SIBLY, R. M.; PEAKALL, D. B. **Principles of Ecotoxicology**. Taylor & Francis, London, UK, 1996, 386p.

WANG, Z. S.; KONG, H. N.; WU, D. Y. Acute and chronic copper toxicity to a saltwater cladoceran *Moina monogolica* daday. **Archives of Environmental Contamination and Toxicology**, v. 53, p. 50-56, 2007.

ZHU, X.; VENOSA, A.; SUIDAN, M. T.; LEE, K. **Guidelines for the remediation of marine shorelines and freshwater wetlands**. US Environmental Protection Agency, USA, 2001.

Capítulo 3

Alterações nas taxas de alimentação e seletividade alimentar de ninfas de *Tramea cophisa* (Odonata, Libellulidae) e adultos de *Chlamydotheca* sp. (Ostracoda, Cyprididae) quando expostos a metais

Resumo

A predação é conhecida por desempenhar um papel proeminente na manutenção da estrutura e funcionamento dos ecossistemas. Apesar de substâncias químicas como os metais que são conhecidas por afetar potencialmente a predação em ecossistemas aquáticos, poucos estudos foram conduzidos até agora avaliando a interação de predação. No presente estudo, os efeitos de quatro metais (cobre, cádmio, mercúrio e manganês) sobre a taxa de predação e seletividade alimentar da libélula *Tramea cophisa* e do ostrácode *Chlamydotheca* sp. foram averiguados em testes de toxicidade laboratorial. A seletividade alimentar foi avaliada oferecendo quatro e três diferentes presas para estes organismos, respectivamente. A taxa de predação de *T. cophisa* diminuiu em comparação com os controles após exposição aos os metais, exceto manganês. Em contraste, as taxas de predação de *Chlamydotheca* sp. aumentaram após exposição aos metais. Essas diferenças na resposta foram explicadas pelas diferenças nos traços da história de vida desses dois organismos. Ambos preferiram os organismos menos ágeis de corpo mole (Oligochaeta e Chironomidae) em comparação aos crustáceos que habitam a água e que provavelmente são mais difíceis de serem atacados. Testes que avaliam os efeitos de metais e outros produtos químicos no comportamento de predação podem ajudar a aumentar nossa compreensão dos mecanismos da cadeia alimentar subjacentes ao estresse químico.

Palavras-chave: Toxicidade de metais, invertebrados, alteração comportamental.

Abstract

Predation is known to play a prominent role in maintaining ecosystem structure and functioning. Despite that chemicals like metals are known to potentially affect predation in aquatic ecosystems, few studies have so far been conducted evaluating the interaction predation. In the present study, the effects of four metals (copper, cadmium, mercury and manganese) on the predation rate and food preference of the dragonfly *Tramea cophysa* and the ostracod *Chlamydotheca* sp. was studied in laboratory toxicity tests. Food preference was evaluated by offering four and three different prey to these organisms, respectively. The predation rate of *T. cophysa* decreased in comparison with controls after exposure to the metals, except manganese. Contrastingly, predation rates of *Chlamydotheca* sp. increased after metal exposure. This difference in response was explained by differences in life-history traits of these two organisms. Both organisms preferred less mobile, soft-bodied organisms (Oligochaeta and Chironomidae) over water-dwelling crustaceans that are likely to be more difficult to prey upon. Tests evaluating the effects of metals and other chemicals on predation behavior may aid in increasing our understanding of food-web mechanisms underlying chemical stress.

Keywords: Metal toxicity, aquatic invertebrates, predation behavior, behavior changes.

1 INTRODUÇÃO

Embora os ecossistemas aquáticos apresentem capacidade finita de autodepuração (CLARK, 1992), eles continuam sendo os principais receptores de poluentes e contaminantes introduzidos de forma direta na água por meio dos efluentes ou indiretamente pela lixiviação e/ou pela precipitação (LAILSON-BRITO et al., 2009). As atividades agrícolas, assim como o despejo de efluentes domésticos e industriais sem tratamento adequado, provocam um considerável aumento de diversas substâncias potencialmente nocivas ao ambiente, como, por exemplo, de metais (THORNTON, 1995), que são considerados um dos poluentes mais comuns nos ecossistemas aquáticos, seja de origem natural ou antrópica (CORBI et al., 2006).

A captura de presas faz parte do comportamento de forrageamento de um animal predador, podendo determinar a distribuição de uma metacomunidade, assim como o comportamento das presas (GRAINGER et al., 2017). Durante o ato de forrageamento, o animal realiza, além das percepções sensoriais (THETMEYER; KILS, 1995), algumas ações determinantes para o sucesso de captura, tais como: encontrar, escolher, capturar, manipular e ingerir ou rejeitar a presa (KIMBELL; MORRELL, 2015). No entanto, os poluentes podem alterar essas ações, implicando em algumas consequências, tais como a redução do forrageamento e a diminuição da aquisição de recursos alimentares (WALKER, 2012).

A diminuição do consumo de alimento parece ser uma resposta geral à exposição a contaminantes (MCWILLIAM; BAIRD, 2002) e estudos realizados por Smith e Weis (1997) e Weis et al., (2003) comprovaram que os metais cádmio, mercúrio, zinco e o composto bifenila policlorada (PCBs) interferem nas habilidades dos peixes da espécie *Fundulus heteroclitus* (Linnaeus, 1766) de capturarem as presas, na seleção alimentar e no tempo de manipulação da presa, resultando, dessa forma, na redução da quantidade de alimento ingerido.

Hatch e Burton (1999) e Forrow e Maltby (2000) relataram que espécies de crustáceos, tais como *Gammarus pulex* e *Hyalomma azteca*, são atualmente utilizadas, tanto em laboratório como em estudos de campo, para detectar a contaminação de metais e pesticidas na coluna de água ou no sedimento, sendo avaliadas para isso suas taxas de alimentação e Weis et al. (2001) sugeriram que o sucesso na captura de presas pode ser utilizado como um biomarcador comportamental, sendo ecologicamente expressivo, uma vez que pode ser utilizado na avaliação dos possíveis efeitos dos poluentes sobre a visão, a captura, a natação e a resistência natatória, parâmetros muito relevantes na ecotoxicologia para a identificação de efeitos subletais nas populações aquáticas.

Os insetos da ordem Odonata têm sido recentemente sugeridos como ferramentas chave para as avaliações ambientais (VALENTE-NETO et al., 2016; MIGUEL et al., 2017) por desempenharem um papel importante na dinâmica dos ecossistemas aquáticos (COSTA; IDE; SIMONKA, 2006) e por serem considerados como um dos principais predadores nas cadeias tróficas em corpos de água doce, tanto na fase de ninfa como na fase adulta (OLIVEIRA; TAKEUCHI; SERUTTI, 2013). Sua dieta pode envolver desde invertebrados (principalmente outros insetos) até pós-larvas de peixes e anfíbios com um tamanho adequado para sua ingestão (CORBET, 1999; SOARES; HAYASHI; FARIA, 2001; FULAN; DOS ANJOS, 2015). Além disso, devido a sua estreita relação com o sedimento, eles podem acumular mais metais do que outros invertebrados pertencentes à coluna de água (CORBI; TRIVINHO-STRIXINO; SANTOS, 2008), podendo inclusive serem utilizados como indicadores da contaminação de metais (WAYLAND; CROSLEY, 2006).

Além dos insetos da ordem Odonata, os microcrustáceos da ordem Ostracoda são invertebrados com estreita relação ao sedimento, sendo a maioria das espécies de hábito alimentar detritívoro, alimentando-se de matéria orgânica em decomposição (MARTENS, 1995), mas podendo ser também filtradores e predadores (BARNES, 1995). Campbell (1995) observou que a espécie de Ostracoda *Australocypris insularis* é predadora do zooplâncton, chegando a comprometer a densidade de pequenos copépodos como *Calamoecia clitellata* e *C. salina* e de outros ostrácodas como *Diacypris compacta* e *D. dietzi*. De acordo com Duleba et al. (2005), diversas espécies dessa ordem são estenobióticas, ou seja, sensíveis às variações do ambiente, o que permite diagnosticar condições físicas e químicas da água, sendo consideradas boas indicadoras ambientais. São organismos sensíveis a contaminação por pesticidas (ROCHA et al., 2018), à poluição por metais e a poluentes relacionados a derramamentos de óleo (KHANGAROT; DAS, 2009; RUIZ et al., 2013).

A sensibilidade de espécies de Odonata e de Ostracoda aos poluentes tem sido muito pouco estudada (SLOOF, 1983; CORREA; COLER; YIN, 1985; MEYER; HARISCH; SAGREDOS, 1986; KHANGAROT; RAY, 1987; ROCKWOOD; JONES; COLER, 1990; HAVEL; TALBOT, 1995; KHANGAROT; DAS, 2009; SHUHAIMI-OTHMAN et al., 2011), apesar de sua reconhecida relevância funcional nos ecossistemas aquáticos. Com isso, o objetivo desse estudo foi avaliar os efeitos isolados de quatro metais, amplamente conhecidos por atuarem como poluentes em ecossistemas aquáticos (cobre, cádmio, manganês e mercúrio) sobre as ninfas de *Tamea cophysa* (Libellulidae, Odonata) e adultos de *Chlamydotheca* sp. (Ostracoda, Cyprididae), utilizando como parâmetros a intensidade de predação e a seletividade alimentar, esperando-se que esses *endpoints* sejam afetados negativamente.

2 MATERIAIS E MÉTODOS

2.1 Organismos-teste e condições de cultura

As ninfas de *Tramea cophysa* foram coletadas no reservatório da Mayaca, localizado no município de São Carlos, SP, Brazil (21° 01' S, 47° 53' W). Trata-se de um pequeno reservatório raso inserido em uma área de preservação permanente (ALBUQUERQUE, 1990). Os ostrácodes *Chlamydotheca* sp. foram coletados em tanques de 1000 litros na Estação de Piscicultura do Departamento de Hidrobiologia da Universidade Federal de São Carlos (Apêndices A e C). No laboratório, os organismos foram mantidos em bandejas plásticas de 29 cm (largura) x 34 cm (comprimento) x 6,7 cm (altura) e aclimatados às condições dos testes, utilizando água reconstituída. As ninfas de *T. cophisa* foram alimentadas com larvas do díptero *Chironomus inquinatus* e com náuplios de *Artemia franciscana* (Crustacea, Anostraca) e os indivíduos de *Chlamydotheca* sp. foram alimentados *ad libitum* com uma densa suspensão de *Chlorella sorokiniana* ($\approx 10^8$ células L⁻¹) que continha diferentes tipos de microinvertebrados e protozoários.

2.2 Taxa de predação e seletividade alimentar

Para os testes de predação e de seletividade alimentar, 80 ninfas de *T. cophisa* (tamanho médio de 8,54 mm de comprimento $\pm$ 2,88 mm) e 80 indivíduos adultos de *Chlamydotheca* sp. (tamanho médio de 4,32 mm de comprimento $\pm$ 0,59 mm) foram expostos por 24 horas a concentrações subletais correspondentes a CL₁, CL₅, CL₁₀ e CL₂₀, calculadas através do programa estatístico PriProbit, do sulfato de cobre (CuSO₄), do cloreto de cádmio (CdCl₂), do cloreto de mercúrio (HgCl₂) e do sulfato de manganês (MnSO₄) (Tabela 1), além do controle contendo somente água reconstituída, utilizando-se quatro réplicas em recipientes com 8 cm de altura e 11 cm de diâmetro (Apêndice E) para cada tratamento, as quais foram preenchidas com 200 mL de solução-teste. Nesta fase de exposição, nenhum alimento foi oferecido a *T. cophysa* e *Chlamydotheca* sp. Após as 24 horas de exposição, os indivíduos foram transferidos para recipientes iguais, contendo apenas água reconstituída, com 200 mL para cada réplica, e as seguintes presas:

(a) cinco espécimes de cada presa para *Tramea cophysa*:

- *Ilyocryptus spinifer* (Crustacea, Ilyocryptidae);
- *Artemia franciscana* (Crustacea, Artemiidae);
- *Chironomus inquinatus* (Diptera, Chironomidae);
- *Dero furcatus* (Annelida, Randiellidae)

(b) quatro espécimes de cada presa para *Chlamydotheca* sp:

- *Ilyocryptus spinifer* (Crustacea, Ilyocryptidae);
- *Artemia franciscana* (Crustacea, Artemiidae);
- *Chironomus inquinatus* (Diptera, Chironomidae).

Os predadores ficaram juntos com as presas durante 24 horas e os ensaios foram realizados sob condições controladas e constantes em câmara incubadora da marca CATEL, sob fotoperíodo de 16 h de luz e 8 h de escuro, temperatura da água de 25 ± 1 °C, dureza total da água variando entre 160 e 240 mg CaCO₃ L⁻¹, condutividade elétrica variando entre 150 e 180 µS cm⁻¹ e pH entre 7,0 e 7,5.

Tabela 1 - Concentrações-teste dos compostos sulfato de cobre, cloreto de cádmio, cloreto de mercúrio e sulfato de manganês, as quais as ninfas de *Tramea cophysa* (Odonata, Libellulidae) e os adultos de *Chlamydotheca* sp. (Ostracoda, Cyprididae) foram expostos por 24 horas. As concentrações testadas correspondem aos valores do controle e os valores das CL₁, CL₅, CL₁₀ e CL₂₀ obtidos nos testes de toxicidade aguda de cada metal para ambas as espécies.

Composto	Concentrações de exposição (µg L ⁻¹)	
	<i>Tramea cophysa</i>	<i>Chlamydotheca</i> sp.
CuSO ₄	0; 100; 170; 220; 300	0; 60; 105; 140; 190
CdCl ₂	0; 90; 170; 240; 360	0; 3; 6; 11; 22
HgCl ₂	0; 25; 60; 110; 220	0; 14; 44; 55; 170
MnSO ₄	0; 247000; 265000; 276000; 290000	0; 27540; 32726; 36000; 40388

2.3 Análise dos dados

A existência ou não da predação e o grau de seletividade alimentar por parte das espécies predadoras selecionadas foram obtidos pelo Índice de Eletividade de Ivlev (IVLEV, 1961), o qual foi calculado pela seguinte equação: $E = (ri - Pi) / (ri + Pi)$, onde: E é o índice de eletividade, *ri* é a abundância relativa de cada item no conteúdo estomacal e *Pi* é a abundância

relativa de cada item no meio após o consumo. Os valores do índice variam de -1 a +1, sendo que os valores iguais a zero indicam seletividade nula, valores menores do que zero indicam rejeição pelo item alimentar e valores maiores do que 0 denotam seleção positiva (HARRISSON; BRADLEY; HARRIS, 2005). Para análise dos dados bióticos, todos os valores de abundância das presas no teste foram logaritimizados ($\log x+1$). Uma matriz utilizando os resultados do teste de similaridade de Bray-Curtis foi construída e, a partir desta, foi realizada uma análise de variância multivariada permutacional (PERMANOVA) para a comparação dos resultados obtidos nos experimentos. A comparação entre as concentrações testadas e os controles foi realizada por meio da análise de variância (ANOVA), utilizando o programa estatístico BioEstat 5.0.

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1 Taxa de predação

A análise do consumo das presas por *T. cophysa* evidenciou que, nos testes com o sulfato de cobre, os organismos expostos a todas as concentrações testadas apresentaram diminuição ($p < 0,05$) na taxa de predação em relação ao teste-controle. Para o cloreto de cádmio, houve diminuição na taxa de predação em relação ao controle apenas nas concentrações de 170 e 360 $\mu\text{g L}^{-1}$. Para as ninfas expostas ao cloreto de mercúrio, apenas na concentração de 25 $\mu\text{g L}^{-1}$ não foi observada diminuição na taxa de predação. Por outro lado, para as ninfas expostas ao sulfato de manganês, nenhuma diferença estatística na taxa de predação foi observada para todas as concentrações testadas em relação ao controle (Tabela 2). Na comparação entre o consumo total de presas por parte do organismo teste exposto previamente aos metais, foram observadas diferenças estatísticas apenas em relação ao consumo de *I. spinifer* ($p = 0,03$) e de *D. furcatus* ($p = 0,0401$). Em relação ao consumo de *A. franciscana* ($p = 0,8875$) e de *C. inquinatus* ($p = 0,2656$) não foram observadas diferenças significativas nas taxas de consumo destas presas.

Um comportamento alimentar voraz de *T. cophysa* foi observado, com perseguição e ataque às presas na primeira hora, possivelmente devido à restrição alimentar que as ninfas experimentaram durante as 24 horas de exposição aos metais. Tomazelli Jr et al. (2011) também observaram esse comportamento para as ninfas de *Neuraeschna* sp. (Odonata, Aeshnidae) quando foi oferecido larvas de *Cyprinus carpio* (Cypriniformes, Cyprinidae) como alimento.

McGrinty (1980) também observou diminuição na taxa de predação em testes com ninfas de *Pantala* sp. (Odonata, Libellulidae) que consumiram 100% das larvas de *Ictalurus punctatus* (Siluriformes, Ictaluridae) nos testes-controles, mas no tratamento químico consumiram 85% das larvas de *I. punctatus*. Assim como Tave et al. (1990) que observaram que ocorreram diferenças na predação das larvas de *Ictalurus punctatus* por ninfas de Odonata, em tanques com tratamento do químico metil paration (inseticida organofosforado) em relação ao controle sem a contaminação. Esses autores constataram que a sobrevivência das larvas de *I. punctatus* nos tanques com tratamento foi de 79 a 98% e nos tanques-controle as ninfas de libélula consumiram 100% das larvas dos peixes. Tomazelli Jr et al. (2011) também observaram uma redução na predação de *Neuraeschna* sp sobre os alevinos de *Cyprinus carpio* quando as ninfas foram expostas ao extrato de *Melia azedarach* (Meliaceae). Nesses testes de predação foram observadas lentidão nos movimentos das ninfas de *Neuraeschna* sp. expostas ao extrato vegetal em relação ao controle.

Tabela 2 - Taxa de predação e consumo de presas (cinco presas por réplica) por ninfas de *Tramea cophysa* sem exposição prévia (controle: 0,0 mg L⁻¹) e com exposição por 24 h ao sulfato de cobre, cloreto de cádmio, cloreto de mercúrio e sulfato de manganês. *p*: Os valores em negrito indicam diferenças significativas entre as concentrações-teste e o controle.

Metal	Concentração	Número de presas totais consumidas					Predação	<i>p</i>
	µg L ⁻¹	<i>I. spinifer</i>	<i>A. franciscana</i>	<i>C. inquinatus</i>	<i>D. furcatus</i>	Total	(%)	
CuSO ₄	Controle	17	17	18	19	71	88,75	----
	100	10	14	13	16	53	66,25	0.0059
	170	8	17	14	16	55	68,75	0.0239
	220	10	11	14	16	51	63,75	0.0065
	300	8	7	12	14	41	51,25	0.001
CdCl ₂	Controle	11	15	20	20	66	82,5	----
	90	9	13	20	20	62	77,5	0.6068
	170	5	13	13	18	49	61,25	0.0102
	240	10	13	16	17	56	70	0.1449
	360	7	11	14	18	50	62,5	0.0209
HgCl ₂	Controle	16	16	14	20	66	82,5	----
	25	13	13	14	19	59	73,75	0.0708
	60	12	12	12	18	54	67,5	0.0059
	110	13	11	13	15	52	65	0.0072
	220	12	9	14	16	51	63,75	0.0040
MnSO ₄	Controle	13	14	14	16	57	71,25	----
	247000	13	12	15	15	55	68,75	0.7763
	265000	16	14	18	18	66	82,5	0.1282
	276000	10	8	16	14	48	60	0.1517
	290000	13	12	10	12	47	58,75	0.0686

Para o ostrácode *Chlamydotheca* sp, a taxa de predação variou entre 18,75 e 56,25% quando essa espécie foi exposta ao sulfato de cobre. A partir da concentração de 105 µg L⁻¹, houve um aumento significativo no consumo das presas em relação ao controle. Quando expostos ao cloreto de cádmio, a amplitude do consumo de presas de *Chlamydotheca* sp ficou entre 43,75 e 58,33%, sendo que apenas a concentração de 11 µg L⁻¹ apresentou um aumento ($p < 0,05$) no consumo das presas em relação ao controle. A taxa de predação variou entre 31,25 e 54,17% na exposição ao cloreto de mercúrio, sendo as concentrações de 14, 55 e 170 µg L⁻¹ maiores ($p < 0,05$) do que àquela observada no controle. Em todas as concentrações testadas para o sulfato de manganês, houve um aumento da taxa de predação ($p < 0,05$) em relação ao controle (Tabela 3). Para o consumo total de presas de *Chlamydotheca* sp. previamente exposta aos diferentes metais testados houve diferença significativa apenas em relação ao consumo de

C. inquinatus ($p = 0,0405$), não sendo observada diferença estatística para as presas *I. spinifer* ($p = 0,5567$) e *A. franciscana* ($p = 0,0926$).

Diferentemente de *T. cophysa*, as taxas de predação de *Chlamydotheca* sp. aumentaram na maioria das concentrações, em relação ao controle, à medida que as concentrações aumentaram. Murugan et al. (2015) também observaram um aumento na taxa de predação do copépodo *Mesocyclops longisetus* (Copepoda, Cyclopidae) sobre as larvas de *Culex quinquefasciatus* (Diptera, Culicidae) em testes com nanopartículas de prata sintetizadas por *Caulerpa scalpelliformis* (Caulerpaceae). A eficiência predatória do copépodo no controle foi de 59 a 78% quando alimentado com larvas de *C. quinquefasciatus* do primeiro e segundo instares, enquanto que no tratamento com as nanopartículas a eficiência predatória aumentou para 63 a 84%. Kraus e Kraus (1986) observaram uma maior taxa de predação em testes com cloreto de mercúrio ($0,01 \text{ mg L}^{-1}$) e cloreto de metilmercúrio ($0,10 \text{ mg L}^{-1}$) para o predador *Fundulus heteroclitus* (Cyprinodontiformes, Fundulidae) sobre a presa *Palaemonetes pugio* (Decapoda, Palaemonidae). Nesses testes, mais presas foram capturadas nos tratamentos com o cloreto de mercúrio e com o cloreto de metilmercúrio do que quando comparados nos testes-controle.

Os compostos químicos também podem causar alterações indiretas nas taxas de predação, como observado por Pearson et al. (1981), onde o predador *Cancer magister* (Decapoda, Cancridae) consumiu um maior número das presas *Protothaca staminea* (Mollusca, Veneridae) em um experimento com areia contaminada com óleo em relação ao controle sem a contaminação. Nesse experimento, as presas *P. staminea* não conseguiram penetrar rapidamente na areia contaminada com o óleo, ficando superficialmente enterradas. A cobertura superficial dos organismos e a lenta entrada na areia com a presença do óleo levaram a um aumento da predação desses organismos por meio do aumento da acessibilidade dos caranguejos *C. magister* às suas presas.

Tabela 3 - Taxa de predação e consumo total de presas (quatro presas por réplica) por *Chlamydotheca* sp. sem exposição prévia (controle: 0,0 mg L⁻¹) e com exposição por 24 h ao sulfato de cobre, cloreto de cádmio, cloreto de mercúrio e sulfato de manganês. *p*: Os valores em negrito indicam diferenças significativas entre as concentrações-teste e o teste-controle.

Metal	Concentração	Número de presas totais consumidas			Predação		<i>P</i>
	µg L ⁻¹	<i>I. spinifer</i>	<i>A. franciscana</i>	<i>C. inquinatus</i>	Total	(%)	
CuSO ₄	Controle	2	3	6	11	22,92	----
	60	2	4	3	9	18,75	0,5549
	105	7	3	9	19	39,58	0,0260
	140	8	8	9	25	52,08	0,0118
	190	8	8	11	27	56,25	0,0028
CdCl ₂	Controle	6	5	10	21	43,75	----
	3	7	6	13	26	54,17	0,1193
	6	6	5	14	25	52,08	0,2521
	11	9	4	15	28	58,33	0,0312
	22	9	7	9	25	52,08	0,1885
HgCl ₂	Controle	5	1	9	15	31,25	----
	14	8	5	13	26	54,17	0,0077
	44	5	2	13	20	41,67	0,0925
	55	10	4	12	26	54,17	0,0313
	170	9	3	13	25	52,08	0,0193
MnSO ₄	Controle	1	5	6	12	25	----
	27540	5	6	11	22	45,83	0,0085
	32726	9	5	10	24	50	0,0059
	36000	6	5	11	22	45,83	0,0272
	40388	9	6	13	28	58,33	0,0018

A baixa taxa de predação por *Chlamydotheca* sp. de 18,75% (60 µg L⁻¹ de CuSO₄) a 58,33% (11 µg L⁻¹ de CdCl₂) em relação a *T. cophysa*, que teve a menor taxa de predação de 51,25% (300 µg L⁻¹ de CuSO₄), pode estar relacionada com o comportamento alimentar de cada espécie. Segundo Vannier e Ikuta (1998), os ostrácodes são capazes de ingerir grandes quantidades de alimento em poucos minutos e sobreviver por várias semanas sem se alimentar. Suhling, Martens e Suhling (2017) relatam também que as características visuais e estruturais do habitat podem afetar os aspectos biológicos e fisiológicos de um organismo, especialmente quando se refere ao comportamento, afetando a eficiência do consumo de presas pelos predadores e a habilidade de dispersão. Este fato pode explicar a baixa eficiência de predação de *Chlamydotheca* sp. neste estudo, não afetando, porém, o comportamento das odonatas. Além disso, Williams et al. (2015) afirmaram que os ostrácodos podem adotar estratégias de proteção, como o fechamento temporário de suas válvulas, facilitando a sua proteção em condições momentâneas predominantemente prejudiciais, mas diminuindo seu tempo de predação. A

comparação entre as taxas médias de predação dos Odonata *T. cophysa* e dos Ostracoda *Chlamydotheca* sp. encontra-se na Figura 1.

Figura 1 - Comparação entre as taxas médias de predação da Odonata *Tramea cophysa* e do Ostracoda *Chlamydotheca* sp. quando expostos ao sulfato de cobre, ao cloreto de cádmio, ao cloreto de mercúrio e ao sulfato de manganês. O eixo y está representado em valores decimais da porcentagem máxima de consumo de presas (1= 100%).

3.2 Taxa de predação por item oferecido (Índice de eletividade de Ivlev)

Em relação ao consumo (expresso em porcentagem) de cada item oferecido, verificou-se que, para as ninfas de *T. cophysa* expostas ao controle, *Dero furcatus* foi a espécie mais consumida em todos os compostos testados (95% para o CuSO₄; 100% para o CdCl₂ e o HgCl₂ e 80% para o MnSO₄). As ninfas de *T. cophysa* apresentaram um alto índice de preferência por essa presa, tendo o menor consumo (60%) na maior concentração testada para o sulfato de manganês (290000 µg L⁻¹). As larvas de *Chironomus inquinatus* também foram altamente selecionadas, com valores de consumo de 50% (na concentração de 290000 µg L⁻¹ de MnSO₄) a 100% (no controle e na concentração de 90 µg L⁻¹ de CdCl₂) (Figura 2). O Índice de Eletividade de Ivlev (IEI) confirmou a preferência de *T. cophysa* pelas presas *Dero furcatus* (0,20 a 1,00) e *Chironomus inquinatus* (0,00 a 1,00), não sendo observados valores negativos (rejeição) para essas presas em nenhuma concentração dos compostos testados (Tabela 4). Esses resultados são similares aos anteriormente obtidos por Alzmann *et al.* (1999) que observaram, em experimentos de seletividade alimentar, que os espécimes de *Gomphus pulchellus* (Odonata, Gomphidae) preferiram os oligoquetos e as larvas de quironomídeos ao invés dos organismos da família Gammaridae (Amphipoda) e as larvas de efemerópteros.

Por outro lado, o cladóceros *Ilyocryptus spinifer* teve a maior taxa de rejeição, com um consumo entre 25% (na concentração de $6 \mu\text{g L}^{-1}$ de CdCl_2) e 85% (no controle do teste com o CuSO_4) (Figura 2). Para o cladóceros *I. spinifer*, o IEI variou de -0,50 a 0,70, com uma seletividade nula (0,00) para os compostos CuSO_4 e CdCl_2 . Segundo Pritchard (1965), o tamanho e o movimento das presas são características importantes no seu reconhecimento, enquanto a forma do corpo, a cor e o odor são menos relevantes, explicando assim a alta rejeição do *I. spinifer* em relação às outras presas oferecidas neste estudo, pois segundo Elmoor-Loureiro (1997) o cladóceros *I. spinifer* apresenta um comprimento de até 1,40 mm, podendo não ser destacado dentre as outras presas. Outro fator que pode ter influenciado a rejeição de *I. spinifer* é a presença de espinhos em seu corpo (KOTOV; WILLIAMS, 2000), diferentemente dos quironomídeos, que além de não possuírem espinhos ou outras estruturas, possuem uma biomassa maior e são relativamente menos ágeis (PINDER, 1995), o que facilita a predação, visto que a atividade do predador pode estar comprometida devido à exposição prévia ao metal. A presa *Artemia franciscana* foi rejeitada nas concentrações mais elevadas dos compostos testados (Tabela 4). Nos testes de PERMANOVA, as diferenças entre os compostos testados foram confirmadas (Pseudo F = 3,870; p = 0,001).

Figura 2 - Consumo de presas (em %) por ninfas de *Tramea cophisa* em relação ao número inicialmente oferecido de cada presa, nos tratamentos sem exposição (controle) e nos tratamentos com exposição ao sulfato de cobre, cloreto de cádmio, cloreto de mercúrio e sulfato de manganês por 24 horas. O eixo y está representado em valores decimais da porcentagem máxima de consumo de presas (1 = 100%).

Para *Chlamydotheca* sp., verificou-se que a espécie *C. inquinatus* foi a mais consumida no controle em todos os testes realizados (37,5% para o CuSO₄; 62,5% para o CdCl₂; 56,25% para o HgCl₂ e 37,5% para o MnSO₄). Essa presa apresentou um alto índice de preferência pelo ostrácode, alcançando a maior taxa de consumo (93,75%) na concentração de 11 µg L⁻¹ do cloreto de cádmio. As larvas de *C. inquinatus* também foram altamente selecionadas nos testes com o cloreto de mercúrio (81,25%) nas concentrações de 4 e 14 µg L⁻¹ e nos testes com o sulfato de manganês (81,25%) na concentração de 40.388 µg L⁻¹. A presa *Artemia franciscana* foi a menos predada, de 6,25% (no controle do teste com o HgCl₂) a 50% (nas concentrações de 140 e 190 µg L⁻¹ do CuSO₄). O cladóceros *I. spinifer* foi o mais predado na concentração de 55 µg L⁻¹ do HgCl₂ e o menos predado no controle do composto sulfato de manganês (Figura 3). O IEI obtido para o ostrácode *Chlamydotheca* sp. mostrou a preferência desta espécie pela presa *C. inquinatus* (-0,50 a 0,25) em relação às demais presas oferecidas, as quais tiveram em todas as concentrações testadas valores negativos (rejeição) para o IEI (Tabela 4).

Em habitats de água doce, a predação por ostrácodes tem sido observada, mas não com frequência (WILKINSON et al., 2007). As espécies *Cypridopsis hartwigi*, *C. vidua* e *Cypretta*

kawatai foram descritas como eficientes predadoras de juvenis de *Biomphalaria glabrata* (DESCHIENS; LAMY; LAMY, 1953; DESCHIENS, 1954; SOHN; KORNICKER, 1972) e a espécie *Heterocypris incongruens* como uma eficiente predadora de *Daphnia magna* e outros cladóceros, copépodos, ostrácodos, Oligochaeta e larvas de insetos (GANNING, 1971; MEISCH, 2000), sendo inclusive um predador ativo sobre anfíbios (OTTONELLO; ROMANO, 2010). Nos testes de PERMANOVA, diferenças entre os compostos testados foram observadas (Pseudo F = 4,5393; p = 0,002).

Figura 3 - Consumo de presas (em %) pelo *Chlamydotheca sp.*, em relação ao número inicialmente oferecido de cada presa, nos tratamentos sem exposição (controle) e nos tratamentos com exposição ao sulfato de cobre, cloreto de cádmio, cloreto de mercúrio e sulfato de manganês por 24 horas. O eixo y está representado em valores decimais da porcentagem máxima de consumo de presas (1 = 100%).

Tabela 4 - Valores do Índice de Eletividade de Ivlev (IEI) obtidos nos testes de seletividade alimentar para *Tramea cophysa* e *Chlamydotheca* sp. no controle e nos diferentes tratamentos (exposição de 24 h) dos compostos CuSO₄, CdCl₂, HgCl₂ e MnSO₄.

Concentração do Metal (µg L ⁻¹)	Presas de <i>Tramea cophysa</i>				Presas de <i>Chlamydoteca</i> sp.		
	<i>D. furcatus</i>	<i>I. spinifer</i>	<i>Artemia</i> sp.	<i>C. inquinatus</i>	<i>I. spinifer</i>	<i>A. salina</i>	<i>C. inquinatus</i>
Controle	0,90	0,70	0,70	0,80	-0,83	-0,75	-0,50
60	0,60	0,00	0,40	0,30	-0,33	-0,58	0,08
CuSO ₄ 105	0,60	-0,20	0,70	0,40	-0,42	-0,75	-0,25
140	0,60	0,00	0,10	0,40	-0,33	-0,33	-0,25
190	0,40	-0,20	-0,30	0,20	-0,33	-0,33	-0,08
Controle	1,00	0,10	0,50	1,00	-0,50	-0,58	-0,17
3	1,00	-0,10	0,30	1,00	-0,42	-0,50	0,08
CdCl ₂ 6	0,80	-0,50	0,30	0,30	-0,50	-0,58	0,17
11	0,60	0,00	0,10	0,40	-0,25	-0,67	0,25
22	0,40	-0,20	-0,30	0,20	-0,25	-0,42	-0,25
Controle	1,00	0,60	0,60	0,40	-0,58	-0,92	-0,25
14	0,90	0,30	0,44	0,40	-0,33	-0,58	0,08
HgCl ₂ 44	0,80	0,20	0,20	0,20	-0,58	-0,83	0,08
55	0,50	0,30	0,10	0,44	-0,17	-0,67	0,00
170	0,60	0,20	-0,10	0,40	-0,25	-0,75	0,08
Controle	0,60	0,30	0,40	0,40	-0,92	-0,58	-0,50
27540	0,50	0,30	0,20	0,50	-0,58	-0,50	-0,08
MnSO ₄ 32726	0,80	0,60	0,40	0,80	-0,25	-0,58	-0,17
36000	0,40	0,00	-0,20	0,60	-0,50	-0,58	-0,08
40388	0,20	0,30	0,20	0,00	-0,25	-0,50	0,08

4 CONCLUSÕES

Os metais, quando introduzidos nos ambientes aquáticos, podem desempenhar um papel importante nas interações entre as espécies, causando a morte dos organismos ou alterando os seus comportamentos. Neste estudo, vimos que as concentrações dos diferentes metais testados tiveram impacto sobre o comportamento de predação e de seletividade alimentar das espécies *Tramea cophysa* e *Chlamydoteca* sp. A taxa de predação de *T. cophysa* diminuiu com o aumento das concentrações testadas em relação ao teste-controle nas exposições ao sulfato de cobre, cloreto de cádmio e cloreto de mercúrio. Para o sulfato de manganês nenhuma diferença significativa foi observada em relação ao teste-controle. *T. cophysa* teve preferência pelas presas *Dero furcatus* e *Chironomus inquinatus*, não sendo observados valores negativos (rejeição) para o índice de eletividade de Ivlev para essas presas em nenhuma concentração dos compostos testados. Para a *Chlamydoteca* sp. houve um aumento na taxa de predação para a maioria das concentrações testadas, sendo que para o sulfato de manganês todas as taxas de predação obtidas nos tratamentos foram maiores do que no teste-controle. Essa espécie teve preferência pela presa *C. inquinatus* em relação às demais presas oferecidas, as quais tiveram em todas as concentrações testadas resultados negativos (rejeição). *Chlamydotheca* sp. teve menores taxas de predação em comparação com *T. cophysa*, podendo este fato estar relacionado com o fechamento temporário de suas válvulas, uma estratégia de proteção comum entre os ostrácodes.

Portanto, para entender como os metais afetam as comunidades, é preciso avaliar também os seus efeitos subletais, que podem afetar não apenas os indivíduos e as populações, mas também as relações interespecíficas das populações. Enfrentar esse desafio na Ecotoxicologia é essencial para a compreensão do modo como os contaminantes podem afetar as comunidades ecológicas.

REFERÊNCIAS

- ALZMANN, N.; KÖHLER, B.; MAIER, G. Spatial distribution, food and activity of *Gomphus pulchellus* SELYS 1840 (Insecta; Odonata; Gomphidae) from a still water habitat. **International Review of Hydrobiology**, v. 84, n. 3, p. 299-313, 1999.
- ANHOLT, B. Sex and habitat differences in feeding by an adult damselfly. **Oikos**, v. 65, n. 3, p. 428-432, 1992.
- BARNES, R. D. **Zoologia de Invertebrados**. 4ed. Ed. Roca 1995, 1178p.
- CAMPBELL, C. E. The influence of a predatory ostracod, *Australocypris insularis*, on zooplankton abundance and species composition in a saline lake. **Hydrobiologia**, v. 302, n. 3, p. 229-239, 1995.
- CLARK, R. B. **Marine Pollution**. Clarendon Press, Oxford, 1992, 172 p.
- CORBI, J. J.; STRIXINO, S. T.; SANTOS, A. D.; DEL GRANDE, M. Diagnóstico ambiental de metais e organoclorados em córregos adjacentes a áreas de cultivo de cana-de-açúcar (Estado de São Paulo, Brasil). **Química Nova**, v. 29, n. 1, p. 61-65, 2006.
- CORBI, J. J.; TRIVINHO-STRIXINO, S.; SANTOS, A. Environmental evaluation of metals in sediments and dragonflies due to sugar cane cultivation in Neotropical streams. **Water, Air and Soil Pollution**, v. 195, p. 325-333, 2008.
- CORBET, P. S. **Dragonflies: Behavior and Ecology**. New York Cornell: University Press; 1999. 830p.
- CORREA, M.; COLER, R. A.; YIN, C. M. Changes in oxygen consumption and nitrogen metabolism in the dragonfly *Somatochlora cingulata* exposed to aluminum in acid waters. **Hydrobiologia**, v. 121, n. 2, p. 151-156, 1985.
- COSTA, C.; IDE, S.; SIMONKA, C. E. **Insetos ninfas: metamorfose e identificação**. Ribeirão Preto: Holos; 2006.
- DESCHIENS, R. Mécanisme de l'action létale de *Cypridopsis hartwigi* sur les mollusques vecteurs des bilharzioses. **Bulletin de la Société de Pathologie Exotique**, v. 47, p. 399-401, 1954.
- DESCHIENS, R.; LAMY, L.; LAMY, H. Sur un ostracode prédateur de Bullinset de Planorbes. **Bulletin de la Société de Pathologie Exotique**, v. 46, p. 956-958, 1953.
- DULEBA, W.; COIMBRA, J. C. S.; PETRI, S.; BARBOSA, C. F. Foraminíferos, tecamebas e ostracodes recentes utilizados como bioindicadores em estudos ambientais brasileiros. In: SOUZA, C. R. G.; SUGUIO, K.; OLIVEIRA, A. M. S.; OLIVEIRA, P. E. (eds) **Quaternário do Brasil**. Holos Editora, 2005, pp. 176-210.
- ELMOOR-LOUREIRO, L. M. A. **Manual de identificação de cladóceros límnicos do Brasil**. 1997.

FORROW, D. M.; MALTBY, L. Toward a mechanistic understanding of contaminant-induced changes in detritus processing in streams: Direct and indirect effects on detritivore feeding. **Environmental Toxicology and Chemistry**, v. 19, n. 8, p. 2100-2106, 2000.

FULAN, J.Â.; DOS ANJOS, M. R. D. Predation by *Erythemis nymphs* (Odonata) on Chironomidae (Diptera) and Elmidae (Coleoptera) in different conditions of habitat complexity. **Acta Limnologica Brasiliensia**, v. 27, n. 4, p. 454-458, 2015.

GANNING, B. On the ecology of *Heterocypris salinus*, *H. incongruens* and *Cypridopsis aculeata* (Crustacea, Ostracoda) from Baltic brackish-water rockpools. **Marine Biology**, v. 8, p. 271-279, 1971.

GERHARDT, A.; DE BISTHOVEN, L. J.; SOARES, A. M. V. M. Macroinvertebrate response to acid mine drainage: community metrics and on-line behavioural toxicity bioassay. **Environmental Pollution**, v. 130, n. 2, p. 263-274, 2004.

GRAINGER, P.; CHRISTIE, M.; THOMAS, G.; DOLE, S.; HECK, D.; MARSHMAN, M.; CAREY, M. Improving the quality of assessment by using a community of practice to explore the optimal construction of assessment rubrics. **Reflective Practice**, p. 1-13, 2017.

HARRISON, S. S. C.; BRADLEY, D. C.; HARRIS, I. T. Uncoupling strong predator-prey interactions in streams: the role of marginal macrophytes. **Oikos**, v. 108, p. 443 - 448. 2005.

HATCH, A. C.; BURTON, G. A. Phototoxicity of fluoranthene to two freshwater crustaceans, *Hyalella azteca* and *Daphnia magna*: measures of feeding inhibition as a toxicological endpoint. **Hydrobiologia**, v. 400, p. 243-248, 1999.

HAVEL, J. E.; TALBOTT, B. L. Life history characteristics of the freshwater ostracod *Cyprinotus incongruens* and their application to toxicity testing. **Ecotoxicology**, v. 4, n. 3, p. 206-218, 1995.

IRVING, E. C.; BAIRD, D. J.; CULP, J. M. Ecotoxicological responses of the mayfly *Baetis tricaudatus* to dietary and waterborne cadmium: implications for toxicity testing. **Environmental Toxicology and Chemistry**, v. 22, n. 5, p. 1058-1064, 2003.

IVLEV, V. S. **Experimental ecology of the feeding of fishes**. Yale University Press, New Haven, Connecticut, 1961.

KHANGAROT, B. S.; DAS, S. Acute toxicity of metals and reference toxicants to a freshwater ostracod, *Cypris subglobosa* Sowerby, 1840 and correlation to EC50 values of other test models. **Journal of Hazardous Materials**, 172, 641-649, 2009.

KHANGAROT, B. S.; RAY, P. K. Response of a freshwater ostracod (*Cypris subglobosa* Sowerby) exposed to copper at different pH levels. **Clean-Soil, Air, Water.**, v. 15, n. 6, p. 553-558, 1987.

KIMBELL, H. S.; MORRELL, L. J. Turbidity influences individual and group level response to predation in guppies, *Poecilia reticulata*. **Animal Behaviour**, v. 103, p. 179-185, 2015.

KOTOV, A. A.; WILLIAMS, J. L. *Ilyocryptus spinifer* Herrick 1882 (Anomopoda, Branchiopoda): a redescription based on North American material and designation of a neotype from Minnesota. **Hydrobiologia**, v. 428, n. 1, p. 67-84, 2000.

KRAUS, M. L.; KRAUS, D. B. Differences in the effects of mercury on predator avoidance in two populations of the grass shrimp *Palaemonetes pugio*. **Marine Environmental Research**, v. 18, n. 4, p. 277-289, 1986.

LAILSON - BRITO JR, J.; DORNELES, P. R.; DA SILVA, V. M.; MARTIN, A. R.; BASTOS, W. R.; AZEVEDO - SILVA, C. E.; MALM, O. Dolphins as indicators of micropollutant trophic flow in Amazon Basin. **Oecologia Australis**, v. 12, n. 3, p. 531-541, 2009.

MARTENS, K. Recent non-marine Ostracoda. **Workshop on Neotropical aquatic invertebrates** University of São Paulo, Brazil, v. 31, p. 1-18, 1995.

McGRINTY, A. S. **Survival, growth and variation growth of Channel catfish fry and fingerlings**. Alabama. (Thesis Doctoral) Auburn University, 1980.

McWILLIAM, R. A.; BAIRD, D. J. Application of post exposure feeding depression bioassays with *Daphnia magna* for assessment of toxic effluents in rivers. **Environmental Toxicology and Chemistry**, v. 21, n. 7, p. 1462-1468, 2002.

MEISCH, C. **Freshwater Ostracoda of Western and Central Europe**. Spektrum Akademischer Verlag, Heidelberg, Berlin, 2000, 522p.

MEYER, W.; HARISCH, G.; SAGREDOS, A. N. Biochemical and histochemical aspects of lead exposure in dragonfly larvae (Odonata: Anisoptera). **Ecotoxicology Environmental Safety**, v. 11, n. 3, p. 308-319, 1986.

MIGUEL, T. B.; OLIVEIRA-JUNIOR, J. M. B.; LIGEIRO, R.; JUAN, L. Odonata (Insecta) as a tool for the biomonitoring of environmental quality. **Ecological Indicators**, v. 81, p. 555-566, 2017.

MURUGAN, K.; BENELLI, G.; AYYAPPAN, S.; DINESH, D.; PANNEERSELVAM, C.; NICOLETTI, M.; SURESH, U. Toxicity of seaweed-synthesized silver nanoparticles against the filariasis vector *Culex quinquefasciatus* and its impact on predation efficiency of the cyclopoid crustacean *Mesocyclops longisetus*. **Parasitology Research**, v. 114, n. 6, p. 2243-2253, 2015.

OLIVEIRA, E.; TAKEUCHI, S.S.; CERUTTI, V. E. Assembleia de Larvas de Odonata (Insecta) em ambientes límnicos do Parque Estadual de Vila Velha, Paraná, Brasil. **Estudos de Biologia**, v. 35, n. 85, p. 163-176. 2013.

OTTONELLO, D.; ROMANO, A. Ostracoda and Amphibia in temporary ponds: who is the prey? Unexpected trophic relation in a mediterranean freshwater habitat. **Aquatic Ecology**, v. 45, n. 1, p. 55-62, 2011.

PEARSON, W. H.; WOODRUFF, D. L.; SUGARMAN, P. C.; OLLA, B. L. Effects of oiled sediment on predation on the littleneck clam, *Protothaca staminea*, by the Dungeness crab, *Cancer magister*. **Estuarine, Coastal and Shelf Science**, v. 13, n. 4, p. 445-454, 1981.

PINDER, L. C. V. 1995. The habitats of chironomid larvae. In: **The Chironomidae: biology and ecology of non-biting midges**. Edited by P.D. Armitage, P.S. Cranston, and L. C. V. Pinder. Chapman and Hall, London, U.K. pp. 107-135.

PRITCHARD, G. Prey capture by dragonfly larvae (Odonata; Anisoptera). **Canadian Journal of Zoology**, v. 43, n. 2, p. 271-289, 1965.

ROCKWOOD, J. P.; JONES, D. S.; COLER, R. A. The effect of aluminum in soft water at low pH on oxygen consumption by the dragonfly *Libellula julia* Uhler. **Hydrobiology**, v. 190, n. 1, p. 55-59, 1990.

RUIZ, F.; ABAD, M.; BODERGAT, A. M.; CARBONEL, P.; RODRÍGUEZ-LÁZARO, J.; GONZÁLEZ REGALADO, M. L.; TOSCANO, A.; GARCÍA, E. X.; PRENDA, J. Freshwater ostracods as environmental tracers. **International Journal of Environmental Science and Technology**, v. 10, p. 1115-1128, 2013.

SHUHAIMI-OTHTMAN, M.; YAKUB, N.; RAMLE, N. A.; ABAS, A. Toxicity of metals to a freshwater ostracod: *Stenocypris major*. **Journal of Toxicology**, v. 2011, p. 1-8, 2011.

SLOOF, W. Benthic macroinvertebrates and water quality assessment: some toxicological considerations. **Aquatic Toxicology**, v. 4, n. 1, p. 73-82, 1983.

SMITH, G. M.; WEIS, J. S. Predator-prey relationships in mummichogs (*Fundulus heteroclitus* (L.)): Effects of living in a polluted environment. **Journal of Experimental Marine Biology and Ecology**, v. 209, n. 1-2, p. 75-87, 1997.

SOARES, C. M.; HAYASHI, C.; FARIA, A. C. E. A. Influência da disponibilidade de presas, do contraste visual e do tamanho das larvas de *Pantala* sp. (Odonata, Insecta) sobre a predação de *Simocephalus cerrulatus* (Cladocera, Crustacea). **Acta Scientiarum**, v. 23, n. 2, p. 357-362, 2001.

SOARES, C. M.; HAYASHI, C.; REIDEL, A. Predação de pós-larvas de curimba (*Prochilodus lineatus*, Valenciennes, 1836) por larvas de Odonata (*Pantala* sp., Fabricius, 1798) em diferentes tamanhos. **Acta Scientiarum**, v. 25, n. 1, p. 95-100, 2003.

SOHN, I. G.; KORNICKER, L. S. Predation of *Schistosomiasis* vector snails by Ostracoda (Crustacea). **Science**, v. 175, p. 1258-1259, 1972.

SUHLING, F.; MARTENS, A.; SUHLING, I. Long-distance dispersal in Odonata: Examples from arid Namibia. **Austral Ecology**, v. 42, p. 544-552, 2017.

TAVE, D. et al. Effect of body color of *Oreochromis mossambicus* (Peters) on predation by dragonfly nymphs. **Aquaculture Research**, v. 21, n. 2, p. 157-161, 1990.

THETMEYER, H.; KILS, U. To see and not be seen: the visibility of predator and prey with respect to feeding behaviour. **Marine Ecology Progress Series**, p. 1-8, 1995.

THORNTON, I.; RAMSEY, M.; ATKINSON, N. **Metals in the global environment: facts and misconceptions**. ICME, 1995.

TOMAZELLI JR., O.; FRANCO, G. M. S.; CASACA, J. M.; MUNARINI, A. C.; DAL MAGRO, J. Effect of the *Melia azedarach* L. on the predation of common carp fingerlings (*Cyprinus carpio*) by larvae of *Neuraeschna* (Odonata: Aeshnidae). **Journal of Aquatic Science and Technology**, v. 15, n. 1, p. 19-25, 2011.

VALENTE-NETO, F.; DE OLIVEIRA ROQUE, F.; RODRIGUES, M. E.; JUEN, L.; SWAN, C. M. Toward a practical use of Neotropical odonates as bioindicators: testing congruence across taxonomic resolution and life stages. **Ecological Indicators**, v. 61, p. 952-959, 2016.

VAN STAPPEN, G. Introduction, biology and ecology of *Artemia*. In: LAVENS, P.; SORGELOOS, P. (Eds). **Manual on the Production and Use of Live Food for Aquaculture**. FAO Fisheries Technical Paper, 1996. 295p.

VANNIER, J.; ABE, K.; IKUTA, K. Feeding in myodocopid ostracods: functional morphology and laboratory observations from videos. **Marine Biology**, v. 132, n. 3, p. 391-408, 1998.

WALKER, C. H., HOPKIN, S. P., SIBLY, R. M.; PEAKALL, D. B. **Principles of Ecotoxicology**. Fourth Edition. London: Taylor and Francis; 2012. 360 p.

WAYLAND, M.; CROSLEY, R. Selenium and other trace elements in aquatic insects in coalmine-affected streams in the Rocky Mountains of Alberta, Canada. **Archives of Environmental Contamination and Toxicology**, v. 50, n. 4, p. 511-522, 2006.

WEIS, J. S.; SAMSON, J.; ZHOU, T.; SKURNICK, J.; WEIS, P. Prey capture ability of mummichogs (*Fundulus heteroclitus*) as a behavioral biomarker for contaminants in estuarine systems. **Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences**, v. 58, n. 7, p. 1442-1452, 2001.

WEIS, J. S.; SAMSON, J., ZHOU, T., SKURNICK, J., WEIS, P. Evaluating prey capture by larval mummichogs (*Fundulus heteroclitus*) as a potential biomarker for contaminants. **Marine Environmental Research**, v. 55, n. 1, p. 27-38, 2003.

WILLIAMS, M.; PERRIER, V.; BENNETT, C.; HEARING, T. Ostracods: the ultimate survivors. **Geology Today**, v. 31, p. 193–200, 2015.

WILKINSON, I. P.; WILBY, P. R.; WILLIAMS, M.; SIVETER, D. J.; VANNIER, J. Ostracod carnivory through time. In: A.M.T. Elewa (Ed.), **Predation in organisms: a distinct phenomenon**. Springer Berlin, Heidelberg, 2007, pp. 39-57.

CONCLUSÕES GERAIS

Esse estudo evidenciou o quão é importante e factível a utilização de espécies nativas em testes ecotoxicológicos. As espécies utilizadas, *Tramea cophysa* (Odonata), *Chlamydoteca* sp. e *Strandesia trispinosa* (Ostracoda), foram equivalentemente sensíveis ou superiores a espécies internacionalmente utilizadas e com protocolos padronizados para ensaios de toxicidade, sendo os ostrácodes, do presente estudo também similares ou superiores as espécies do mesmo grupo pertencentes a regiões temperadas como, por exemplo, *Cypridopsis* sp. e *Cypris* sp. Assim, conclui-se através das curvas de distribuição da sensibilidade das espécies, que as três espécies nativas testadas tiveram desempenho satisfatório podendo ser recomendadas como organismos-teste para a realização de ensaios ecotoxicológicos.

Dentre os compostos metálicos testados isoladamente no presente estudo, o sulfato de cobre causou maior toxicidade para *T. cophysa*. Para *Chlamydotheca* sp. e *S. trispinosa*, a maior toxicidade foi causada pelo cloreto de cádmio. Nas análises da toxicidade entre as misturas dos compostos testados sobre a espécie de ostrácodo *Strandesia trispinosa*, observou-se que, quando o CuSO_4 prepondera na mistura, podem ocorrer interações sinérgicas (ex. CuSO_4 x HgCl_2 e CuSO_4 x MnSO_4 – ver capítulo 2), aumentando a toxicidade do HgCl_2 e do MnSO_4 sobre o ostrácodo, mesmo quando os efeitos tóxicos do composto CuSO_4 isolado ocorrerem em baixas concentrações (ver capítulo 1), podendo representar um risco ambiental maior para essa espécie e para outras espécies não-alvo.

Também foi caracterizado no presente estudo que os quatro compostos metálicos testados podem afetar as interações entre as espécies, causando impacto sobre o comportamento de predação e a seletividade alimentar, como a diminuição da taxa de predação para *T. cophysa* através do aumento das concentrações testadas em relação ao teste-controle para os compostos CuSO_4 , CdCl_2 e HgCl_2 . Para *Chlamydotheca* sp. observou-se aumento na taxa de predação para a maioria das concentrações testadas em relação ao teste-controle, principalmente para o composto MnSO_4 (ver capítulo 3).

Os compostos metálicos utilizados nos testes ecotoxicológicos neste estudo, em concentrações letais e subletais causaram efeitos deletérios aos invertebrados. Sugere-se, com isso, que outros testes com estas espécies nativas sejam realizados com estes e outros metais objetivando a geração de resultados e informações que sejam capazes de serem postas em prática para a proteção e preservação da biodiversidade e dos sistemas aquáticos como um todo.

APÊNDICES

Apêndice A - Indivíduo de *Tramea cophysa* visto em microscópio estereoscópico (A); Lagoa Mayaca localizada na Universidade Federal de São Carlos (B).

Apêndice B - Indivíduo de *Strandesia trispinosa* visto de microscópio estereoscópico (A); Tanques de concreto localizados na Estação Experimental do Departamento de Ecologia e Biologia Evolutiva na Universidade Federal de São Carlos (B).

Apêndice C - Indivíduo de *Chlamydoteca* sp. sob lupa estereoscópica (A); Tanque de 3000 L localizado na Estação de Piscicultura da UFSCar (B); Vista externa da Estação de Piscicultura do Departamento de Hidrobiologia na Universidade Federal de São Carlos (C).

Apêndice D - Recipientes de plástico (capacidade 50 ml) utilizados na montagem dos testes de toxicidade aguda com os metais isolados (Capítulo 1) e em misturas (Capítulo 2).

Apêndice E - Recipientes plásticos (8 cm de altura e 11 cm de diâmetro) utilizados na montagem dos testes de predação e seletividade alimentar (capítulo 3).

Apêndice F - Produtos químicos e soluções-teste. Sulfato de cobre (CuSO_4 ; CAS no: 7758-98-8; marca Dinâmica); Cloreto de cádmio (CdCl_2 ; CAS no: 35658-65-2; marca Carlo Erba Reagents); Cloreto de mercúrio (HgCl_2 ; CAS no: 7487-94-7; marca Merck); Sulfato de manganês (MnSO_4 ; CAS no: 1034-96-5; marca Carlo Erba Reagents). Foto: Daniele Cristina Schiavone, 2018.

Apêndice G - Planejamento fatorial para os testes com misturas binárias (em $\mu\text{g L}^{-1}$) dos compostos sulfato de cobre/cloreto de cádmio, sulfato de cobre/cloreto de mercúrio, sulfato de cobre/sulfato de manganês e cloreto de cádmio/cloreto de mercúrio.

Tratamentos	Cobre x Cádmio		Cobre x Mercúrio		Cobre x Manganês		Cádmio x Mercúrio	
	Cobre	Cádmio	Cobre	Mercúrio	Cobre	Manganês	Cádmio	Mercúrio
Controle	0	0	0	0	0	0	0	0
Químico 1	25	0	25	0	25	0	3,12	0
Químico 1	50	0	50	0	50	0	6,25	0
Químico 1	100	0	100	0	100	0	12,5	0
Químico 1	200	0	200	0	200	0	25	0
Químico 1	400	0	400	0	400	0	50	0
Químico 1	800	0	800	0	800	0	-----	-----
Químico 2	0	3,12	0	1,56	0	500	0	3,12
Químico 2	0	6,25	0	3,12	0	1000	0	6,25
Químico 2	0	12,5	0	6,25	0	2000	0	12,5
Químico 2	0	25	0	12,5	0	4000	0	25
Químico 2	0	50	0	25	0	8000	0	50
Mistura	25	3,12	25	1,56	25	500	3,12	3,12
Mistura	25	6,25	25	3,12	25	1000	3,12	6,25
Mistura	25	12,5	25	6,25	25	2000	3,12	12,5
Mistura	25	25	25	12,5	25	4000	3,12	25
Mistura	25	50	25	25	25	8000	3,12	50
Mistura	50	3,12	50	1,56	50	500	6,25	3,12
Mistura	50	6,25	50	3,12	50	1000	6,25	6,25
Mistura	50	12,5	50	6,25	50	2000	6,25	12,5
Mistura	50	25	50	12,5	50	4000	6,25	25
Mistura	50	50	50	25	50	8000	6,25	50
Mistura	100	3,12	100	1,56	100	500	12,5	3,12
Mistura	100	6,25	100	3,12	100	1000	12,5	6,25
Mistura	100	12,5	100	6,25	100	2000	12,5	12,5
Mistura	100	25	100	12,5	100	4000	12,5	25
Mistura	100	50	100	25	100	8000	12,5	50
Mistura	200	3,12	200	1,56	200	500	25	3,12
Mistura	200	6,25	200	3,12	200	1000	25	6,25
Mistura	200	12,5	200	6,25	200	2000	25	12,5
Mistura	200	25	200	12,5	200	4000	25	25
Mistura	200	50	200	25	200	8000	25	50
Mistura	400	3,12	400	1,56	400	500	50	3,12
Mistura	400	6,25	400	3,12	400	1000	50	6,25
Mistura	400	12,5	400	6,25	400	2000	50	12,5
Mistura	400	25	400	12,5	400	4000	50	25
Mistura	400	50	400	25	400	8000	50	50
Mistura	800	3,12	800	1,56	800	1,56	-----	-----
Mistura	800	6,25	800	3,12	800	3,12	-----	-----
Mistura	800	12,5	800	6,25	800	6,25	-----	-----
Mistura	800	25	800	12,5	800	12,5	-----	-----
Mistura	800	50	800	25	800	25	-----	-----