

UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
ESCOLA DE ENGENHARIA DE SÃO CARLOS
Programa de Pós-graduação em Ciências da Engenharia Ambiental

LUCAS BUENO MENDES

O uso de modelos ecossistêmicos e experimentos laboratoriais para avaliação dos efeitos do agrotóxico Mythos® (i.e. pyrimethanil) em ecossistemas aquáticos

São Carlos
Estado de São Paulo
2015

LUCAS BUENO MENDES

O uso de modelos ecossistêmicos e experimentos laboratoriais para avaliação dos efeitos do agrotóxico Mythos® (i.e. pyrimethanil) em ecossistemas aquáticos

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

Orientador: Prof. Dr. Evaldo Luiz Gaeta Espíndola

São Carlos
Estado de São Paulo
2015

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

Mendes, Lucas Bueno
M538o O uso de modelos ecossistêmicos e experimentos
laboratoriais para avaliação dos efeitos do agrotóxico
Mythos® (i.e. pyrimethanil) em ecossistemas aquáticos /
Lucas Bueno Mendes; orientador Evaldo Luiz Gaeta
Espindola. São Carlos, 2015.

Tese (Doutorado) - Programa de Pós-Graduação em
Ciências da Engenharia Ambiental e Área de Concentração
em Ciências da Engenharia Ambiental -- Escola de
Engenharia de São Carlos da Universidade de São Paulo,
2015.

1. ecotoxicologia. 2. agrotóxicos. 3. fungicidas.
4. mesocosmos. 5. clima tropical. 6. comunidade
planctônica. I. Título.

FOLHA DE JULGAMENTO

Candidato: Bacharel e Licenciado **LUCAS BUENO MENDES**.

Título da tese: "O uso de modelos ecossistêmicos e experimentos laboratoriais para avaliação dos efeitos do agrotóxico Mythos® (i.e. pyrimethanil) em ecossistemas aquáticos".

Data da defesa: 01/12/2015

Comissão Julgadora:

Resultado:

Prof. Associado **Frederico Fábio Mauad**
(Presidente Designado)
(Escola de Engenharia de São Carlos/EESC)

Aprovado 

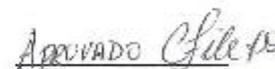
Profa. Dra. **Odele Rocha**
(Universidade Federal de São Carlos/UFSCar)

Aprovado 

Profa. Dra. **Suzetei Rodigher**
(Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho"/UNESP – São José dos Campos)

Aprovado 

Dra. **Claudia Fileto**
(Pesquisadora FIPA/EESC)

APROVADO 

Dra. **Fernanda Cristina Massaro**
(Biotox Análises Ambientais)

Aprovado 

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

Prof. Associado **Frederico Fabio Mauad**

Presidente da Comissão de Pós-Graduação:
Prof. Associado **Paulo César Lima Segantine**

AGRADECIMENTOS

Meus agradecimentos sinceros ao Prof. Assoc. Evaldo Luiz Gaeta Espíndola, que orientou, incentivou e acreditou neste trabalho. Sou grato por isto e por todos os ensinamentos passados ao longo da pós-graduação.

Durante o doutorado tive a oportunidade de entrar em contato com importantes e competentes pesquisadores: à Profa. Dra. Odete Rocha (DEBE/UFSCar) agradeço pelas contribuições e por colocar à disposição o seu laboratório para a realização das identificações das comunidades aquáticas; à Dra. Bruna Horvath Vieira (NEEA/CRHEA/EESC/USP) e a Dra. Lidiane Silva (DEBE/UFSCar) sou grato pelo auxílio na identificação das comunidades aquáticas; ao Ramom Rachide e à Profa. Dra Maria Olímpia Oliveira Rezende (do IQSC) por toda ajuda na determinação das concentrações do pyrimethanil e a todos os amigos do Núcleo de Ecotoxicologia e Ecologia Aplicada pelas diferentes contribuições dentro e fora do ambiente de trabalho.

Neste sentido, não poderia deixar de agradecer o Prof. Dr. Paul J. Van Den Brink e a Universidade de Wageningen, que me acolheram em seu grupo e contribuíram enormemente para a compreensão e realização das análises estatísticas. Agradeço a oportunidade e o aprendizado.

Foram fundamentais à realização desta pesquisa a contribuição dos funcionários, professores e colegas do NEEA, PPG-SEA e CRHEA (da EESC/USP), lugar onde pude desenvolver meus experimentos e estudos. Devo especial agradecimento aos técnicos Amandio e Marcelo, por toda ajuda durante minha estada no laboratório e aos colegas André Luis Sanchez e Danieli Delello pela contribuição e parceria na elaboração dos estudos em mesocosmos.

Aos meus familiares, em especial aos meus pais, Cristina e Carlos, e aos meus irmãos, Marcelo e Laura, por todo apoio e incentivo ao longo de todos esses anos, e à Bárbara pelo companheirismo, amizade e motivação, principalmente nos momentos de dificuldade.

Por toda a minha formação acadêmica e conhecimentos adquiridos ao longo destes quase doze anos agradeço à Universidade de São Paulo e às agências de fomento à pesquisa e formação de recursos humanos CNPq e Capes, pelo financiamento concedido.

A todos que contribuíram direta ou indiretamente para a realização deste trabalho.

RESUMO

Mendes, L. B. **O uso de modelos ecossistêmicos e experimentos laboratoriais para avaliação dos efeitos do agrotóxico Mythos® (i.e. pyrimethanil) em ecossistemas aquáticos.** Tese (Doutorado) – Escola de Engenharia de São Carlos, Universidade de São Paulo, SP, 2015, 161p.

O aumento do consumo de agrotóxicos, em geral nos países em desenvolvimento cuja base econômica é a agricultura, como no Brasil (primeiro no *ranking* mundial), tem sido relacionado à expansão da degradação dos ecossistemas e à perda da biodiversidade, principalmente das espécies não alvo, incluindo ainda os riscos inerentes à saúde humana. Além disso, a ausência de políticas e programas mais efetivos relacionados à regulação e uso de agrotóxicos no Brasil, bem como o estabelecimento de normas restritivas baseadas em resultados gerados em países de clima temperado, tornam-se cada vez mais preocupantes, pois podem subestimar os reais riscos da contaminação ambiental por agrotóxicos em ecossistemas tropicais. Nesse contexto, o presente estudo teve como objetivo avaliar os efeitos diretos e indiretos do agrotóxico pyrimethanil, um fungicida utilizado em diversas culturas de climas temperado e tropical, sobre a comunidade aquática tropical, considerando experimentos laboratoriais e o uso de modelos ecossistêmicos para avaliação destes efeitos. Para atender aos objetivos propostos foram realizados testes de toxicidade com as espécies *Pseudokirchneriella subcapitata* (alga), *Ceriodaphnia silvestrii* e *Daphnia similis* (zooplâncton) e *Danio rerio* (peixes), além de um experimento em mesocosmos, monitorado em longo prazo (durante 15 dias antes e 366 dias após a contaminação), avaliando as variações físicas e químicas, bem como as respostas das comunidades zooplanctônicas e fitoplanctônicas frente à contaminação por pyrimethanil, em uma concentração média de 1,36 mg.L⁻¹. Nos testes de toxicidade, as CEs obtidas foram de 0,67 mg.L⁻¹ (crônica) e 3,26 mg.L⁻¹ (aguda) para *C. silvestrii*; de 3,65 mg.L⁻¹ (agudo) para *D. similis*; de 9,65 mg.L⁻¹ para *P. subcapitata* e para *D. rerio* os valores obtidos para imobilidade foram de 10,45 mg.L⁻¹ (96h) e 13,77 mg.L⁻¹ (48h) e para a mortalidade foram de 27,45 mg.L⁻¹ (96h) e 32,17 mg.L⁻¹ (48h). Pelos resultados dos experimentos em mesocosmos verificaram-se efeitos negativos diretos sobre o zooplâncton (redução da densidade e alteração na composição de espécies) e indiretos sobre o fitoplâncton, decorrentes da diminuição da pressão de pastagem, além do desaparecimento de algumas espécies mais sensíveis. Os efeitos tóxicos observados foram além do período em que foi observada a degradação completa do pyrimethanil, demonstrando o alto impacto do agrotóxico em ecossistemas aquáticos e a complexidade da dinâmica desse tipo de contaminação em ecossistemas naturais. O *design* experimental revelou-se adequado, gerando informações importantes sobre os impactos dos agrotóxicos nos ecossistemas aquáticos. A partir dos resultados obtidos sugere-se que a utilização de espécies nativas de regiões tropicais seja ampliada nos testes de toxicidade laboratoriais, sendo fundamental que os mesmos sejam complementados com os experimentos em modelos ecossistêmicos, o que permite uma avaliação dos efeitos diretos e indiretos dos contaminantes em nível de população e comunidade, bem como uma melhor compreensão destes efeitos nas funções e serviços ecossistêmicos.

Palavras-chave: ecotoxicologia, agrotóxicos, fungicidas, mesocosmos, clima tropical, comunidade planctônica

ABSTRACT

Mendes, L. B. **The use of ecosystem models and laboratory experiments to assess the effects the pesticide Mythos® (a.i. pyrimethanil) in aquatic ecosystems.** Thesis (Doctoral) - School of Engineering of São Carlos, University of São Paulo, São Carlos, 2015, 161p.

The increase in the consumption of pesticides, mainly in developing countries whose economic base is agriculture, as Brazil (first in the world ranking), has been associated to the expansion of ecosystem degradation and biodiversity losses, especially of non-target species, also including the risks to human health. In addition, the absence of policies and effective programs related to the regulation and use of pesticides in Brazil, and the establishment of restrictive standards based on results generated in temperate countries, make it becomes increasingly worrisome because it may underestimate the real risks of environmental contamination by pesticides in tropical ecosystems. In this context, the present study aim to evaluate the direct and indirect effects of the pesticide pyrimethanil, a fungicide used in many temperate and tropical crops, upon a tropical aquatic community, considering laboratory experiments and the use of ecosystem models to evaluate these effects. To achieve the proposed objectives toxicity tests were performed with the species *Pseudokirchneriella subcapitata* (algae), *Ceriodaphnia silvestrii* and *Daphnia similis* (zooplankton) and *Danio rerio* (fish), as well as an experiment in mesocosms, monitored for a long-term (15 days before and 366 days after infection), evaluating the physical and chemical variations, and also the responses of phytoplankton and zooplankton communities across the pyrimethanil contamination in an average concentration of 1.36 mg.L⁻¹. In toxicity tests, the ECs obtained were 0.67 mg.L⁻¹ (chronic) and 3.26 mg L⁻¹ (acute) for *C. silvestrii*; 3,65 mg.L⁻¹ (acute) for *D. similis*; 9.65 mg.L⁻¹ for *P. subcapitata*; and the values obtained for *D. rerio* immobility were 10.45 mg.L⁻¹ (96h) and 13.77 mg.L⁻¹ (48h) and mortality were 27.45 mg.L⁻¹ (96h) and 32.17 mg.L⁻¹ (48h). The results of the experiments in mesocosms showed direct negative effects on zooplankton (reduced density and change in species composition) and indirect effects on phytoplankton, resulted from the decrease in grazing pressure in addition to the exclusion of some sensitive species. Even after the complete degradation of pyrimethanil, toxic effects were observed, demonstrating the high impact of this pesticide on aquatic ecosystems and the complexity of the dynamics of this type of contamination in natural ecosystems. The design of the experiment revealed to be appropriate for the study, generating important information about the impacts of pesticides on aquatic ecosystems. From the results, it is suggested an increase in the use of native tropical species in the toxicity laboratory tests. Also, this process should be complemented with experiments in ecosystem models, allowing the evaluation of the direct and indirect effects of contaminants in the population and in community level as well as a better understanding of these effects on ecosystem functions and services.

Keywords: ecotoxicology, pesticides, fungicide, mesocosms, tropical weather, plankton community

LISTA DE SIGLAS E ABREVIACÕES

1-D: Índice de Dominância de Simpson

ACP: Análise de Componentes Principais

C: Tratamento sem contaminação (Controle)

CE10: Concentração de Efeito que promove efeito sobre 10% dos organismos-teste

CE50: Concentração de Efeito que promove efeito sobre 50% dos organismos-teste

CE90: Concentração de Efeito que promove efeito sobre 90% dos organismos-teste

CL10: Concentração Letal que causa mortalidade de 10% dos organismos-teste

CL50: Concentração Letal que causa mortalidade de 50% dos organismos-teste

CL90: Concentração Letal que causa mortalidade de 90% dos organismos-teste

CRHEA: Centro de Recursos Hídricos e Estudos Ambientais

CV: Coeficiente de Variação

d: Índice de Riqueza de Margalef

DDT: Dicloro-difenil-tricloroetano

EC: European Commission

EESC: Escola de Engenharia de São Carlos

EFSA: European Food Safety Authority

EMBRAPA: Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária

FO: Frequência de ocorrência

GALD: maior dimensão linear axial

H: Índice de Diversidade de Shannon- Weaver

IBAMA: Instituto Brasileiro do Meio Ambiente e dos Recursos Naturais Renováveis

IET: Índice de estado trófico

J': Índice de Equitabilidade de Pielou

NT: Nitrogênio Total

OD: Oxigênio Dissolvido

OPAS/OMS: Organização Pan-Americana da Saúde/Organização Mundial da Saúde

P: Tratamento contaminado com Mythos® (pyrimethanil)

PRC: Principal Response Curve (Curva de Resposta Principal)

PT: Fósforo Total

PTD: Fosfato Total Dissolvido

S: Riqueza

VIII

Sinitox: Sistema Nacional de Informações Tóxico-Farmacológicas

US EPA: United States Environmental Protection Agency

LISTA DE FIGURAS

Figura 1: Esquema representando as dimensões dos mesocosmos utilizados na presente pesquisa.	24
Figura 2: Distribuição dos mesocosmos (com e sem contaminante) na área experimental e características do entorno, onde C refere-se aos mesocosmos que não foram contaminados e P os mesocosmos contaminados com Mithos® (A e B).	24
Figura 3: Local da coleta do sedimento e de água (A) e distribuição do sedimento nas unidades experimentais (B).	26
Figura 4: Representação esquemática das armadilhas utilizadas para a realização dos testes de toxicidade <i>in situ</i> com <i>Danio rerio</i>	35
Figura 5: Valores médios de pH obtidos nos tratamentos controle (C1, C2 e C3) e contaminados com pyrimethanil (P1, P2 e P3) nos experimentos em mesocosmos.	42
Figura 6: Valores médios de oxigênio dissolvido (mg.L^{-1}) obtidos nos tratamentos controle (C1, C2 e C3) e contaminados com pyrimethanil (P1, P2 e P3) nos experimentos em mesocosmos.	42
Figura 7: Valores médios da condutividade ($\mu\text{S/cm}^2$) obtidos nos tratamentos controle (C1, C2 e C3) e contaminados com pyrimethanil (P1, P2 e P3) nos experimentos em mesocosmos.	43
Figura 8: Valores médios da temperatura ($^{\circ}\text{C}$) obtidos nos tratamentos controle (C1, C2 e C3) e contaminados com pyrimethanil (P1, P2 e P3) nos experimentos em mesocosmos.	44
Figura 9: Valores médios da turbidez (NTU) obtidos nos tratamentos controle (C1, C2 e C3) e contaminados com pyrimethanil (P1, P2 e P3) nos experimentos em mesocosmos.	45
Figura 10: Valores do Nitrogênio total (mg.L^{-1}) obtidos nos tratamentos controle (C1, C2 e C3) e contaminados com pyrimethanil (P1, P2 e P3) nos experimentos em mesocosmos.	46
Figura 11: Valores do Nitrito (NO_2^-) em mg.L^{-1} obtidos nos tratamentos controle (C1, C2 e C3) e contaminados com pyrimethanil (P1, P2 e P3) nos experimentos em mesocosmos.	46
Figura 12: Valores do Nitrato (NO_3^-), em $\mu\text{g.L}^{-1}$, obtidos nos tratamentos controle (C1, C2 e C3) e contaminados com pyrimethanil (P1, P2 e P3) nos experimentos em mesocosmos.	47
Figura 13: Valores do íon amônio (NH_4^+), em $\mu\text{g.L}^{-1}$, obtidos nos tratamentos controle (C1, C2 e C3) e contaminados com pyrimethanil (P1, P2 e P3) nos experimentos em mesocosmos.	48

Figura 14: Valores do Fósforo Total, em mg.L^{-1} , obtidos nos tratamentos controle (C1, C2 e C3) e contaminados com pyrimethanil (P1, P2 e P3) nos experimentos em mesocosmos. 48	48
Figura 15: Valores do fosfato inorgânico, em $\mu\text{g.L}^{-1}$, obtidos nos tratamentos controle (C1, C2 e C3) e contaminados com pyrimethanil (P1, P2 e P3) nos experimentos em mesocosmos. 49	49
Figura 16: Valores do fosfato total dissolvido, em $\mu\text{g.L}^{-1}$, obtidos nos tratamentos controle (C1, C2 e C3) e contaminados com pyrimethanil (P1, P2 e P3) nos experimentos em mesocosmos. 50	50
Figura 17: Valores do silicato reativo (SiO_2) em $\mu\text{g.L}^{-1}$ obtidos nos tratamentos controle (C1, C2 e C3) e contaminados com pyrimethanil (P1, P2 e P3) nos experimentos em mesocosmos. 50	50
Figura 18: Dispersão dos escores das amostras durante o período de amostragem e das variáveis limnológicas consideradas na análise: pH, oxigênio dissolvido (OD), temperatura (Temp), condutividade (Cond), turbidez (Turb), nitrogênio total (NT), fósforo total (PT).52	52
Figura 19: Resultado da análise granulométrica inicial dos mesocosmos controle (C1, C2 e C3) e contaminados com pyrimethanil (P1, P2 e P3). Os valores estão expressos em porcentagem. 54	54
Figura 20: Valores referentes ao monitoramento das temperaturas do ar máximas, mínimas e médias ($^{\circ}\text{C}$) para o período de estudo. 55	55
Figura 21: Valores obtidos para o monitoramento da evaporação (em mm) e precipitação (mm) para o período de estudo..... 55	55
Figura 22: Valores referentes ao monitoramento da radiação solar em $\text{cal/cm}^2/\text{dia}$ 56	56
Figura 23: Curva analítica padrão para a análise da concentração de pyrimethanil. 56	56
Figura 24: Resultados da quantificação do agrotóxico pyrimethanil, em mg.L^{-1} (superior) e porcentagem relativa à concentração inicial (inferior)..... 58	58
Figura 25: Abundância relativa das classes de fitoplâncton registrada durante o monitoramento dos mesocosmos nos tratamentos controle (C1, C2 e C3) e contaminados (P1, P2 e P3)..... 65	65
Figura 26: Resultados da Principal Response Curve da comunidade fitoplancônica, considerando o nível de espécie, nos tratamentos controle e contaminado com pyrimethanil. 66	66

Figura 27: Resultados da Principal Response Curve da comunidade fitoplanctônica, considerando o nível de gênero, nos tratamentos controle e contaminado com pyrimethanil.	67
Figura 28: Abundância relativa (%) dos principais grupos zooplanctônicos, registrada durante o monitoramento dos mesocosmos nos tratamentos controle (C1, C2 e C3) e contaminados (P1, P2 e P3)......	69
Figura 29: Principal response curve para análise da comunidade zooplanctônica em nível de espécie.	72
Figura 30: Principal response curve para análise da comunidade zooplanctônica em nível de família.....	72
Figura 31: Bloxplot referente aos coeficientes de variação das variáveis: condutividade (com), fósforo total (FT), abundância do fitoplâncton (N_F), abundância do zooplâncton (N_Z), íon amônio (NH ₄), nitrito (NO ₂), nitrato (NO ₃), nitrogênio total (NT), oxigênio dissolvido (OD), pH, fosfato inorgânico (POI), fósforo total dissolvido (PTD), número de espécies de fitoplâncton (S_F), número de espécies de zooplâncton (S_Z), silicato reativo (SiO), temperatura (Tem) e turbidez (Turb); para os tratamentos controle (C) e contaminados com pyrimethanil (P)......	73
Figura 32: Resultados da concentração de efeito (CE ₅₀) para os testes de toxicidade aguda (48h) com <i>Ceriodaphnia silvestrii</i> , exposta ao pyrimethanil	74
Figura 33: Número médio de neonatos de <i>C. silvestrii</i> por tratamento nas exposições ao pyrimethanil.....	75
Figura 34: Resultados da concentração de efeito (CE ₅₀) para os testes de toxicidade aguda (48h) com <i>Daphnia similis</i>	76
Figura 35: Resultados dos testes de toxicidade com <i>Pseudokirchneriella subcapitata</i> , expressos em densidade celular (cel.ml ⁻¹) no gráfico de barras, e a inibição de crescimento em porcentagem no gráfico de linhas, para as concentrações de pyrimethanil (em mg.L ⁻¹)	77
Figura 36: Avaliação biométrica do lote de <i>Danio rerio</i> , apresentando a relação entre o peso (g) e o comprimento (mm).....	78
Figura 37: Resultados da CL ₅₀ , avaliando a letalidade, para os testes de toxicidade aguda (48h e 96h) com <i>Danio rerio</i> em exposições ao pyrimethanil.	79
Figura 38: Resultados da concentração de efeito (CE ₅₀), avaliando a imobilidade, para os testes de toxicidade aguda (48h e 96) com <i>Danio rerio</i> em exposições ao pyrimethanil. ..	80

Figura 39: Distribuição da sensibilidade dos testes ecotoxicológicos para as diferentes espécies e *endpoints* avaliados. 81

LISTA DE TABELAS

Tabela 1: Cronograma de amostragem com as informações do número da coleta e dias em relação ao início da contaminação (os dias com sinais negativos correspondem ao período anterior a adição do agrotóxico).	27
Tabela 2: Metodologia de análise de algumas variáveis limnológicas das amostras de água proveniente dos mesocosmos.	28
Tabela 3: Classificação dos mesocosmos de acordo com o grau de trofia estabelecido para sistemas lênticos, calculado em função da concentração de fósforo total, de acordo com Lamparelli (2004).	53
Tabela 4: Composição taxonômica do fitoplâncton, frequência de ocorrência (FO) e classificação funcional das espécies registradas durante o período experimental, considerando todos os tratamentos. *: grupo funcional não identificado.....	59
Tabela 5: Número de táxons e número de indivíduos por tratamento (Controle: C1, C2 e C3 e Contaminado: P1, P2 e P3) para a comunidade fitoplanctônica.	62
Tabela 6: Índices ecológicos para a comunidade fitoplanctônica: Índice de Dominância de Simpson, Índices de diversidade de Shannon-Weaver (H), Índice de biodiversidade de Margalef e Equitabilidade J, considerando os mesocosmos controle (C1, C2 e C3) e contaminados (P1, P2 e P3).	63
Tabela 7: Composição taxonômica do zooplâncton, frequência de ocorrência (FO) e classificação funcional das espécies registradas durante o período experimental, considerando todos os tratamentos. FP: filtrador pequeno; FM: filtrador médio; P: predador; *: grupo funcional não identificado.	68
Tabela 8: Número de táxons e número de indivíduos por tratamento (Controle: C1, C2 e C3 e Contaminado: P1, P2 e P3) para a comunidade zooplanctônica.	70
Tabela 9: Índices ecológicos para a comunidade zooplanctônica: Índice de Dominância de Simpson, Índices de diversidade de Shannon-Weaver (H), Índice de biodiversidade de Margalef e Equitabilidade J, considerando os mesocosmos controle (C1, C2 e C3) e contaminados (P1, P2 e P3).	70
Tabela 10: Síntese dos resultados dos testes de toxicidade laboratoriais com os organismos-teste selecionados para avaliação do efeito tóxico do pyrimethanil.	80

Sumário

RESUMO	III
ABSTRACT	V
1 INTRODUÇÃO.....	1
2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	4
2.1 Os agrotóxicos	4
2.2 Os problemas e a dinâmica dos agrotóxicos no ambiente	6
2.3 Os estudos ecotoxicológicos e os modelos ecossistêmicos	9
2.4 A importância do estudo de comunidades na Ecotoxicologia	12
2.5 Os efeitos indiretos da contaminação ambiental.....	14
2.6 A necessidade de estudos relacionados ao clima tropical.....	17
3 JUSTIFICATIVA	19
4 OBJETIVOS	21
4.1 Objetivo geral	21
4.2 Objetivos específicos	21
5 HIPÓTESES	22
6 MATERIAL E MÉTODOS.....	23
6.1 Delineamento experimental da pesquisa.....	23
6.1.1 Os estudos em Mesocosmos	23
6.1.2 Coleta de água para as análises físicas, químicas e biológicas.....	27
6.1.3 Coleta, preservação e análise do fitoplâncton	28
6.1.4 Coleta, preservação e análise do zooplâncton	29
6.1.5 Monitoramento das variáveis climatológicas	30
6.2 Análise dos dados obtidos nos mesocosmos: variáveis limnológicas	30
6.3 Análise dos resultados das comunidades aquáticas	31
6.3.1 Índices ecológicos utilizados na análise de comunidades	32
6.4 Manutenção, cultivo e testes de toxicidade	34
6.4.1 <i>Danio rerio</i>	34
6.4.2 <i>Pseudokirchneriella subcapitata</i>	36
6.4.3 <i>Daphnia similis</i> e <i>Ceriodaphnia silvestrii</i>	37
6.5 Análise dos dados ecotoxicológicos	39
6.6 Determinação da concentração de pyrimethanil.....	40
7 RESULTADOS	41
7.1 Estudos em mesocosmos	41
7.1.1 Monitoramento das variáveis pH, oxigênio dissolvido, temperatura, e condutividade elétrica da água	41

7.1.2	Análise de nutrientes	45
7.1.3	Análise de Componentes Principais das variáveis limnológicas	51
7.1.4	Índice de estado trófico	52
7.1.5	Análise granulométrica do sedimento	53
7.1.6	Monitoramento das variáveis meteorológicas	54
7.1.7	Quantificação da concentração de pyrimethanil nos mesocosmos	56
7.2	Análise das comunidades fitoplanctônica e zooplanctônica.....	58
7.2.1	Composição e estrutura da comunidade fitoplanctônica.....	58
7.2.2	Análise da Principal Response Curves (PRC) da comunidade fitoplanctônica 65	
7.2.3	Composição e estrutura da comunidade zooplanctônica.....	67
7.2.4	Análise da Principal Response Curves (PRC) da comunidade zooplanctônica 71	
7.2	Análise dos coeficientes de variação	72
7.3	Testes ecotoxicológicos	73
7.3.1	Testes de toxicidade com <i>C. silvestrii</i> e <i>D. similis</i>	74
7.3.2	Teste de toxicidade com <i>Pseudokirchneriella subcapitata</i>	76
7.3.3	Testes de toxicidade laboratorial e in situ com <i>Danio rerio</i>	77
7.4	Distribuição da sensibilidade dos testes e endpoints	80
8	DISCUSSÃO.....	82
8.1	Persistência ambiental da formulação comercial Mythos®	82
8.2	Os estudos ecotoxicológicos laboratoriais com Mythos®.....	86
8.3	O estudo em mesocosmo	92
8.3.1	Os efeitos sobre as comunidades fitoplanctônica e zooplanctônica.....	95
8.4	A necessidade de mudanças no processo de regulação de agrotóxicos no Brasil 105	
9.	CONSIDERAÇÕES FINAIS	108
10	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	111
	APÊNDICE A	127
	APÊNDICE B	136

1 INTRODUÇÃO

O desenvolvimento tecnológico proporcionou, no decorrer de décadas, uma maior intervenção humana nos recursos naturais, o que conseqüentemente interferiu direta ou indiretamente na saúde humana e dos ecossistemas. Frente a este impacto negativo sobre os recursos naturais, com implicações ao homem, o interesse pelas questões ambientais também foi ampliado, permitindo que novas abordagens metodológicas fossem incluídas nos programas de monitoramento ambiental, possibilitando uma melhor avaliação dos efeitos de diversos xenobióticos na estrutura e funcionamento dos ecossistemas (MOZETO; ZAGATTO, 2006; ONGLEY, 1996; PETERS et al., 1997).

Dentre os inúmeros contaminantes, os agrotóxicos vêm assumindo posição de destaque, uma vez que seu consumo vem aumentando em larga escala no Brasil em função da ampliação da fronteira agrícola e da ausência de uma legislação mais abrangente e rigorosa, que incluía a elaboração de leis mais restritivas, na aplicação das mesmas e conseqüente fiscalização, considerando a importação de produtos ou mesmo sua produção no país. Com a atual política econômica do Brasil, baseada na expansão da fronteira agrícola, o país se tornou desde 2009 (PACHECO, 2009) o maior consumidor de agrotóxicos do mundo, o que nos remete à necessidade de ampliação e divulgação das pesquisas relacionadas aos impactos destes xenobióticos em diferentes níveis de organização biológica.

A utilização exponencial dos agrotóxicos nas atividades agropastoris tem sido uma das principais fontes de poluição dos recursos hídricos superficiais e subterrâneos, da contaminação dos solos e dos desequilíbrios na fauna e flora, assim como tem refletido negativamente à saúde humana. Os principais problemas da contaminação da água e do solo pelos agrotóxicos estão relacionados aos seus efeitos não seletivos, afetando espécies não-alvo, causando impactos como a pressão seletiva nos organismos e perturbações na dinâmica bioquímica, os quais podem provocar alterações nas funções e serviços ecossistêmicos (MOZETO; ZAGATTO, 2006).

Devido à grande quantidade e intensidade dos impactos relacionados à contaminação ambiental por agrotóxicos, diversos países vêm aumentando o número de pesquisas referentes ao tema, visando um controle sobre a degradação do ambiente e a qualidade da saúde humana (PETERS et al., 1997). Dentro deste contexto, os estudos ecotoxicológicos se destacam como uma importante ferramenta para a avaliação dos efeitos dos contaminantes

no ambiente, uma vez que, em sua maioria, são baseados em testes toxicológicos onde as espécies avaliadas são representativas do ecossistema, com a finalidade de prever possíveis impactos ambientais proporcionados pelo agente tóxico no ambiente natural (HOFFMAN, 2003). Apesar da importância desta pesquisa, a sua maioria é realizada em condições onde se avalia apenas uma espécie; assim, as inferências não são suficientes para a compreensão clara dos processos que ocorrem em um sistema natural.

Desse modo, visando uma análise mais eficiente dos efeitos dos contaminantes nos ecossistemas aquáticos, têm sido desenvolvidas metodologias para avaliação dos efeitos tóxicos em diferentes níveis de organização biológica, baseando-se na utilização de experimentos em micro e mesocosmos, ou ainda em experimentos *in situ*. Esses estudos são considerados como simulações do ambiente natural em escala reduzida, permitindo a análise dos efeitos de contaminantes em indivíduos, populações e comunidades sob condições seminaturais, possibilitando o reconhecimento dos efeitos toxicológicos diretos e as implicações ecológicas indiretas (GRANEY, et al., 1995). Nesse caso, o estudo das interações entre as espécies presentes, por meio das análises dos efeitos diretos e indiretos dos contaminantes na comunidade e nos compartimentos, tem subsidiado a compreensão da modulação e propagação dos efeitos de contaminantes no ambiente (CLEMENTS; ROHR, 2009).

Além disso, é fato que grande parte dos estudos de Ecotoxicologia, principalmente os que se referem aos mesocosmos direcionados à avaliação dos riscos associados à contaminação ambiental por agrotóxicos, está centralizado em países de clima temperado e grande parte das informações obtidas tem servido como base para a formulação de políticas e regulamentações ambientais em países tropicais. Entretanto, as diferenças em relação aos parâmetros abióticos (como o clima e as características de físicas e químicas de cada compartimento) e bióticos (como a estrutura das comunidades e as diferentes sensibilidades das espécies), além da necessidade de preservação da biodiversidade tropical (pois cerca de 75% da biodiversidade mundial está localizada nas regiões tropicais e subtropicais), demonstram a urgência no desenvolvimento de pesquisas que tenham como alvo a análise da distribuição/comportamento dos contaminantes em regiões de clima tropical, com vistas à proteção dos ecossistemas naturais e redução dos riscos inerentes à saúde humana (KWOK et al., 2007; MOREIRA et al., 2010).

É nesse contexto que esta pesquisa foi desenvolvida, tendo como objetivo a avaliação do potencial de toxicidade do fungicida pyrimethanil (formulação comercial Mythos®) aos

ecossistemas aquáticos, por meio de estudos experimentais laboratoriais (determinação dos efeitos em nível de espécies) e em mesocosmos (reconhecimento dos efeitos diretos e indiretos em nível populacional e de comunidade), permitindo uma análise mais efetiva e realista dos riscos ambientais deste agrotóxico.

2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 Os agrotóxicos

O constante crescimento da demanda por produtos agropecuários tem promovido o desenvolvimento contínuo de técnicas para o aumento da produção, o que incluiu, entre outras, a adoção da monocultura em larga escala. Se por um lado houve o aumento da produção, por outro se verificou o aparecimento de pragas, doenças, ervas daninhas e a diminuição da atividade microbiológica dos solos, em consequência do desequilíbrio que atingiu o entorno, acarretando em problemas para a produção agrícola e incentivando o uso de agroquímicos como agrotóxicos, fertilizantes, corretivos, entre outros, para se manter a produtividade (ONGLEY, 1996).

A maior expansão do uso dessas substâncias ocorreu após a Segunda Guerra Mundial, com o desenvolvimento da indústria de síntese química, consolidando o atual modelo agrícola, relacionado à Revolução Verde que foi implantada a partir da década de 1960, baseada em um sistema de monocultura sustentado pelo uso de agroquímicos (agrotóxicos, fertilizantes e corretivos), mecanização, técnicas de irrigação e espécies altamente selecionadas, visando sempre à elevada produtividade (CALDAS; SOUZA, 2000; CLEAVER JR, 1972; KOLAR et al., 2008; ONGLEY, 1996).

Dentre os principais tipos de agrotóxicos utilizados destacam-se os inseticidas, fungicidas e herbicidas, entretanto existem diversos outros produtos como os rodenticidas, acaricidas, nematicidas, molusquicidas e fumigantes. Eles são classificados, de acordo com o Decreto nº 4.074/2002, em quatro classes toxicológicas em função do seu potencial de toxicidade, de acordo com o valor da dose média letal (DL_{50}), por via oral, representada por miligramas do produto tóxico por quilo de peso vivo, necessários para matar 50% de ratos e outros animais-teste. Essa classificação é ineficiente já que não demonstra relação direta com a manutenção da qualidade ambiental e os ecossistemas envolvidos, e sim com a toxicidade para humanos.

O caráter tóxico dessas substâncias é caracterizado pela presença de grupos funcionais raros na natureza com propriedades distintas e que confere diferentes graus de persistência ambiental, mobilidade e potenciais tóxico, carcinogênico, mutagênico, teratogênico e efeitos endócrinos a diversos organismos, inclusive organismos não-alvos

(ARMAS, 2007). Desse modo, o uso incorreto de agrotóxicos pode afetar de maneira drástica o ecossistema.

Alguns dos problemas relacionados ao uso de agrotóxico estão relacionados com alterações da fauna e flora, agindo sobre a vida selvagem, como insetos, micro-organismos do solo e organismos terrestres e aquáticos, podendo causar diversos efeitos negativos, como a redução do número de espécies, alterações comportamentais, reprodutivas e de desenvolvimento, suscetibilização a doenças, magnificação biológica, entre outros (DORES; DE-LAMONICA-FREIRE, 1999). Além disso, o uso de agrotóxicos pode provocar distúrbios em diversos processos, como por exemplo, na atividade de decomposição, que conseqüentemente afetará a sustentabilidade da cultura ou do ambiente em longo prazo (RÖMBKE; GARCÍA, 2000).

No Brasil, o consumo de agrotóxicos vem crescendo em larga escala. Em 1964 o consumo de agrotóxicos era de 16 mil toneladas, passando para mais de 128 mil toneladas em 1998, representando um aumento de 700% no período, enquanto a área cultivada em 1960 era de 28 milhões de hectares e de aproximadamente 50 milhões de hectares em 1998, um aumento de somente 78% (SPADOTTO; GOMES, 2004). Segundo um estudo da consultoria alemã Kleffmann Group, encomendado pela Associação Nacional de Defesa Vegetal (Andef), o Brasil é o maior mercado de agrotóxicos do mundo, movimentando cerca de US\$ 7,1 bilhões, ante US\$ 6,6 bilhões do segundo colocado, os Estados Unidos, apresentando um crescimento de US\$ 1,7 bilhões em relação ao ano de 2007. O consumo cresceu no país, apesar de a área plantada ter encolhido 2% em 2009 (PACHECO, 2009).

O aumento do consumo de agrotóxico nas últimas décadas, e seus impactos sobre o ambiente e ao homem, fez com que vários países regulamentassem seu uso e a produção, objetivando minimizar as conseqüências prejudiciais ao ecossistema (ZAGATTO, 2006). Entretanto, apesar do crescente consumo de agrotóxicos no Brasil, a legislação brasileira referente ao controle dos agrotóxicos, Lei 7.802, de 12 de julho de 1989, regulamentada pelo Decreto nº 4.074 de 2002, de 11/01/90, está muito aquém do que poderia ser considerado como ideal.

Enquanto países como os Estados Unidos exigem uma avaliação detalhada sobre os compostos e seus riscos, com consulta à comunidade acadêmica e à população, e monitoramentos avançados em relação aos produtos, volumes e locais utilizados em nível nacional (US EPA, 2015) e a Europa conta com estudos rigorosos de avaliação de risco ambiental às espécies, exigindo estudos em modelos ecossistêmicos e constantes revisões

das informações (EC, 2015), no Brasil o sistema de regulamentação é ainda ineficaz. Esta situação é decorrente da ausência de estudos e do uso de modelos que não visam a priorização da proteção da vida selvagem nativa, pois não existe restrição do uso de diversos produtos que já foram banidos em outros países, além da liberação de novos produtos que apresentam maior potencial tóxico e eficácia semelhantes a outros já presentes no mercado (produtos de referência), contrariando a legislação vigente (TUROLLO JR, 2015). Adiciona-se ainda a falta de rigor na fiscalização do uso, venda e descarte desses produtos, além da falta de informação sobre os reais volumes utilizados no Brasil e quais os tipos utilizados para cada cultura ou local.

2.2 Os problemas e a dinâmica dos agrotóxicos no ambiente

As atividades humanas constituem fontes em potencial de contaminantes para os ecossistemas aquáticos e terrestres, sendo caracterizadas como pontuais (de fácil identificação no espaço e no tempo), como o lançamento de esgotos domésticos urbanos; e difusas, quando não é possível a identificação do ponto de lançamento dos contaminantes, como é o caso do arraste de fertilizantes e pesticidas pelo escoamento superficial em áreas cultivadas (MOZETO; ZAGATTO, 2006). Embora a agricultura seja apenas uma das fontes difusas de poluição, em muitos casos é considerada como a de maior impacto nos recursos hídricos, contribuindo com uma ampla diversidade de classes de poluentes (ONGLEY, 1996).

O destino final dos agrotóxicos depende da forma de sua aplicação, estimando-se que apenas uma pequena parcela do volume aplicado atinja os organismos alvo. Estudos com o combate de lagartas no cultivo de couve mostraram, por exemplo, que apenas 0,003% do agrotóxico é consumido pelas lagartas. Outro estudo indica uma eficácia aproximada de 0,03 e 0,02%, respectivamente para o combate de afídeos e mirídeos no cultivo de cacau, enquanto que no combate de lagartas com DDT (dicloro-difenil-tricloroetano) reportou-se que uma quantidade ínfima de apenas 0,0000001% atinge o organismo alvo (PIMENTEL; LEVITAN, 1986).

Essa pequena eficiência está relacionada aos diferentes destinos que os agrotóxicos sofrem no ambiente, uma vez que apenas uma fração atinge a cultura e grande parte do volume aplicado é perdida por processos como a retenção (sorção e absorção), transformação (degradação química e biológica) e transporte (deriva, volatilização, lixiviação e

carreamento superficial). Essa complexa dinâmica é regulada pelas condições ambientais, como o clima (temperatura ambiente, pluviosidade, intensidade de luz solar e ventos); atividade microbiológica; cobertura vegetal; topografia do terreno; propriedades físicas e químicas do solo (granulometria, teor de matéria orgânica, pH e umidade); e pelas mudanças nas características estruturais e das propriedades químicas das substâncias envolvidas (DORES; DE-LAMONICA-FREIRE, 1999; EMBRAPA, 2004; GAVRILESCU, 2005).

A contaminação do solo por agrotóxicos pode ocorrer por meio de aplicações diretas, por resíduos provenientes da aplicação aérea ou por queda de partes das plantas que foram tratadas (PAPINI; ANDRÉA, 2004), onde podem sofrer o processo de vaporização direta, co-vaporização e associação com material particulado, que pode ser posteriormente carregado pelo vento, o que favorece a distribuição destes produtos para outros ambientes, incluindo sua entrada em ambientes aquáticos (DORES; DE-LAMONICA-FREIRE, 1999).

No solo, os agrotóxicos podem contaminar os organismos edáficos através da ingestão de partículas contaminadas ou assimilação via superfície corpórea (VAN GESTEL; VAN STRAALLEN, 2002), afetando direta ou indiretamente algumas funções benéficas para o ambiente, como armazenamento e disponibilidade de água; decomposição de partes de plantas e animais, com a liberação de nutrientes em formas disponíveis às plantas; manutenção de agregados de partículas; decomposição, transformação e ciclagem de nutrientes; supressão de organismos patogênicos para as plantas e sequestro e degradação de agrotóxicos (EMBRAPA, 2004).

Em relação ao ambiente aquático, sua contaminação por agrotóxicos pode ocorrer por diferentes formas, sendo as principais a aplicação intencional, como forma de controle de algas e invertebrados; a deriva, onde os contaminantes são transportados por correntes de ar após a aplicação; escoamento superficial, decorrente da lixiviação; carreamento superficial; e chuvas contaminadas por resíduos voláteis presentes em agrotóxicos (DORES; DE-LAMONICA-FREIRE, 1999; MOZETO; ZAGATTO, 2006; SILVA; SANTOS, 2007). Os agrotóxicos, além de atingirem sistemas superficiais como rios, represas e lagos, também podem atingir, através da percolação, as águas subterrâneas, o que é uma situação de difícil tratamento, sendo necessário o desenvolvimento de procedimentos de prevenção a este tipo de contaminação (SILVA; SANTOS, 2007).

A aplicação acidental, na qual os agricultores, ao pulverizarem as culturas localizadas próximas aos corpos de água, acabam introduzindo o agrotóxico no sistema hídrico, também é uma importante via de contaminação visto as condições insipientes que muitas vezes

ocorrem durante as aplicações dos agrotóxicos. Além disso, a lavagem inadequada de materiais utilizados nos preparos da calda e outros equipamentos também comprometem os corpos de água, como frequentemente observado nas áreas rurais (ESPINDOLA; BRIGANTE, 2009).

O contato dos organismos com os agrotóxicos pode provocar o processo de bioacumulação, onde os contaminantes são assimilados e retidos pelos organismos, acarretando na ampliação da concentração do contaminante no organismo, aumentando a probabilidade de causar efeitos deletérios, e biomagnificação, que consiste na transferência do contaminante de um nível trófico ao outro, com concentrações crescentes à medida que há a transferência para um nível trófico mais elevado (BURATINI; BRANDELLI, 2006).

Além disso, a atividade microbiológica pode influenciar na toxicidade do contaminante, aumentando ou diminuindo sua toxicidade e potencial de bioacumulação e, conseqüentemente, interferir na biomagnificação na cadeia trófica (ZAGATTO, 2006b). Os fenômenos de bioacumulação e biomagnificação, no entanto, dependem de fatores como: a presença de um mecanismo de absorção ou “sorvedouro”, representado principalmente pelos lipídios do organismo; das propriedades físico-químicas do agrotóxico que podem favorecer ou não sua entrada no organismo; e da taxa de entrada e depuração do contaminante pelo organismo (VALARINI et al., 2003).

Os fatores ambientais definidos pelas características bióticas e abióticas estão relacionados com a toxicidade desses compostos. Dentre os fatores bióticos destacam-se o tipo de organismo, estágio de desenvolvimento, tamanho, estado nutricional e de saúde, alterações sazonais no estado fisiológico, dentre outros, sendo que estes fatores bióticos influenciam a resposta ao poluente de diferentes maneiras. Quanto aos fatores abióticos, verifica-se que diversas variáveis são importantes, como as características físicas e químicas da água que circunda o organismo vivo (temperatura, pH, teor de oxigênio dissolvido na água, salinidade e dureza), conteúdo de matéria orgânica e material particulado em suspensão, a velocidade do fluxo da água, dentre outros; além das características físico-químicas do próprio composto, como solubilidade, pressão de vapor e pH, e das características do sedimento (SILVA; SANTOS, 2007; SPRAGUE, 1985; ZAGATTO, 2006), podendo permanecer dissolvido na água, ser adsorvido na matéria em suspensão, depositar-se no sedimento, se acumular nos organismos vivos, volatilizar-se ou ser degradado (ZAGATTO, 2006).

Os problemas relacionados com os agrotóxicos não são observados apenas em ecossistemas naturais, mas também sobre a saúde da população humana. Os agrotóxicos de uso agrícola foram responsáveis por 4656 casos de intoxicação, sendo que 130 resultaram em óbitos, totalizando 33,86% dos casos de óbito por intoxicação, segundo o levantamento do Sistema Nacional de Informações Tóxico-Farmacológicas (Sinitox) de 2012. A intoxicação por agrotóxicos pode ser aguda, subaguda ou crônica, e ocorre, em sua maioria, pelo contato direto, sendo a população rural a mais afetada, e através do consumo de alimentos contaminados com resíduos (OPAS/OMS, 1996).

2.3 Os estudos ecotoxicológicos e os modelos ecossistêmicos

A compreensão das propriedades físicas e químicas de um contaminante não é suficiente para que seja elaborada a avaliação de impacto e risco ambiental, uma vez que existem diferentes formas de interação entre os contaminantes e componentes do solo e da água que não podem ser esclarecidos apenas pela análise físico-química. Nesse sentido, com o intuito de melhor avaliar as respostas das espécies decorrentes da presença de contaminantes nos ambientes é que os estudos ecotoxicológicos são realizados, constituindo uma importante ferramenta para avaliar, quantificar e definir limites na emissão de contaminantes, tornando-se um importante instrumento para determinar padrões de qualidade e avaliar os riscos da contaminação ambiental (ZAGATTO, 2006).

Esses estudos são baseados em bioensaios realizados em laboratórios; em microcosmo, onde as espécies avaliadas são representativas do ecossistema, com a finalidade de prever as respostas de possíveis contaminações ambientais; em estudos em campos controlados ou mesocosmos, onde são testadas variações das condições naturais e aplicações químicas em sistemas fechados; e em estudos de avaliação em campo ecológico, em que espécies naturais estão sujeitas ao contato com diversos contaminantes e agentes estressores (HOFFMAN, 2003).

A grande maioria dos estudos ecotoxicológicos é realizada em laboratórios sob condições controladas, onde é avaliada apenas uma espécie, permitindo uma análise dos efeitos diretos dos contaminantes sobre determinada espécie em parâmetros como sobrevivência, crescimento, desenvolvimento e taxa de reprodução, além de efeitos no comportamento e na fisiologia (RAND, 1995, ARAÚJO et al., 2014). Entretanto, apesar dos estudos laboratoriais serem importantes ferramentas na avaliação ecotoxicológica, verifica-

se uma limitação na compreensão dos diversos processos decorrentes da contaminação, pois estes desconsideram a complexidade do ambiente como as características específicas de cada compartimento (água e sedimento), ou mesmo a relação entre esses compartimentos e as interações entre as diferentes populações, os quais são fatores essenciais para a compreensão do destino e efeitos dos contaminantes no ambiente (PABLO et al., 2008), subestimando os efeitos esperados em sistemas naturais.

Tal constatação baseia-se na premissa de que a contaminação ambiental afeta não somente o indivíduo, mas também as populações, as comunidades e o ecossistema por meio de uma complexa interação entre os compartimentos e os organismos, a qual dificilmente poderia ser replicada em laboratório. Nesse sentido, reconhece-se que os ecossistemas naturais apresentam características bióticas e abióticas que influenciam o comportamento dos poluentes e, conseqüentemente, nas respostas das diferentes espécies após um evento de contaminação. Portanto, estudos realizados em condições mais próximas ao ambiente natural, como é o caso dos modelos ecossistêmicos (micro e mesocosmos), são mais efetivos na compreensão dos diferentes processos que ocorrem no ecossistema após adição de um contaminante.

De acordo com Odum (1984), os mesocosmos podem ser definidos como um ecossistema artificial de pequena escala mantido sob condições naturais. Como muitas características biológicas destes sistemas dependem de seu tamanho, alguns autores têm sugerido a caracterização dos experimentos de acordo com o volume de água. A Setac (Society of Environmental Toxicology and Chemistry), por exemplo, sugere o termo mesocosmos para representamentos artificiais maiores que 15m^3 (CAQUET, 1989). Outros autores propõem volumes entre 1 e 10m^3 (LALLI, 1990), 0,1 e 1000m^3 (GRANEY et al., 1995) e de 1 a 300m^3 (LA POINT et al., 1989). Entretanto, o limite do volume de água não faz referência aos parâmetros ecológicos relevantes, como estabilidade e auto-sustentabilidade, com a possibilidade de integrar os principais processos ecológicos e tolerar as simplificações substanciais da estrutura da comunidade. Assim, o termo mesocosmos poderia melhor caracterizar os ecossistemas artificiais sob condições ambientais naturais com suficiente complexidade e estabilidade para ser autossustentável, em que o sistema se apresenta multitrófico e tamanho suficiente para ser possível mensurar alterações e influências dos estressores sobre a estrutura e dinâmica (LALLI, 1990).

Os estudos em mesocosmos são direcionados para quatro aspectos principais da avaliação dos contaminantes: estimativa do destino da substância (volatilização,

compartimentalização e degradação); avaliação dos efeitos primários e diretos nos níveis de organização de indivíduo, população e comunidade; validação de modelos matemáticos para o destino e efeitos dos contaminantes; e efeitos secundários e terciários indiretos na reestruturação organizacional do ecossistema (BOYLE; FARCHILD, 1997).

Apesar das vantagens dos estudos em campo ou modelos ecossistêmicos (micro e mesocosmos), existem algumas críticas quanto a sua utilização. Dentre as principais desvantagens estão os altos custos na elaboração dos testes, dificuldades na instalação e manutenção dos sistemas e a baixa replicabilidade dos testes. A questão das réplicas nos estudos em mesocosmos tem sido uma preocupação constante nos estudos ambientais. Por meio de um minucioso levantamento a respeito dos aspectos estruturais e experimentais dos mesocosmos, conclui-se que deste total, 37% não apresentaram réplicas em função da divergência de informações entre cada réplica de um mesmo tratamento. Além disso, foi observada diminuição da frequência de artigos publicados com o aumento do número de replicatas, reforçando o argumento da dificuldade na obtenção de réplicas que o validem (PETERSEN et al., 1999). O alto custo de execução dos experimentos, associado à perda de material experimental devido às dificuldades práticas, muitas vezes também inviabilizam a adoção de réplicas (PETERSEN et al., 1999; GUSMÃO, 2004). A dificuldade na replicabilidade está relacionada ao fato de que os experimentos em micro e mesocosmos obedecem a duas escalas: a temporal e a espacial. Quanto maior o sistema maior será semelhança deste com as condições naturais; entretanto, quanto maior a escala temporal maiores serão as variabilidades encontradas entre as réplicas e entre as características experimentais e naturais (CAIRNS, 1995; KEMP et al., 2001). Assim, as divergências entre os sistemas muitas vezes tornam questionáveis o uso de repetições (GRANEY et al., 1995). Além disso, a complexidade do sistema e as diversas variáveis decorrentes do distúrbio fazem com que seja difícil estimar claramente os efeitos do contaminante na estrutura e função do ecossistema (WIJNGAARDEN et al., 1995). Desse modo, os estudos em escala de micro e mesocosmos devem ser realizados com o cuidado de avaliar as variáveis em condições que se adequem aos limites do desenho experimental.

Nos estudos ecotoxicológicos conduzidos em modelos ecossistêmicos, em conjunto com a análise dos efeitos sobre as comunidades, é possível observar os efeitos diretos causados em uma determinada população, efeitos indiretos causados pelas modificações nas relações tróficas e as respostas decorrente de possíveis alterações nas populações em foco (RELYEA; DIECKS, 2008). Entretanto, a análise dos efeitos indiretos são mais complexas

e podem demandar um tempo maior para apresentarem respostas, o que dificulta a sua avaliação.

Apesar disso, sua relevância ecológica é maior, promovendo uma avaliação mais realística e uma compreensão mais clara dos efeitos do contaminante no ambiente. Assim, as informações geradas considerando os modelos ecossistêmicos, associados com as informações obtidas em experimentos laboratoriais, podem contribuir para a geração de procedimentos que visem o maior controle da contaminação, além de servir como subsídio para avaliação da amplitude dos riscos de uma contaminação ambiental.

2.4 A importância do estudo de comunidades na Ecotoxicologia

Os contaminantes possuem diversos efeitos que incluem desde os níveis moleculares até o indivíduo, população, comunidade e ecossistema (CLEMENTS, 2000; EVANS-WHITE; LAMBERTI, 2009). Apesar de ter sido destacada a necessidade de estudos com maior relevância ecológica na Ecotoxicologia (CAIRNS, 1983), até os dias de hoje a maioria dos estudos é desenvolvida a partir da filosofia reducionista (CLEMENTS; ROHR, 2009), focada na análise dos efeitos em nível de indivíduo, realizando experimentos monoespecíficos, excluindo as interações interespecíficas de um ecossistema.

Reconhece-se que os testes de toxicidade uni-específicos estão amplamente difundidos, com diversas abordagens metodológicas já estabelecidas, sendo identificados diferentes níveis de respostas, incluindo efeitos teciduais, receptores alvos, entre outros (KIMBALL; LEVIN, 1985). Entretanto, Clements (2000) destaca que apesar da rápida resposta dos contaminantes em relação ao nível molecular ou ao nível de indivíduo e as importantes informações decorrentes desses estudos, que favorecem a identificação precoce dos impactos nas populações, a análise baseada apenas nesses parâmetros pode produzir medidas que não condizem com os reais riscos dos impactos no ambiente, o que justifica uma avaliação mais ampla.

A visão reducionista apresenta limitações devido à sua baixa relevância ecológica e a impossibilidade de se compreender os efeitos indiretos do contaminante (CAIRNS, 1983; FLEEGER; CARMAN; NISBET, 2003) e, desse modo, as inferências realizadas a partir dessa abordagem de estudo não são suficientes para a compreensão dos processos que ocorrem na natureza (EVANS-WHITE; LAMBERTI, 2009).

Assim, pode-se reconhecer que a extrapolação dos resultados obtidos com testes exclusivamente laboratoriais promove a simplificação de importantes aspectos da Ecologia de Comunidades. Entre esses aspectos, destacam-se: (i) as diferentes espécies presentes no ambiente apresentam sensibilidades diferentes, assim, a comunidade como um todo possui uma ampla faixa de sensibilidade; entretanto, os estudos ecotoxicológicos são realizados apenas com cerca de cem espécies, o que pode acarretar na não consideração da faixa de sensibilidade como um todo (CALOW; FORBES, 2003), e, muitas vezes, são utilizadas espécies que não são representativas do ambiente que se avalia; (ii) não são analisados os efeitos como a competição entre espécies e a relações entre os organismos na teia alimentar, o que não pode ser avaliado em estudos com espécies isoladas, (iii) não são considerados a estrutura da comunidade do ecossistema e o papel das espécies e grupos funcionais presentes, (iv) as funções dos ecossistemas e a capacidade de resistência, recuperação e adaptação dos sistemas são desconsideradas (SCHMITT-JANSEN et al., 2008)

Desta forma, como é de interesse a proteção da biota como um todo, é necessária uma análise mais detalhada dos impactos gerados pelos contaminantes e, conseqüentemente, uma melhor compreensão dos reais efeitos dos contaminantes nos ecossistemas. Nesse sentido, os estudos em nível de comunidade podem demonstrar a saúde ambiental devido sua maior relevância ecológica, a resposta de múltiplas espécies do local e também pelas mudanças quali e quantitativas, as quais podem destacar os efeitos de impactos presentes por longos períodos, mesmo que em pequena intensidade (ATTRILL; DEPLEDGE, 1997).

Por outro lado, para a elaboração de uma avaliação dos reais riscos ecológicos é necessário o desenvolvimento de estudos que combinem aspectos teóricos da Ecologia com a Ecotoxicologia. Segundo Worm e Duffy (2003), existem três fundamentos básicos para a avaliação dos efeitos dos contaminantes nos ecossistemas: (i) a quantidade, expressa em relação à biomassa e produtividade, (ii) a qualidade, representada pela composição e riqueza de espécies e (iii) a estabilidade, que compreende a constância temporal, a resistência às mudanças ambientais e a capacidade de resiliência após o distúrbio.

Entretanto, os estudos em nível de comunidades e ecossistemas são muito mais complexos e muitas vezes a falta de compreensão dos mecanismos envolvidos na relação entre os diferentes níveis de organização dificulta a interpretação dos resultados (CLEMENTS, 2000). Nesse contexto, os estudos de Ecotoxicologia envolvendo comunidade requer a aplicação de conceitos de Ecologia de Comunidades, os quais englobam dois aspectos chaves: comunidades são mais do que a simples soma dos diferentes

indivíduos presentes no ambiente e a proteção da estrutura da comunidade é de suma importância para a manutenção da estrutura do ecossistema e de sua função (CALOW; FORBES, 2003).

Diversos estudos têm demonstrado a necessidade de investigar as respostas da comunidade em relação às perturbações (CLEMENTS; ROHR, 2009; FLEEGER; CARMAN; NISBET, 2003; PRESTON, 2002; RELYEA; HOVERMAN, 2006; ROHR; KERBY; SIH, 2006; SCHMITT-JANSEN et al., 2008) No entanto, questões como *qual a relação entre a perda de uma espécie e a extinção de outras espécies; quais os efeitos em cascata que podem decorrer da perda de uma espécie chave no ambiente; qual a capacidade dos ecossistemas que apresentam espécies redundantes se recuperarem de um impacto, e qual a relação entre a biodiversidade e capacidade de resistência e resiliência dos ecossistemas*, ainda permanecem pouco estudadas (CLEMENTS; ROHR, 2009; EBENMAN; LAW; BORRVALL, 2004).

Nesse contexto, Clements e Rohr (2009) sugerem que o estudo em nível de comunidade é ideal para a compreensão dos efeitos dos contaminantes no ambiente, já que consiste em uma análise intermediária entre os indivíduos e o ecossistema na hierarquização dos níveis biológicos, estando altamente relacionado aos efeitos nos níveis inferiores e superiores de organização e, conseqüentemente, aos efeitos de distúrbios nos diferentes níveis de organização. Desse modo, o estudo das interações entre as espécies presentes e os efeitos indiretos dos contaminantes na comunidade tem servido de subsídio para a análise da modulação e propagação dos efeitos de contaminantes no ambiente (CLEMENTS; ROHR, 2009).

2.5 Os efeitos indiretos da contaminação ambiental

O conceito de efeitos indiretos destaca que as comunidades não são reguladas exclusivamente pelas relações diretas com outras espécies, mas pelo conjunto dessas relações com as relações intermediárias e indiretas com outras populações (PRESTON, 2002). Nesse sentido, os efeitos indiretos são definidos como mudanças nas interações entre as espécies que podem ser transmitidos dentro de um mesmo nível trófico ou de um nível trófico para outro que promovem efeitos subletais, que afetam características ou parâmetros da espécie, e letais, que interferem na sobrevivência dos indivíduos e, conseqüentemente, na densidade da população (RELYEA, 2006).

É importante destacar que as concentrações de contaminantes encontradas no ambiente muitas vezes não produzem efeitos diretos sobre os organismos, entretanto, os efeitos indiretos podem ser observados e transmitidos ao longo da cadeia trófica afetando drasticamente o equilíbrio do sistema (CLEMENTS; ROHR, 2009). Estudos apontam, por exemplo, que mesmo pequenas modificações ou baixas concentrações de contaminantes podem desencadear grandes alterações no ecossistema, mas como é improvável que respostas em todos os níveis de organização sejam semelhantes, além da dificuldade para que esses efeitos sejam compreendidos e identificados, faz-se necessário a elaboração de pesquisas multidisciplinares e com maior relevância ecológica para uma clara compreensão em nível de ecossistemas (SCHMITT-JANSEN et al., 2008).

Atualmente, a análise desses efeitos é incentivada pela comunidade acadêmica, pois tem sido evidenciado que essa alteração promove efeitos na mesma ordem ou até mesmo superiores à mortalidade e, conseqüentemente, sobre a densidade das populações (PRESTON, 2002; RELYEA; HOVERMAN, 2006; CLEMENTS; ROHR, 2009). Esses efeitos estão intimamente relacionados com a concentração e tempo de exposição do contaminante, os quais podem promover efeitos predominantemente sobre as características do indivíduo, sua sobrevivência ou em ambos (RELYEA; HOVERMAN, 2006; CLEMENTS; ROHR, 2009). Em baixas concentrações os efeitos indiretos, mediados pelas mudanças nas características dos indivíduos, são predominantes em relação à mortalidade. Com o aumento da concentração do contaminante ocorre a tendência de igualar a importância da modulação dos efeitos indiretos tanto pelas mudanças nas características quanto pela mortalidade. Por outro lado, em altas concentrações de contaminantes os efeitos sobre a densidade são mais importantes na modulação dos efeitos indiretos, superando os efeitos mediados pelas mudanças nas características dos indivíduos (RELYEA; HOVERMAN, 2006).

Estes efeitos podem interferir nas respostas defensivas e na capacidade de forrageamento dos organismos (FLEEGER; CARMAN; NISBET, 2003), alterando as relações tróficas, interferindo direta ou indiretamente sobre a densidade, tamanho e distribuição das populações nos ecossistemas (CLEMENTS; ROHR, 2009). Apesar da importância da análise desses efeitos, este ainda é um aspecto relativamente pouco compreendido e que, atualmente, tem sido mais explorado pela Ecotoxicologia (ARAÚJO et al., 2014).

Os efeitos sobre o comportamento podem ser definidos em três tipos principais: (i) redução da taxa de predação, que pode ser consequência da interferência sobre a mobilidade e capacidade de forrageamento dos consumidores, assim como da diminuição da atividade metabólica destes; (ii) aumento da suscetibilidade à predação, resultante da inibição de alguns comportamentos, como o de evitação a predadores e a diminuição na capacidade de fuga; e (iii) a redução da suscetibilidade à predação, resultante da diminuição do contato entre recurso e consumidor (FLEEGER; CARMAN; NISBET, 2003).

Outro importante mecanismo regulador da comunidade está relacionado ao papel das espécies-chave nos ecossistemas. As espécies-chave podem ser definidas como aquelas que possuem alta influência na regulação da sustentabilidade dos sistemas, ou a espécie cuja alteração sobre o papel exercido no ambiente promove grandes alterações na comunidade e funções do ecossistema em proporção à sua pequena abundância (CLEMENTS; ROHR, 2009; POWER; TILMAN, 1996). Esse tipo de espécie está presente em todos os tipos de ambientes, podendo ser de qualquer nível trófico, apesar de mais frequentes nos níveis tróficos mais elevados, como predadores de topo, e extremamente importantes na regulação das interações, não só nas relações de consumo, mas também no mutualismo, dispersão, polinização, parasitismo e na modificação e regulação dos parâmetros abióticos (POWER; TILMAN, 1996; PRESTON, 2002).

Apesar da importância das espécies-chave no ambiente sua identificação é complexa e requer a manipulação nas escalas temporal e espacial, de diferentes níveis de organização e diversos grupos taxonômicos (POWER; TILMAN, 1996). A remoção de uma espécie-chave pode acarretar uma série de extinções secundárias, que pode ter como consequência danos irreversíveis no ecossistema. Essas espécies são de grande importância para a manutenção da função do ecossistema e a sua exclusão pode acarretar na mudança da função do ecossistema mesmo após a remoção do agente estressor (BEGON, 2007).

Além disso, outro fator importante é o fluxo de energia através da cadeia alimentar e sua alta sensibilidade aos impactos antrópicos. Apesar dos estudos de bioenergética existirem há anos na Ecologia, ainda existem poucas pesquisas que investigam os efeitos dos contaminantes sobre o fluxo energético e seus efeitos sobre a cadeia alimentar (JOHNSON, 2000). Esses estudos são essenciais para a compreensão do destino e efeitos dos contaminantes, pois estão intimamente relacionados com a estrutura trófica, dinâmica das cadeias alimentares e ao fluxo energético, e, conseqüentemente, na dinâmica da contaminação nos ecossistemas aquáticos (CLEMENTS; ROHR, 2009).

Outro importante conceito nos estudos dos efeitos indiretos dos contaminantes está relacionado à cadeia trófica e pode ser resumido em dois mecanismos principais: os efeitos “*top-down*” ou *de cima para baixo* e os efeitos “*bottom-up*” ou *de baixo para cima*. A regulação *de cima para baixo* é definida pela taxa de predação que regula a abundância das presas, enquanto a regulação *de baixo para cima* regula a abundância dos organismos pela disponibilidade dos recursos e diminuição da pressão da competição (FLEEGER; CARMAN; NISBET, 2003; BEGON, 2007). Efeitos sobre as espécies-chaves desses dois tipos de regulação podem promover mudanças drásticas no equilíbrio ecológico e consequentemente afetar todo o ecossistema local (FLEEGER; CARMAN; NISBET, 2003).

A grande maioria dos estudos dos efeitos de contaminantes em relação à regulação *top down* e *de bottom-up* é avaliada a partir da adição de agrotóxicos. Geralmente, as pesquisas para avaliação dos efeitos *bottom-up* são realizadas com a contaminação com herbicidas, diminuindo a produção primária e, consequentemente, limitando os recursos do sistema. Na regulação *top-down* os estudos são realizados com inseticidas, removendo predadores e, consequentemente, diminuindo a predação (FLEEGER; CARMAN; NISBET, 2003). Isso se deve ao fato da maior seletividade dos agrotóxicos na eliminação de determinados grupos ou níveis tróficos quando comparado a outros tipos de contaminantes, como os hidrocarbonetos e metais.

2.6 A necessidade de estudos relacionados ao clima tropical

Segundo Kwok et al (2007), cerca de 75% da biodiversidade mundial está localizada em regiões tropicais, sendo que em relação aos ecossistemas aquáticos tropicais estes também apresentam uma biodiversidade substancialmente superior quando comparada com os ambientes localizados em clima temperado. Nesse sentido, diversos estudos têm apontado para a importância de se estabelecer critérios e técnicas de gerenciamento de risco ecológico que visem promover a proteção de ambientes tropicais, que atualmente vem sendo altamente impactados por ação antrópica, devido ao desenvolvimento de atividades industriais e à falta de políticas e regulamentações adequadas para a proteção ambiental, com destaque à contaminação por agrotóxicos (PETERS et al., 1997), objeto do presente estudo.

Os efeitos ambientais variam de acordo com o tipo de contaminante, biota e características abióticas do local. Dentre os fatores bióticos destacam-se a espécie, estágio de desenvolvimento, tamanho, estado nutricional e de saúde, alterações sazonais no estado

fisiológico, dentre outros, sendo que estes fatores bióticos influenciam a resposta ao poluente de diferentes maneiras. Além disso, as características estruturais da comunidade, as interações entre as espécies, o estágio sucessional, os históricos de perturbações, entre outros, também influenciam as respostas mediante a contaminação (CLEMENTS; ROHR, 2009). Quanto aos fatores abióticos que podem influenciar na toxicidade, verifica-se que todas as variáveis são importantes, como as características físicas e químicas da água (temperatura, pH, teor de oxigênio dissolvido na água, salinidade e dureza), conteúdo de matéria orgânica e material particulado em suspensão, a velocidade do fluxo da água, dentre outros. Características climáticas do local, como intensidade luminosa, temperatura e intensidade de chuva, além das características físico-químicas do próprio composto, como solubilidade, pressão de vapor e pH, e das características do sedimento (DAAM; VAN DEN BRINK, 2010; SILVA; SANTOS, 2007; ZAGATTO, 2006; SPRAGUE, 1985), também têm influência sobre os efeitos ambientais.

Entretanto, é fato que apesar das diferenças bióticas e abióticas entre os ambientes de clima tropical e temperado e a sua influência sobre o comportamento e potencial tóxico dos contaminantes, grande parte dos estudos, normas e informações ainda é desenvolvida em países de clima temperado, baseados em características ambientais e espécies endêmicas da América do Norte e Europa, cujos resultados são utilizados como base para extrapolação na avaliação de risco em ambientes tropicais (KWOK et al., 2007; MOREIRA et al., 2010). Desse modo, o desenvolvimento de estudos com abordagem mais ecossistêmica se torna fundamental, permitindo uma melhor compreensão dos impactos dos elementos estressores sobre as características estruturais e funcionais dos ecossistemas.

3 JUSTIFICATIVA

A intensificação do uso dos agrotóxicos na agricultura tem chamado a atenção de órgãos ambientais para os possíveis impactos ambientais provocados pelo aumento do consumo em todo o mundo, gerando um amplo debate a respeito dos riscos associados à sua utilização. Atualmente, o Brasil é o maior consumidor mundial de agrotóxicos, que ainda tem como agravante a utilização de diversos princípios ativos e formulações já banidas em outros países, além da permissão e liberação da venda de produtos potencialmente mais tóxicos quando comparados a produtos de referência (produtos já existentes no mercado), o que destaca a ineficácia do processo regulatório do uso de agrotóxicos no Brasil. Mediante esse cenário, e como país detentor de ampla biodiversidade, faz-se necessário o desenvolvimento de estudos que busquem compreender os riscos da ampliação do consumo de agrotóxicos, principalmente com enfoque local.

Apesar da importância das pesquisas ecotoxicológicas, grande parte vem sendo desenvolvida para avaliar os efeitos dos contaminantes em situações experimentais mono-específicas e em condições laboratoriais controladas. Essa abordagem reducionista, apesar de todo o seu mérito no escopo do arcabouço legal, permitindo revisões de normas e possibilitando a avaliação dos danos ambientais, ainda tem sido limitada em relação à análise dos efeitos indiretos do contaminante sobre o ambiente e seu comportamento e distribuição em nível de comunidade, subestimando potenciais efeitos e desconsiderando a dinâmica dos contaminantes no ambiente aquático (CAIRNS, 1983; PABLO ET AL., 2008; FLEEGER; CARMAN; NISBET, 2003). Assim, faz-se necessário o desenvolvimento de estudos de maior relevância ecológica, como é o caso dos estudos em modelos ecossistêmicos, que permitem a avaliação dos efeitos dos contaminantes em condições mais próximas às naturais.

De forma adicional, nos últimos anos também tem merecido maior atenção na Ecotoxicologia os experimentos que buscam uma melhor compreensão dos efeitos dos contaminantes em nível de comunidade. Dentro desse escopo, salienta-se a importância da análise dos efeitos indiretos, os quais somente podem ser estudados a partir de sistemas multitróficos, nos quais é possível observar as relações entre as diferentes populações e como elas se inter-relacionam de forma direta ou indireta com outras populações, modificando a estrutura da comunidade (CAIRNS, 1983; CLEMENTS, 2000; FLEEGER; CARMAN; NISBET, 2003; EVANS-WHITE; LAMBERTI, 2009; CLEMENTS; ROHR, 2009). Diversos estudos têm demonstrado a importância da análise dos efeitos indiretos para uma

melhor compreensão das alterações ambientais decorrentes da contaminação e para a manutenção da estabilidade dos ecossistemas (PRESTON, 2002; FLEEGER; CARMAN; NISBET, 2003; RELEYA; HOVERMAN, 2006; ROHR et al., 2006; SCHMITT-JANSEN et al., 2008; CLEMENTS; RORH, 2009).

Como mencionado anteriormente, os efeitos e comportamentos dos contaminantes estão intimamente relacionados às características bióticas e abióticas dos locais impactados. Nesse sentido, como grande parte dos trabalhos da Ecotoxicologia e Ecologia de Comunidades está centralizado em países de clima temperado e muitas vezes esses estudos são utilizados como base para o desenvolvimento de política e práticas de proteção ambiental em países de clima tropical, principalmente no âmbito da regulação do uso de agrotóxicos em território brasileiro, tornando-se necessário o desenvolvimento de pesquisas que visem uma melhor compreensão dos efeitos desses contaminantes em ambientes de clima tropical (KWOK et al., 2007; MOREIRA et al., 2010). Ademais, deve-se destacar que a crescente contaminação ambiental vem ocorrendo em países em desenvolvimento, situados em regiões tropicais, além do fato que grande parte da biodiversidade mundial está localizada nessas regiões (KWOK et al., 2007).

Desse modo, as informações geradas por meio de estudos com maior relevância ecológica, analisando os efeitos sobre a estrutura da comunidade, sua dinâmica e interações tróficas, poderão contribuir para uma melhor compreensão dos efeitos da contaminação em nível de ecossistema. Além disso, os resultados advindos dessa pesquisa poderão subsidiar a elaboração de medidas que visem o controle da contaminação por agrotóxicos direcionada à proteção ambiental, além de auxiliar na análise dos riscos ecológicos e aqueles associados à saúde pública. Nesse contexto, o presente estudo tem como objetivo fazer uma análise mais realística do potencial tóxico do agrotóxico pyrimethanil, um fungicida amplamente utilizado em todo o mundo, por meio de estudos laboratoriais e modelos ecossistêmicos (mesocosmos), visando avaliar os efeitos diretos e indiretos deste contaminante nas comunidades aquáticas e, conseqüentemente, relacionar esses efeitos com a estabilidade e a resiliência ecossistêmica (CLEMENTS; ROHR, 2009).

4 OBJETIVOS

4.1 *Objetivo geral*

O objetivo geral dessa pesquisa foi avaliar os efeitos diretos e indiretos do agrotóxico Mythos® (ingrediente ativo pyrimethanil) em ecossistemas aquáticos, por meio de estudos laboratoriais com espécies de diferentes níveis tróficos e o estudo em mesocosmos (como modelos ecossistêmicos), procurando-se reconhecer as variações físicas, químicas e biológicas frente ao elemento estressor, em escala temporal de longo prazo.

4.2 *Objetivos específicos*

- Determinar os efeitos agudos e crônicos do pyrimethanil para os organismos-teste *Pseudokirchneriella subcapitata* (fitoplâncton), *Ceriodaphnia silvestrii* (zooplâncton) e *Danio rerio* (peixe); e agudos para *D. similis* (zooplâncton); reconhecendo a sensibilidade das espécies frente ao contaminante.
- Avaliar os efeitos do fungicida pyrimethanil a curto, médio e longo prazo na variabilidade física, química e biológica (comunidade fitoplanctônica e zooplanctônica) de ecossistemas aquáticos, com base em modificações estruturais (densidade e composição) e em índices ecológicos, considerando modelos ecossistêmicos (mesocosmos);
- Reconhecer os efeitos diretos e indiretos do pyrimethanil na estrutura e funcionamento dos ecossistemas aquáticos, com ênfase nas alterações das relações tróficas mediante a adição do contaminante;
- Avaliar a durabilidade dos distúrbios na estrutura e funcionamento dos ecossistemas experimentais mediante a adição do contaminante, bem como a capacidade de recuperação das comunidades aquáticas após a degradação do pyrimethanil;
- Comparar os resultados de estudos laboratoriais e em modelos ecossistêmicos, visando avaliar as diferenças nos dois modelos de exposição.

5 HIPÓTESES

As seguintes hipóteses foram formuladas nesta pesquisa:

1. Os resultados obtidos nas avaliações ecotoxicológicas em laboratório são importantes valores de referência para a avaliação dos efeitos diretos e indiretos da contaminação sobre a comunidade aquática;
2. O estudo no mesocosmo, um modelo ecossistêmico, permitirá avaliar os efeitos diretos e indiretos sobre as comunidades fitoplanctônica e zooplanctônica mediante as alterações na composição de espécies e na abundância total de indivíduos;
3. As espécies fitoplanctônicas e zooplanctônicas poderão sofrer impactos mesmo em concentrações inferiores à faixa de sensibilidade estabelecida em laboratório, uma vez que a presença de múltiplos estressores aumenta a sensibilidade das espécies;
4. As comunidades aquáticas poderão apresentar respostas à contaminação (efeitos indiretos) mesmo após a degradação total do contaminante, demonstrando a amplitude do impacto de agrotóxicos na organização biológica dos ecossistemas aquáticos.
5. O estudo em longo prazo permitirá avaliar a capacidade de recuperação dos sistemas contaminados.

6 MATERIAL E MÉTODOS

6.1 Delineamento experimental da pesquisa

Na presente pesquisa avaliaram-se os efeitos do agrotóxico pyrimethanil, utilizando a formulação comercial Mythos® (Bayer CropScience Ltda), através da experimentação em laboratório e em escala de mesocosmos, procurando compreender a dinâmica da contaminação de ecossistemas aquáticos tropicais para subsidiar futuros estudos relacionados aos efeitos de agrotóxicos em ecossistemas tropicais.

Para isso foram realizados testes de toxicidade laboratoriais com as espécies *Pseudokirchneriella subcapitata* (alga), *Ceriodaphnia silvestrii* e *Daphnia similis* (zooplâncton) e *Danio rerio* (peixe), além da utilização de mesocosmos (modelo ecossistêmico), nos quais foram monitoradas as variáveis físicas, químicas e biológicas (comunidade fitoplanctônica e zooplanctônica) por um período de 15 dias antes e 366 dias após a adição do contaminante.

A concentração utilizada para avaliar os efeitos nos mesocosmos foi abaixo da faixa de sensibilidade estabelecida para as espécies selecionadas nesse estudo (*P. subcapitata*, *C. silvestrii*, *D. similis* e *D. rerio*) e próxima ao valor estabelecido para a sensibilidade crônica de *C. silvestrii*. A concentração utilizada também esteve de acordo com um possível cenário de contaminação de ambientes aquáticos decorrentes de processos como a deriva, já que é frequente a presença de culturas agrícolas próxima a recursos hídricos.

6.1.1 Os estudos em Mesocosmos

Os mesocosmos foram instalados nas dependências do Centro de Recursos Hídricos e Estudos Ambientais (CRHEA-USP), localizado no município de Itirapina/SP, na coordenada geográfica 22°10'14"S, 47°53'57"O, com altitude de 731 metros, onde foram instaladas seis caixas de água de polietileno com medidas de 105 centímetros de altura, 175 centímetros de diâmetro na abertura superior e 143 centímetros de diâmetro na base (Figura 1), dispostas em duas linhas paralelas com três mesocosmos em cada (Figura 2).

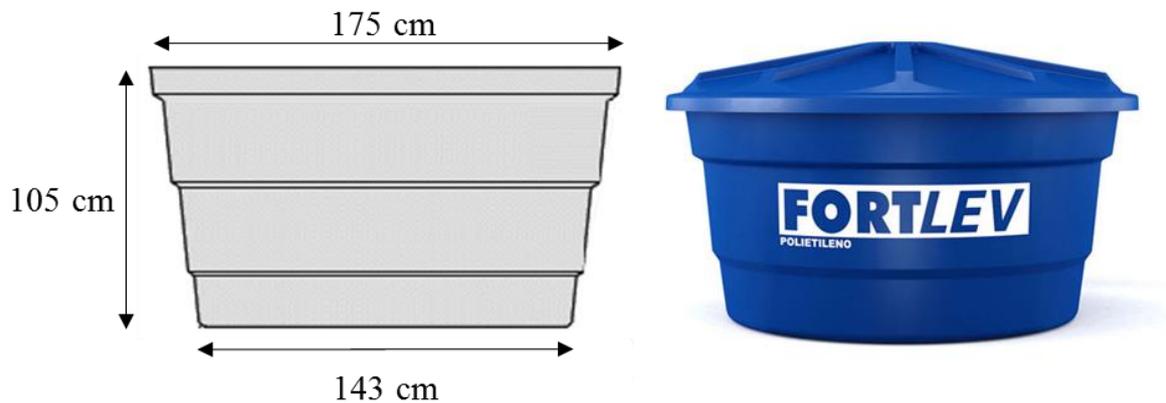


Figura 1: Esquema representando as dimensões dos mesocosmos utilizados na presente pesquisa.



Figura 2: Distribuição dos mesocosmos (com e sem contaminante) na área experimental e características do entorno, onde C refere-se aos mesocosmos que não foram contaminados e P os mesocosmos contaminados com Mithos® (A e B).

As caixas de água foram enterradas de forma que a abertura ficasse 10 centímetros acima da superfície do solo, evitando a entrada de quantidade excessiva de materiais externos pela ação das chuvas e ventos. A inclusão das caixas de água no solo foi realizada para que não houvesse grandes interferências na temperatura da água, já que o tipo de material e a forte incidência de sol poderiam causar um aumento de temperatura dentro das unidades experimentais.

Após a inclusão das unidades experimentais no solo, foi realizada a coleta do sedimento para montagem dos sistemas ambientais artificiais, o qual foi coletado na Lagoa

Dourada (Brotas, SP), localizada nas coordenadas 22°11'35.20"S e 47°55'2.65"O. A Lagoa Dourada pode ser considerada um local com baixo impacto antrópico e sem contaminação (Sanchez, 2012) (Figura 3A). O sedimento foi coletado mecanicamente com auxílio de baldes e pás, sendo colocado em sacos plásticos com capacidade de 50 quilos. Adicionalmente foram coletadas seis alíquotas de aproximadamente 50 litros de água do local para serem adicionadas em cada mesocosmo. Posteriormente, os sacos com sedimento e os galões foram distribuídos aleatoriamente nos mesocosmos formando uma camada de aproximadamente 20 centímetros em cada unidade experimental (Figura 3B).

Posteriormente a adição do sedimento, iniciou-se o processo de enchimento dos mesocosmos, utilizando-se para esta finalidade a água proveniente da Represa do Lobo, localizada nas coordenadas geográficas 22°10'18.96"S e 47°54'4.86"O, com altitude de 710 metros, a qual se localiza próximo à área onde foram instalados os experimentos. A água foi bombeada com auxílio de uma bomba de sucção, enchendo-se parcialmente cada unidade experimental de forma aleatória até atingir o volume desejado (1500 litros). Posteriormente, foram adicionadas as espécies de macrófitas coletadas na região do entorno da Represa do Lobo, sendo estas *Echinodorus* sp., *Pistia stratiotes*, *Eichornia crassipes* e *Myriophyllum aquaticum*.

Os mesocosmos foram mantidos por um período de três meses para estabilização das comunidades aquáticas, realizando-se três trocas parciais da água entre os mesocosmos (maior homogeneidade entre eles) e adição de água da represa quando necessário, em função da redução do volume pela evaporação. Durante esse período foram monitoradas as variáveis pH, oxigênio dissolvido, temperatura e condutividade com auxílio de uma sonda multiparâmetro (marca HORIBA, modelo U-10). As manipulações dos mesocosmos (troca de água entre os mesocosmos ou adição de água da represa) foram encerradas 30 dias antes do início do experimento, de forma a permitir uma maior estabilidade dos sistemas. Antes da adição do contaminante efetuou-se a escolha dos mesocosmos mediante sorteio, definindo-se quais seriam os tratamentos controle (denominados C1, C2 e C3) e contaminados (denominados P1, P2 e P3), conforme distribuição apresentada na Figura 2.

A contaminação foi realizada por meio da diluição de três soluções-estoque que foram elaboradas a partir da estimativa do volume de água presente nos mesocosmos que seriam contaminados, obtendo-se a concentração final de 1,0 mg.L⁻¹ de pyrimethanil para cada mesocosmo. Para a elaboração da solução foi realizada a diluição do produto comercial Mythos® em água mili-Q, obtendo uma solução com volume total de dois litros.

Posteriormente, as soluções foram adicionadas nos respectivos mesocosmos de forma gradativa e sobre toda a superfície dos mesocosmos.

A concentração final de $1,0 \text{ mg.L}^{-1}$ de pyrimethanil foi escolhida devido aos valores de sensibilidade para as espécies fitoplanctônica e zooplanctônica observadas na literatura científica, visando utilizar uma concentração de efeito crônicos para algumas espécies, além de estar de acordo com a concentração utilizada em outros estudos conduzidos internacionalmente com a mesma substância.



Figura 3: Local da coleta do sedimento e de água (A) e distribuição do sedimento nas unidades experimentais (B).

6.1.2 Coleta de água para as análises físicas, químicas e biológicas

Os experimentos tiveram início no dia 01/10/2012, e a partir dessa data, além do monitoramento das variáveis pH, oxigênio dissolvido, temperatura e condutividade, foi iniciada a coleta de água para a determinação dos nutrientes e concentração de pyrimethanil na água. O cronograma detalhado das coletas está resumido na Tabela 1.

Tabela 1: Cronograma de amostragem com as informações do número da coleta e dias em relação ao início da contaminação (os dias com sinais negativos correspondem ao período anterior a adição do agrotóxico).

Número da coleta	Dias a partir da contaminação	Data da coleta	Número da coleta	Dias a partir da contaminação	Data da coleta
1	-14	01/10/2012	14	27	12/11/2012
2	-11	04/10/2012	15	41	26/11/2012
3	-7	08/10/2012	16	56	10/12/2012
4	-4	11/10/2012	17	88	11/01/2013
5	0	15/10/2012	18	123	15/02/2013
6	1	17/10/2012	19	152	15/03/2013
7	3	19/10/2012	20	186	18/04/2013
8	4	20/10/2012	21	213	15/05/2013
9	7	23/10/2012	22	246	17/06/2013
10	10	26/10/2012	23	275	16/07/2013
11	13	29/10/2012	24	302	12/08/2013
12	16	01/11/2012	25	337	16/09/2013
13	21	06/11/2012	26	366	15/10/2013

As análises do pH, oxigênio dissolvido, temperatura e condutividade foram realizadas em três profundidades: a 5 centímetros da superfície, 30 centímetros da superfície e no fundo (próximo ao sedimento). Para a análise dos nutrientes, quantificação do pyrimethanil e turbidez, foram coletadas amostras de água em cada mesocosmo com auxílio de um tubo de PVC, via sifonamento, procurando-se amostrar em diferentes pontos e compreendendo toda a coluna de água de cada unidade experimental. As amostras foram acondicionadas em garrafas de polietileno previamente lavadas com HNO₃ 10% e subdivididas em três frações: uma congelada para posterior análise de nutrientes totais; a outra filtrada em filtro de fibra de vidro GF/C com abertura de 0,45 µm, para posterior determinação dos nutrientes dissolvidos, e a última acondicionada em frascos com capacidade de 50ml para posterior determinação da concentração do pyrimethanil.

No início dos experimentos também foram coletadas amostras do sedimento para a determinação da granulometria. A coleta foi realizada com auxílio de core, sendo realizadas

amostragens em três pontos diferentes em cada unidade experimental, que foram posteriormente homogeneizadas e armazenadas em potes plásticos com capacidade de 1 Kg.

As metodologias utilizadas para análise dos parâmetros limnológicos estão resumidas na Tabela 2.

Tabela 2: Metodologia de análise de algumas variáveis limnológicas das amostras de água proveniente dos mesocosmos.

Variável (unidade)	Metodologia	Referência
Temperatura (°C)		
pH	Medidor portátil	
Condutividade elétrica ($\mu\text{S}\cdot\text{cm}^{-1}$)	HORIBA U-10	-
Oxigênio dissolvido ($\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$)		
Nitrito e nitrato ($\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$)	Espectrofotometria	MACKERETH et al., (1978)
Íon amônio ($\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$)	Espectrofotometria	KOROLEFF (1976)
Nitrogênio orgânico total ($\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$)	Espectrofotometria	APHA (1995)
Fósforo total e dissolvido, fosfato inorgânico ($\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$)	Espectrofotometria	APHA (1995)
Silicato ($\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$)	Espectrofotometria	GOLTERMAN et al., (1978)
Granulometria (%)	Peneiramento e densitometria	ABNT (1968)

6.1.3 Coleta, preservação e análise do fitoplâncton

As amostras da comunidade fitoplanctônica foram coletadas em todas as coletas, sendo realizadas com auxílio de tubo de PVC procurando-se integrar toda a coluna d'água dos mesocosmos. Foram coletados 75 mL para fitoplâncton total, sendo as amostras preservadas em solução de formol com concentração final de 2%.

A análise quantitativa do fitoplâncton foi realizada pelo método de sedimentação descrita por Utermöhl (1958), utilizando-se um microscópio invertido Zeiss Axioscop, em aumento de 400 vezes. As câmaras de sedimentação utilizadas nas contagens variaram em 2, 5, 10, 15 e 25 mL, conforme a densidade dos organismos. A contagem dos campos foi feita em transectos verticais e o limite de contagem foi determinado pelo critério de estabilização do número de espécies, que foi obtido a partir de espécies novas adicionadas ao número de campos contados (CALIJURI et al., 2006).

Para a contagem do fitoplâncton, foram considerados como indivíduos os organismos unicelulares, cenóbios de clorofíceas, colônias e filamentos de cianobactérias e filamentos de diatomáceas.

A densidade dos organismos fitoplânctônicos foi calculada de acordo com a fórmula descrita em Weber (1973):

$$\text{org.L}^{-1} = (n/s.c).(1/h).(F)$$

Onde:

n = número de indivíduos efetivamente contados;

s = área do campo em mm² no aumento de 40x;

c = número de campos contados;

h = altura da câmara de sedimentação em mm;

F = fator de correção para milímetro (10³ mm³/1mL).

Os taxa foram considerados dominantes quando apresentaram densidades maiores que 50% da densidade total e quando superaram a densidade média da amostra foram considerados abundantes (LOBO; LEIGHTON, 1986).

A identificação foi feita em termos de espécie sempre que possível, com o auxílio de literatura especializada: Bicudo e Menezes (2006) para gêneros de algas; Comas (1996) para Chlorococcales; Ettl (1983) para Chlorophyta; Huber-Pestalozzi (1955) para Euglenophyceae; Komárek e Anagnostidis (1999, 2005) para Chroococcales e Oscillatoriales; Komárek e Fott (1983) para Chlorophyceae; Parra et al. (1982a, 1982b, 1982c, 1983) para Chrysophyceae, Xantophyceae, Dinophyceae, Bacillariophyta e Chlorophyceae; Prescott e Bicudo e Vinyard (1982) para Desmidiaceae. O sistema de classificação adotado para as classes taxonômicas foi o de Round (1965, 1971).

6.1.4 Coleta, preservação e análise do zooplâncton

As amostras da comunidade zooplânctônica foram coletadas para todas as amostragens, utilizando um tubo de PVC. O tubo foi inserido verticalmente e, de forma aleatória, integrando a coluna d'água dos mesocosmos, coletando 5 litros de amostra, que foram concentradas (filtradas) em um “copo amostrador” adaptado, com rede de 30 µm de abertura de malha, sendo as amostras preservadas em solução de formol 4% com adição de açúcar para preservar os ovos e carapaças dos cladóceros.

Posteriormente, a comunidade zooplânctônica foi analisada através da metodologia sugerida por Bicudo e Bicudo (2007) para cada grupo taxonômico. Os Rotifera e os nauplios de Copepoda foram contados por subamostragem em câmara de Sedgewick-Rafter, sob microscópio binocular. Para Cladocera e Copepoda realizou-se a contagem utilizando câmara de acrílico adaptada, sob microscópio estereoscópio. Toda a amostra foi analisada com a finalidade de contabilizar as espécies raras. A identificação foi realizada utilizando-

se bibliografia específica e a densidade total foi expressa em termos de indivíduos por litro (ind.L^{-1}).

A bibliografia utilizada para a identificação dos Copepoda foram: Rocha e Matsumura-Tundisi (1976), Reid (1985), Matsumura-Tundisi (1986), Montú e Gloeden (1986), Pennak (1989) e Morales et al. (1996). Para a identificação de Cladocera foram utilizados os trabalhos de Montú e Gloeden (1986), George-Michael e Sharma (1988), Pennak (1989) e Elmoor-Loureiro (1997) e para a identificação dos rotíferos foram consultados os trabalhos de Koste (1978), Pennak (1989), Segers (1995), Segers e Dumont (1995) e Koste e Terlutter (2001).

6.1.5 Monitoramento das variáveis climatológicas

As informações climatológicas foram obtidas na Estação Meteorológica do CRHEA/EESC/USP, a qual se localiza a 20 metros da área experimental. No presente estudo foram medidas a temperatura do ar (mínima, média e máxima), a precipitação pluvial, a taxa de evaporação e radiação solar.

6.2 Análise dos dados obtidos nos mesocosmos: variáveis limnológicas

As variáveis limnológicas foram analisadas através do Teste T de Student, comparando-se os parâmetros obtidos para o grupo controle com aquelas do grupo contaminado com pyrimethanil, com a finalidade de avaliar se houvesse diferença significativa entre os dois tratamentos. Para essa análise foram determinados 6 grupos que constituíam diferentes períodos do monitoramento, sendo um grupo antes da contaminação (desde 14 dias antes da contaminação até o momento anterior à contaminação) e cinco grupos após a contaminação (do 1° ao 16°, 21° ao 56°, 88° ao 186°, 213° ao 302° e 337° ao 366°). Foram considerados estatisticamente diferentes as comparações entre os grupos que apresentaram valores de p menores do que 0,05. As análises foram realizadas no software SPSS 23 (licença de teste). Também foi realizada uma Análise de Componentes principais (ACP) para verificar a variação espacial (tratamentos) e temporal das variáveis limnológicas. A análise da ACP foi realizada com auxílio do software Past (versão 2.17c).

A variabilidade entre as réplicas de cada tratamento foi determinada calculando-se o coeficiente de variação de Pearson ($\text{CV} = \text{desvio padrão} * 100 / \text{média}$) para as variáveis analisadas durante todo o período experimental.

Efetuu-se, de forma complementar, o cálculo do índice do estado trófico (IET), com a finalidade de avaliar o grau de trofia dos mesocosmos, utilizando-se a equação proposta por Lamparelli (2004), baseada no Índice de Carlson (CARLSON, 1977). Os resultados do índice calculados a partir dos valores de fósforo podem ser relacionados ao potencial de eutrofização, já que este nutriente atua como o agente causador do processo. A equação utilizada para o cálculo foi:

$$IET = 10 \times (6(1,77 - 0,42 \times (\ln PT) / \ln 2))$$

Os valores do IET foram classificados segundo as classes de estado tróficos descritos na Tabela 9 do Apêndice A.

6.3 Análise dos resultados das comunidades aquáticas

Para análise estatística das informações provenientes das comunidades fitoplanctônica e zooplanctônica utilizou-se a metodologia da Principal Response Curve (PRC) (VAN DEN BRINK; TER BRAAK, 1999). Essa metodologia consiste em um método de ordenação de estatística multivariada que permite avaliar as alterações em termos de composição da comunidade ao longo do tempo (amostragens) em relação à uma comunidade controle. Essa análise foi realizada com auxílio do software Canoco 5.0 (TER BRAAK; ŠMILAURE, 2012).

A fim de compreender as diferenças entre os resultados provenientes da análise em relação à composição da comunidade em diferentes níveis taxonômicos foram realizadas diferentes análises em relação à composição por espécies, gêneros, famílias e classes. Nos resultados são apresentadas duas análises para cada grupo (fitoplâncton e zooplâncton), sendo que uma delas sempre em nível de espécie e a segunda foi escolhido o nível mais relevante para cada caso, baseando-se no número de taxa, sendo que para o fitoplâncton foi apresentada a análise dos gêneros e para o zooplâncton as famílias.

As espécies fitoplanctônicas e zooplanctônicas identificadas foram classificadas em grupos funcionais. Para as espécies fitoplanctônicas foram utilizados os grupos propostos por Padisák, Crossetti e Naselli-Flores (2009) e Reynolds et al. (2002). As espécies zooplanctônicas foram classificadas a partir do tamanho e hábitos alimentares das espécies de Cladocera, Copepoda e Rotifera identificadas, sendo separadas nos seguintes grupos

funcionais: filtradores pequenos com até 200 µm de maior dimensão linear axial (GALD) (rotíferos herbívoros e nauplios de Calanoida e Cyclopoida); filtradores médios com até 1 mm de GALD (cladóceros e copepoditos de Calanoida); e predadores (copepoditos e adultos de Cyclopoida).

6.3.1 Índices ecológicos utilizados na análise de comunidades

A partir dos dados obtidos da composição e densidade da comunidade fitoplancônica e zooplancônica foram calculados os seguintes índices ecológicos:

Índice de riqueza (d): o Índice de Margalef representa o número total de espécies em uma unidade amostral, expressando de forma compreensível e instantânea, a diversidade (ODUM, 1983):

$$d = \frac{S - 1}{\log_2 N}$$

Onde:
S= número de espécies
N= número de indivíduos

Índice de Diversidade (H'): a diversidade de espécies considera tanto o número de espécies quanto a abundância das espécies, podendo ser medida por vários índices. Neste estudo foi utilizado o índice de diversidade de Shannon-Weaver, o qual expressa a importância relativa de cada espécie e não apenas a proporção entre espécies e indivíduos. Odum (1988) reportou que este é o índice que atribui um maior peso às espécies raras, prevalecendo, desta forma, o componente de riqueza de espécies (PEET, 1974). O índice de Shannon-Weaver assume, também, que os indivíduos são amostrados ao acaso de uma população indefinidamente grande (PIELOU, 1983) e que todas as espécies estão representadas na amostra coletada, sendo relativamente independente do tamanho da amostra.

$$H' = - \sum_{i=1}^S p_i \ln p_i$$

Onde:
pi = ni/n
ni = número total de indivíduos de cada táxon na amostra
n = número total de indivíduos na amostra.

Índice de Dominância (1-D): o índice de Simpson exprime, basicamente, a abundância das espécies mais comuns, sendo, conseqüentemente, mais sensível a mudanças que ocorrem nestas espécies (MAGURRAN, 2004). O índice expressa a probabilidade de dois indivíduos retirados aleatoriamente não pertencerem à mesma espécie, dando maior peso as espécies comuns.

$$1 - D = 1 - \sum \frac{ni (ni - 1)}{N (N - 1)}$$

Onde ni = número total de indivíduos de cada táxon na amostra e n = número total de indivíduos na amostra.

Índice de Equitabilidade (J'): o índice de equitabilidade de Pielou refere-se ao padrão de distribuição de indivíduos entre as espécies, representando a medida da similaridade das abundâncias de diferentes espécies em um grupo ou comunidade, indicando se há ou não dominância de uma espécie ou grupo de espécies (ODUM, 1983).

$$J' = \frac{H'}{\log_2 S}$$

Onde:
H' = diversidade da amostra
S = número de taxa na unidade amostral

Os índices ecológicos foram analisados através do Teste T de Student, comparando o grupo controle com o grupo contaminado com pyrimethanil para cada índice, com a finalidade de avaliar se havia diferença significativa entre os dois tratamentos. Para essa análise foram utilizados os mesmos grupos (6) utilizados na análise das variáveis limnológicas: um grupo antes da contaminação (14 dias anteriores ao momento da contaminação) e cinco grupos após a contaminação (1° ao 16°, 21° ao 56°, 88 ao 186°, 213° ao 302° e 337° ao 366°). Foram considerados estatisticamente diferentes após comparações entre os pares de grupos que apresentaram valor de *p* menor do que 0,05. Estas análises foram realizadas no software SPSS 23 (licença de teste).

Também foi calculada a frequência de ocorrência das espécies fitoplanctônicas e zooplanctônicas, considerando o número de amostras em que o organismo ocorreu em relação ao número total de amostras coletadas de acordo com a fórmula proposta por Dajoz (1983). A partir das frequências encontradas, as espécies foram classificadas em quatro grupos, de acordo com o critério: *Constantes*: espécies presentes em 79,9% ou mais das amostras; 2. *Frequentes*: espécies presentes entre 50 e 80% das amostras; 3. *Comuns*: espécies presentes entre 20 e 49,9% das amostras; 4. *Raras*: espécies presentes em 19,9% ou menos das amostras.

6.4 Manutenção, cultivo e testes de toxicidade

6.4.1 *Danio rerio*

Os juvenis de *Danio rerio* foram obtidos comercialmente e mantidos em aquários de 25 L com água reconstituída, sob aeração constante e temperatura de 25°C (± 2). A alimentação foi ministrada duas vezes ao dia com ração comercial Tetramim®, seguindo as recomendações da norma NBR 15088 (ABNT, 2011b). Para assegurar a homogeneidade do lote, 10% do total de juvenis de cada lote obtido de *Danio rerio* que seriam utilizados nos testes foram avaliados biometricamente, sendo esses organismos posteriormente descartados devido ao estresse ocasionado pelo manuseio. O comprimento padrão foi obtido com um paquímetro digital profissional e o peso total de cada indivíduo foi obtido em balança analítica Mettler, modelo AE 240. Para avaliar a sensibilidade de cada lote de peixes, foram realizados testes de toxicidade com a substância de referência cloreto de potássio, seguindo as recomendações da Norma ABNT (2011).

Na avaliação dos efeitos tóxicos do agrotóxico ao *Danio rerio*, foram considerados os testes *in situ* (exposição dos organismos dentro dos mesocosmos) e testes laboratoriais com água proveniente dos mesocosmos, além dos testes de toxicidade para determinação da faixa de sensibilidade da espécie em relação ao contaminante.

Os testes de toxicidade *in situ* e com a água dos mesocosmos foram baseados nas recomendações da norma NBR 15088 (ABNT, 2011b), para realização de ensaios agudos (46 e 96 horas) e NBR 15499 (ABNT, 2007), para realização de testes crônicos de curta duração. No entanto, uma adaptação em relação à fase de vida do organismo teste foi realizada, utilizando-se juvenis ao invés de alevinos, em função da maior sensibilidade dos alevinos, o que poderia ocasionar mortalidade não relacionada com o efeito do agrotóxico.

Os testes de toxicidade crônico de curta duração, com as amostras dos mesocosmos, foram realizados em laboratório, tendo 3h após a contaminação dos mesocosmos, com 4 réplicas, contendo 5 organismos cada, sob condições de temperatura (25°C ± 2) e fotoperíodo de 12:12 horas claro/escuro e duração de 168h (crônico de curta duração), em regime semi-estático, efetuando-se duas trocas de água com água coletada nos mesocosmos, compreendendo 50% do volume total do teste, sendo a primeira após 48h e a segunda 96h a partir do início do teste. Foram feitas as leituras dos parâmetros pH, oxigênio dissolvido e condutividade no início e ao término dos experimentos.

A instalação das câmaras para realização dos testes de toxicidade *in situ* ocorreu 24 horas antes do início da contaminação com o agrotóxico. As câmaras foram confeccionadas em tubos de PVC, com 20 cm de comprimento, 7,5 cm de diâmetro e capacidade para 900ml de água, possuindo uma abertura superior, uma inferior e duas laterais (dispostas paralelamente) fechadas com telas de 1 milímetro de abertura de malha (Figura 4). O conjunto formado por 3 câmaras (teste em triplicata) foi suspenso em cada mesocosmo por meio de cordas, a aproximadamente 20 centímetros da lâmina de água. Um total de 5 organismos-teste foram adicionados em cada câmara, totalizando 15 organismos para cada mesocosmo e 45 para cada tratamento. Os indivíduos que foram utilizados nos testes foram aclimatados nos tanques em potes de 1 litro (um pote para cada 5 indivíduos), com metade do volume de água de cultivo e metade de água do mesocosmo, por um período de duas horas antes da inclusão nas câmaras e da adição do contaminante nos mesocosmos contaminados. Os testes *in situ* tiveram duração de 7 dias (168h), sendo avaliados os *endpoints* mortalidade e imobilidade, seguindo o mesmo padrão de avaliação estabelecido para os ensaios agudos e crônicos de curta duração com peixes realizados em laboratório. Foram feitas as leituras dos parâmetros pH, oxigênio dissolvido e condutividade no início e ao término dos experimentos. Os procedimentos metodológicos adotados na montagem do experimento *in situ* seguiram as recomendações de Fracácio et al. (2009).

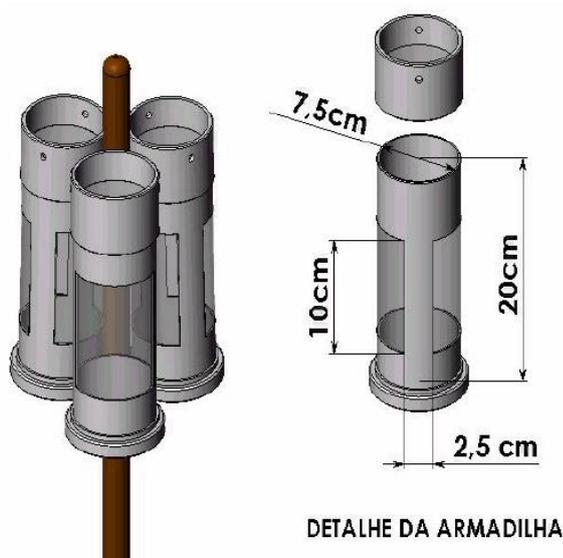


Figura 4: Representação esquemática das armadilhas utilizadas para a realização dos testes de toxicidade *in situ* com *Danio rerio*.

Os testes de toxicidade em laboratório aguda com água dos mesocosmos foram realizados em dois regimes: estáticos (48 horas) e semi-estáticos (96h), sendo que no semi-estático foi realizada uma troca da solução-teste após 48h do início do teste. Ambos os testes foram realizados com duas réplicas, contendo 5 organismos cada, obedecendo a proporção de 1g de peixe para 1 litro de solução, sob condições de temperatura de 25°C ±2 e fotoperíodo de 12 horas, seguindo as recomendações da ABNT (ABNT, 2011). A análise da toxicidade aguda consistiu na avaliação de dois *endpoints*: a mortalidade, determinando-se a CL₅₀; e imobilidade dos organismos, o que possibilitou o cálculo da CE₅₀.

Medidas de pH (potenciômetro B374), condutividade (condutivímetro 145A), dureza (titulação) e oxigênio dissolvido (oxímetro YSI) da solução-teste foram realizadas ao início, a cada troca de água e ao final dos experimentos nos testes de toxicidade laboratorial, sendo que para os experimentos *in situ* foram consideradas as análises físicas e químicas do próprio monitoramento dos experimentos em mesocosmos.

6.4.2 *Pseudokirchneriella subcapitata*

O cultivo e manutenção de *Pseudokirchneriella subcapitata* foi realizado no Laboratório de Ecotoxicologia do NEEA/CRHEA/EESC/USP. A cultura foi mantida em meio de cultivo L.C. Oligo, conforme metodologia descrita na NBR 12648 (ABNT, 2011a). O meio foi previamente esterilizado em autoclave a 121°C por 20 minutos, seguido pela inoculação de uma concentração de aproximadamente 1 x 10⁵ células.mL⁻¹, que foram mantidas em aeração contante, temperatura de 25°C (± 2) e iluminação permanente de 4000 lux.

Para a avaliação da sensibilidade, as células algais de *P. subcapitata*, em fase exponencial de crescimento, foram expostas por um período de 96 horas ao cloreto de sódio (NaCl), nas concentrações de 0 (controle); 0,5; 2,0; 3,5; 5,0 e 6,5 g.L⁻¹. Os experimentos foram realizados em triplicatas, em erlenmeyer, com 250 mL de capacidade, contendo 100mL da solução-teste. Os frascos foram colocados em uma mesa agitadora com velocidade de agitação de 100 a 175 rpm, sob iluminação permanente de 4000 lux e temperatura controlada de 25°C (±2). Os materiais utilizados na manutenção do cultivo e nos testes de toxicidade crônica foram previamente lavados com detergente neutro e HCl 1M, enxaguados com água destilada e autoclavados por 20 minutos a 121°C (ABNT, 2011). Ao final de cada teste realizou-se a medição do pH (potenciômetro B374) de cada réplica, sendo coletadas e fixadas alíquotas de 5 mL com solução de lugol acético, para posterior

determinação da densidade celular, realizada por contagem de células ao microscópio óptico utilizando-se um hemocitômetro (Improved Neubauer-Bright Line).

Os testes de sensibilidade ao fungicida pyrimethanil (Mythos®) foram realizados nas mesmas condições do teste de sensibilidade, previamente descrito. Para a realização dos testes definitivos foi realizado um teste preliminar para determinar a faixa e as concentrações que seriam utilizadas nos testes definitivos, avaliando-se as concentrações 0,5, 1, 2, 4, 8, 16, e 32 mg.L⁻¹ de pyrimethanil. Todos os testes de toxicidade seguiram as recomendações da ABNT (2011), sendo que os procedimentos de manutenção do cultivo, coleta das amostras, preparo das soluções-teste e inoculação com a espécie algal foram realizados em condições assépticas em cabine de fluxo laminar.

6.4.3 *Daphnia similis* e *Ceriodaphnia silvestrii*

Os cultivos dos organismos foram mantidos em cristalizadores com capacidade para 2,0 litros de água de manutenção, sendo monitorados a dureza (40 a 48 mg.L⁻¹ de CaCO₃) e o pH (para 7,0 a 7,6) de acordo com a Normas NBR 12648 (ABNT, 2009). As trocas da água de manutenção foram realizadas três vezes por semana, em dias alternados, e o início de novos cultivos foi feito semanalmente, a partir de indivíduos com idade em torno de 24 horas, com a finalidade de se manter lotes de organismos com idades controladas. Para alimentação foram utilizadas um alimento constituído por células da alga *Pseudokirchneriella subcapitata*, em fase exponencial de crescimento, na concentração de 10⁵ células.mL⁻¹ por organismo, e um preparado, que foi denominado de alimento composto, constituído por fermento biológico seco (Fleischmann®) e ração para peixe (Vitormônio®). O alimento composto foi elaborado misturando-se 0,25 g de fermento biológico diluído em 50 ml de água destilada em 25 ml da mistura de ração para peixe, sendo utilizado 1ml.L⁻¹ deste preparado junto com a suspensão algal em cada manutenção do cultivo.

Os cultivos de *Ceriodaphnia silvestrii* foram mantidos em temperatura de 25°C (± 2), fotoperíodo de 16 horas e intensidade luminosa de 1000 lux e 8 horas de escuro, enquanto os cultivos de *Daphnia similis* foram mantidos em temperatura de 23°C (± 2), fotoperíodo de 16 horas e intensidade luminosa de 1000 lux e 8 horas de escuro.

Previamente à realização dos testes de toxicidade com o agrotóxico, determinou-se a faixa de sensibilidade de *C. silvestrii* e *D. similis*, utilizando-se as substâncias cloreto de sódio (NaCl) e cloreto de potássio (KCl) para *C. silvestrii* e *D. similis*, respectivamente.

As condições dos testes de toxicidade aguda seguiram as recomendações da norma ABNT (2009), com duração de 48 horas, utilizando água de diluição utilizada no cultivo (água reconstituída) e um número mínimo de 5 concentrações por teste. Foram utilizadas 4 réplicas para cada tratamento com 5 organismos em cada réplica, com idade entre 6 e 24 horas, mantidos em um fotoperíodo de 16 horas e intensidade luminosa de 1000 lux e 8 horas de escuro. O controle e as soluções-teste foram mantidos com pH entre 7,0 e 7,6 e dureza de 40 a 48 mg.L⁻¹ de CaCO₃. A única condição que diferiu entre os testes de toxicidade foi a temperatura, sendo que para *C. silvestrii* foi mantida a temperatura de 25°C (± 2) enquanto que para *D. similis* utilizou-se 23°C (± 2). Ao final de cada teste de toxicidade, foram contabilizadas as mortes ou imobilidade dos organismos, expressando os resultados em relação às concentrações de CE₁₀, CE₅₀ e CE₉₀. Foram realizados seis testes definitivos com a espécie *C. silvestrii* e quatro testes definitivos com a espécie *D. similis*.

As variáveis pH (potenciômetro B374), condutividade (condutivímetro 145A), dureza (titulação) e oxigênio dissolvido (oxímetro YSI) foram medidas no início e ao final de cada teste.

Testes preliminares foram realizados para ambos os organismos-teste, utilizando o contaminante, seguindo as mesmas recomendações anteriormente mencionadas, determinando as menores concentrações possíveis que causam imobilidade a 100% dos organismos e a maior concentração na qual não se observa imobilidade. Posteriormente foram realizados os testes definitivos, utilizando como controle a água de diluição (água reconstituída), sendo que as soluções a serem testadas foram elaboradas a partir da diluição do produto comercial Mythos® em água destilada, gerando uma solução-estoque com concentração final de 1g.L⁻¹ de pyrimethanil, que posteriormente foi diluída em água reconstituída.

Os testes de toxicidade crônica com *C. silvestrii* seguiram as recomendações da norma NBR 13373 (ABNT, 2010), com duração aproximada de sete dias, a qual foi determinada para que no controle fosse atingido um número mínimo de neonatos ou a terceira cria. Foram realizados dois testes definitivos, onde os organismos foram expostos ao controle, com a mesma água utilizada no cultivo de *C. silvestrii* (água reconstituída e células algais) e um número mínimo de 5 concentrações de água de cultivo contaminada com o agrotóxico por teste de toxicidade. As concentrações testadas foram obtidas a partir da diluição do produto comercial Mythos® em água destilada, gerando uma solução-estoque com concentração final de 1g.L⁻¹ de pyrimethanil, que posteriormente foi diluída na mesma

água utilizada no cultivo (água reconstituída e células algais). Foram utilizadas 10 réplicas para cada tratamento, colocando-se aproximadamente 15 ml da solução-teste em cada recipiente-teste, com 1 organismo em cada réplica, mantidos em um fotoperíodo de 16 horas e intensidade luminosa de 1000 lux e 8 horas de escuro e temperatura de 25°C (± 2). O controle e as soluções-teste estiveram com pH entre 7,0 e 7,6 e dureza de 40 a 48 mg.L⁻¹ de CaCO₃.

Foram realizadas duas trocas, sendo uma no terceiro e a outra no quinto dia a partir do início do teste de toxicidade, onde os recipientes-testes foram renovados de forma aleatória, separando os indivíduos com o auxílio de uma pipeta *Pasteur* de vidro e posteriormente liberando-o com cuidado próximo da superfície da solução.

As variáveis oxigênio dissolvido, pH e condutividade foram determinadas em todas as concentrações no início dos testes de toxicidade e para todas as soluções a serem descartadas. Nas soluções utilizadas para a troca foram determinadas apenas na menor e maior concentrações das soluções-teste e no controle, devido à pequena variação que foi observada entre as diferentes soluções-teste.

Na renovação das soluções-teste foram registrados o total de indivíduos adultos sobrevivente e o número de neonatos vivos em cada recipiente-teste. Nos recipientes testes em que foram encontrados organismos jovens vivos e o adulto morto, o jovem foi contabilizado no cálculo estatístico de reprodução e morte para o cálculo estatístico da sobrevivência. Ao final dos experimentos foram avaliados os efeitos sobre a sobrevivência dos organismos e a reprodução, expressando-se os resultados em CE₁₀, CE₅₀ e CE₉₀.

6.5 Análise dos dados ecotoxicológicos

Nos testes ecotoxicológicos as concentrações utilizadas para cada espécie estão apresentadas em valores nominais baseados na concentração do princípio ativo pyrimethanil, sendo que o produto utilizado para a elaboração dos testes foi o mesmo utilizado para os experimentos em campo, o Mythos®, que possui uma concentração de 300 gramas de pyrimethanil por litro.

Os resultados dos testes de toxicidade foram analisados no software GenStat 11^a edição (Lawes Agricultural Trust 2009, VSN International Ltd., Oxford, UK), no modelo de regressão log-logistic e a Equação 1, onde y é a fração dos organismos afetados, mortalidade

ou imobilidade (adimensional), *conc* é a concentração em que os organismos foram expostos em mg.L⁻¹ e *a* o ln EC₅₀, sendo *b* a inclinação e *c* a fração do efeito de fundo:

$$y(\text{conc}) = c + \frac{1 - c}{1 + e^{-b(\ln \text{conc} - a)}}$$

Após a determinação das concentrações de efeito nos organismos foi elaborada uma curva de distribuição das sensibilidades (Species Sensitivity Distribution, SSD). A curva foi elaborada no software ETX^{2.0} (VAN VLAARDINGEN et al. 2004), ajustada para o modelo de dados log-normal.

6.6 Determinação da concentração de pyrimethanil

A análise da concentração real do pyrimethanil dos experimentos foi realizada no Laboratório de Química Ambiental (LQA), do Instituto de Química, da Universidade de São Paulo, Campus de São Carlos, seguindo a metodologia descrita por Müller et al. (2012).

A quantificação foi determinada por cromatografia líquida de alta eficiência (HPLC Shimadzu LC-20A, UV-VIS detector SPD-20A), utilizando uma coluna C18 (pré-coluna 4.3×10 mm, coluna principal 4.3×150 mm, 5 µm de tamanho de partículas, 120°A de tamanho do poro) e temperatura da coluna de 25°C. Foi aplicado um fluxo isocrático de (1ml.min⁻¹) operado com fase móvel constituída por 40% de metanol (fase A) e 60% de água Mili-Q (fase B). Foram injetados 100 µl de amostra, com tempo de corrida de 15 minutos.

Para elaboração da curva analítica foram injetadas 3 amostras de cada concentração (0,1; 1; 10; 50; 100; 250; 500; 750 e 1000 µg.L⁻¹ de pyrimethanil, Pestanal®, Sigma-Aldrich).

As amostras ambientais foram constituídas de uma amostra de 50 ml, compreendendo toda a coluna d'água. As amostras foram acondicionadas em frascos de polietileno e congeladas à temperatura de -4°C imediatamente após a coleta.

7 RESULTADOS

7.1 Estudos em mesocosmos

7.1.1 Monitoramento das variáveis pH, oxigênio dissolvido, temperatura, e condutividade elétrica da água

Pelos resultados das análises estatísticas não se verificam diferenças entre os tratamentos controle e contaminados para as variáveis pH, oxigênio dissolvido, temperatura, condutividade e turbidez, nas coletas iniciais. Diferença significativa ($p < 0,05$) foi registrada para a condutividade nos dois últimos períodos, correspondente do 213° ao 366° dias após o início do experimento, na qual a média da condutividade dos mesocosmos controle foi inferior aos mesocosmos contaminados. Para a turbidez a diferença ocorreu no período de 21° ao 56° dia de monitoramento, sendo que a média dos valores de turbidez dos mesocosmos controle foi significativamente superior aos contaminados.

Os valores médios de pH estão apresentados na Figura 5 e também na Tabela 1 do Apêndice A, verificando-se que a variação foi de 4,18 a 7,22 para C1; de 4,69 e 9,21 para C2 e de 4,47 a 7,26 para C3. Nos mesocosmos que sofreram contaminação os valores de pH estiveram entre 4,51 e 6,93 para o P1; entre 4,21 e 7,94 para P2 e entre 4,63 e 7,3 para P3. Os valores de pH foram bem semelhantes entre os tratamentos (controle e contaminados) e entre suas réplicas, embora algumas diferenças tenham ocorrido entre o 10° e 13° dia para os mesocosmos C2 e C3, com um aumento mais acentuado nos valores de pH quando comparado a C1 e as réplicas dos mesocosmos contaminados (P1, P2 e P3), bem como para o 186° e 213° dia para os mesocosmos P2 e P3.

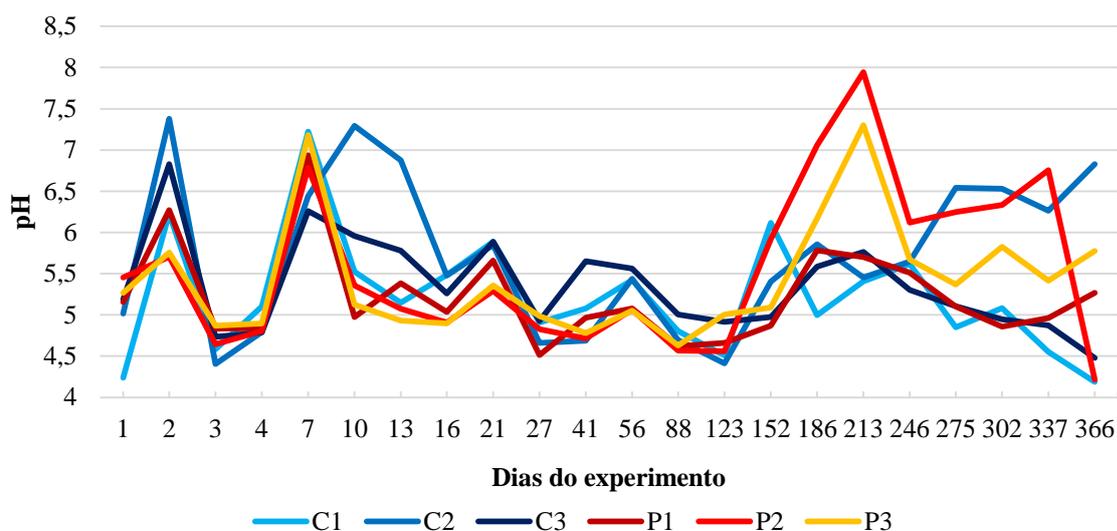


Figura 5: Valores médios de pH obtidos nos tratamentos controle (C1, C2 e C3) e contaminados com pyrimethanil (P1, P2 e P3) nos experimentos em mesocosmos.

Em relação ao oxigênio dissolvido (Figura 6 e também na Tabela 1 do Apêndice A), verifica-se que os valores foram similares na maioria dos dias amostrados, com pequena diferença entre os tratamentos nos primeiros dias do monitoramento. No tratamento controle os valores variaram entre 6,11 e 9,08 mg.L⁻¹ para C1; de 6,32 a 10 mg.L⁻¹ para C2 e de 6,07 a 9,54 mg.L⁻¹ para C3; enquanto nos mesocosmos contaminados os valores estiveram entre 6,14 e 9,49 mg.L⁻¹ em P1; entre 6,07 e 9,64 mg.L⁻¹ em P2 e entre 6,06 e 9,51 mg.L⁻¹ em P3.

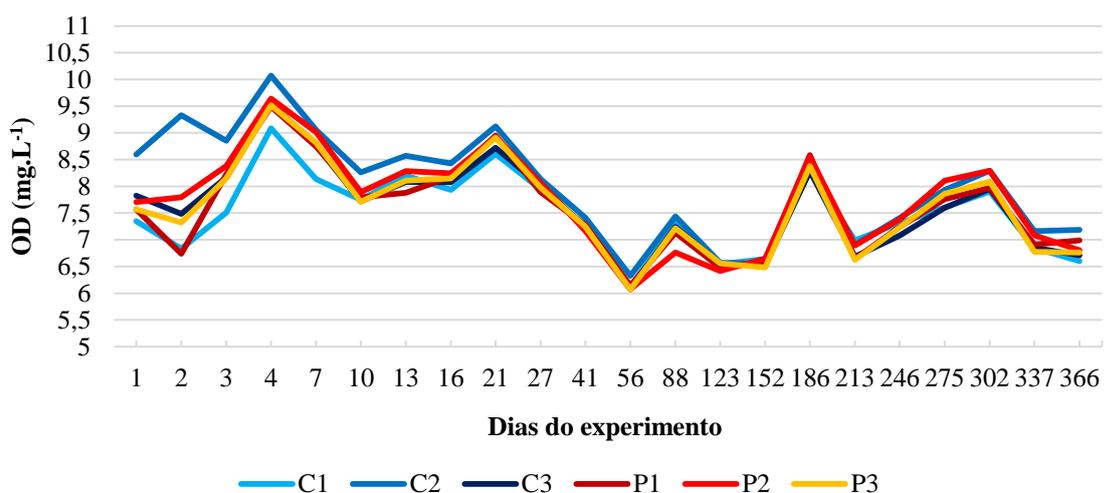


Figura 6: Valores médios de oxigênio dissolvido (mg.L⁻¹) obtidos nos tratamentos controle (C1, C2 e C3) e contaminados com pyrimethanil (P1, P2 e P3) nos experimentos em mesocosmos.

Os resultados de condutividade elétrica estão apresentados na Figura 7 (e na Tabela 2 do Apêndice A), verificando-se que estes variaram entre 9 e 21 $\mu\text{S}/\text{cm}^2$, entre 8 e 23 $\mu\text{S}/\text{cm}^2$ e 6 e 26 $\mu\text{S}/\text{cm}^2$ para os tratamentos C1, C2 e C3, respectivamente, e entre 5 e 21 $\mu\text{S}/\text{cm}^2$, 7 e 23 $\mu\text{S}/\text{cm}^2$ e 6 e 23 $\mu\text{S}/\text{cm}^2$ para os tratamentos P1, P2 e P3, respectivamente.

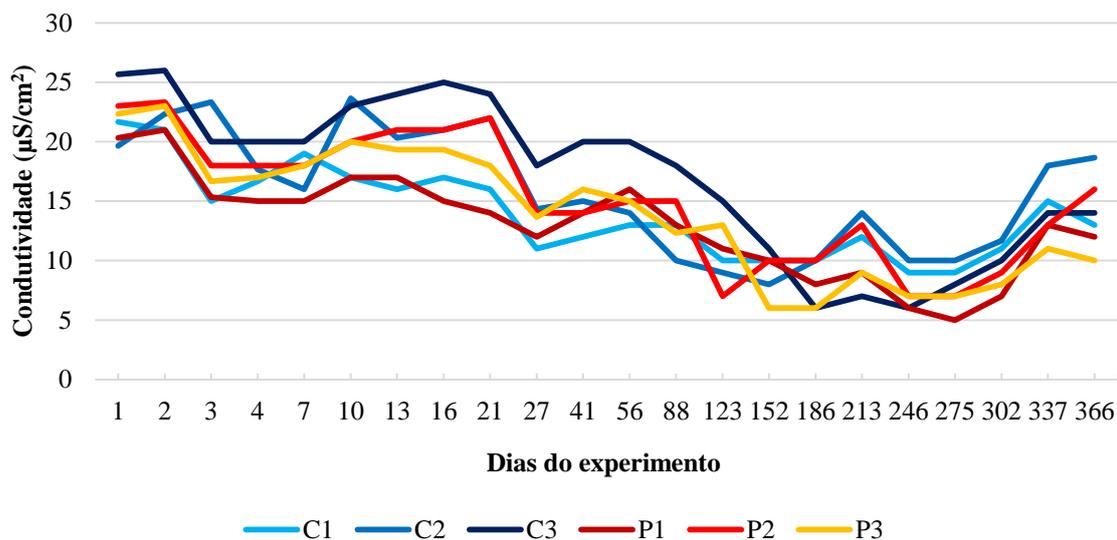


Figura 7: Valores médios da condutividade ($\mu\text{S}/\text{cm}^2$) obtidos nos tratamentos controle (C1, C2 e C3) e contaminados com pyrimethanil (P1, P2 e P3) nos experimentos em mesocosmos.

A temperatura foi a variável que apresentou a maior semelhança entre os tratamentos controle (C1, C2 e C3) e contaminados com pyrimethanil (P1, P2 e P3), conforme apresentado na Figura 8 (e na Tabela 2 do Apêndice A). Os valores obtidos variaram entre 15,7 e 26,9°C; entre 15,9 e 26°C e entre 15,8 e 26,97°C nos mesocosmos C1, C2 e C3, respectivamente. Para o grupo contaminado, os valores variaram entre 16 e 27°C; entre 15,5 e 26,9°C e entre 15,9 e 27,1°C, para os mesocosmos P1, P2 e P3, respectivamente.

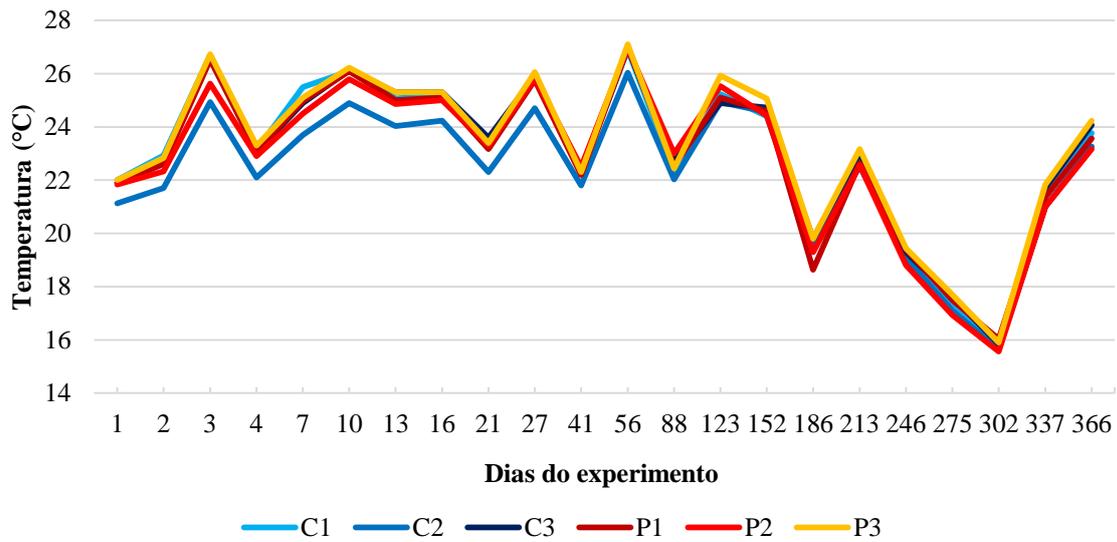


Figura 8: Valores médios da temperatura (°C) obtidos nos tratamentos controle (C1, C2 e C3) e contaminados com pyrimethanil (P1, P2 e P3) nos experimentos em mesocosmos.

A maior variação temporal, independente do tratamento, foi registrada para a variável turbidez (Figura 9 e na Tabela 3 do Apêndice A). Os valores obtidos para a análise de turbidez variaram entre 5 e 27 NTU; entre 12 e 84 NTU e de 2 a 34 NTU, respectivamente para os mesocosmos C1, C2 e C3, pertencentes ao grupo controle. Para o grupo contaminado a variação foi de 9 a 29 NTU, de 8 a 102 NTU e de 3 a 48 NTU, para os mesocosmos P1, P2 e P3, respectivamente. Os resultados obtidos demonstram que os mesocosmos C2 e P2 apresentaram valor médio para a turbidez superior quando comparado com os outros mesocosmos. O mesocosmos C2 apresentou, durante os 100 primeiros dias, um valor de turbidez maior (69 NTU) que os outros tratamentos, seguido pelo P2 (33 NTU). Os valores de turbidez para C2 sofreram uma diminuição entre 88° e 152° dia de monitoramento. O mesocosmos P2 apresentou valor inicial de 33 NTU, com aumento até o 13° e posteriormente redução até o 56° dia (15 NTU).

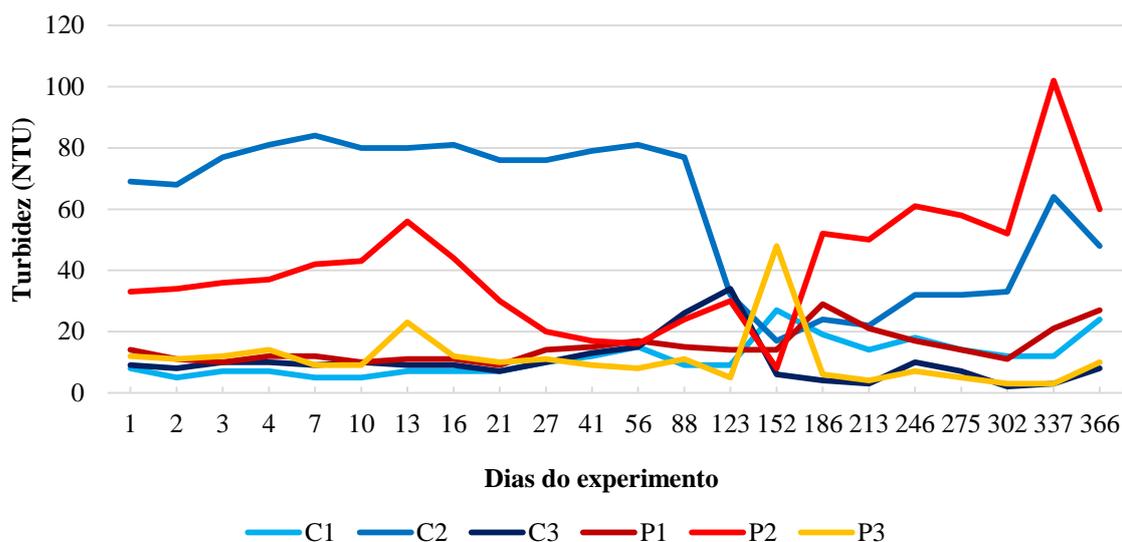


Figura 9: Valores médios da turbidez (NTU) obtidos nos tratamentos controle (C1, C2 e C3) e contaminados com pyrimethanil (P1, P2 e P3) nos experimentos em mesocosmos.

7.1.2 Análise de nutrientes

Pelos resultados obtidos no monitoramento das concentrações de nutrientes verifica-se que não existiu diferença significativa entre os tratamentos controle e contaminado para os períodos estabelecidos na análise. Entretanto, foram observadas variações nas concentrações das formas nitrogenadas e fosfatadas, além do silicato reativo, entre as réplicas.

Os valores das concentrações de nitrogênio total (Figura 10 e Tabela 4 do Apêndice A) estiveram compreendidos entre 0,09 e 0,7 mg.L⁻¹ (média de 0,39 mg.L⁻¹); entre 0,33 e 2,0 mg.L⁻¹ (média de 0,85 mg.L⁻¹); e entre 0,18 e 0,84 mg.L⁻¹ (média de 0,41 mg.L⁻¹), respectivamente para os mesocosmos C1, C2 e C3; e entre 0,19 e 1,03 (média de 0,44 mg.L⁻¹); 0,23 e 1,63 (média de 0,68 mg.L⁻¹) e 0,14 e 0,93 mg.L⁻¹ (média de 0,44 mg.L⁻¹) para os mesocosmos P1, P2 e P3, respectivamente. Os mesocosmos que apresentaram maiores valores médios para nitrogênio total foram C2 e P2, enquanto os menores foram obtidos em C1 e C3.

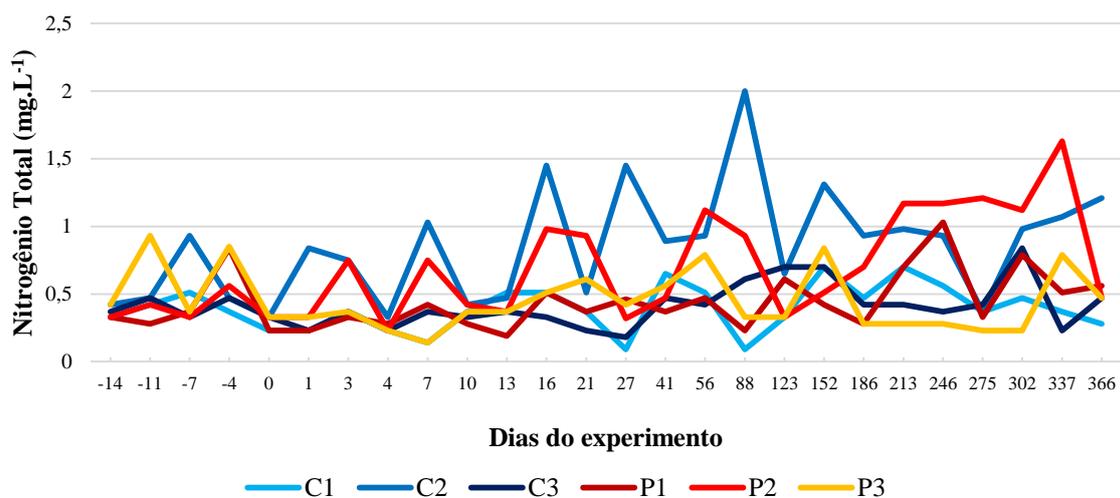


Figura 10: Valores do Nitrogênio total (mg.L^{-1}) obtidos nos tratamentos controle (C1, C2 e C3) e contaminados com pyrimethanil (P1, P2 e P3) nos experimentos em mesocosmos.

As concentrações de nitrito (Figura 11 e na Tabela 4 do Apêndice A) variaram entre 1,17 e 8,42 $\mu\text{g.L}^{-1}$ (média de 3,09 $\mu\text{g.L}^{-1}$) para C1; de 2,1 a 16,27 $\mu\text{g.L}^{-1}$ (média de 5,88 $\mu\text{g.L}^{-1}$) para C2; de 0,98 a 12,03 $\mu\text{g.L}^{-1}$ (média de 2,71 $\mu\text{g.L}^{-1}$) para C3; de 1,26 a 9,1 $\mu\text{g.L}^{-1}$ (média de 3,80 $\mu\text{g.L}^{-1}$) para P1; de 1,98 a 6,20 $\mu\text{g.L}^{-1}$ (6,02 $\mu\text{g.L}^{-1}$) para P2; e de 1,06 a 4,44 $\mu\text{g.L}^{-1}$ (média de 2,22 $\mu\text{g.L}^{-1}$) para P3. Nos mesocosmos C2 e P2 foram registrados os maiores valores médios, enquanto que os menores ocorreram em C3 e P3.

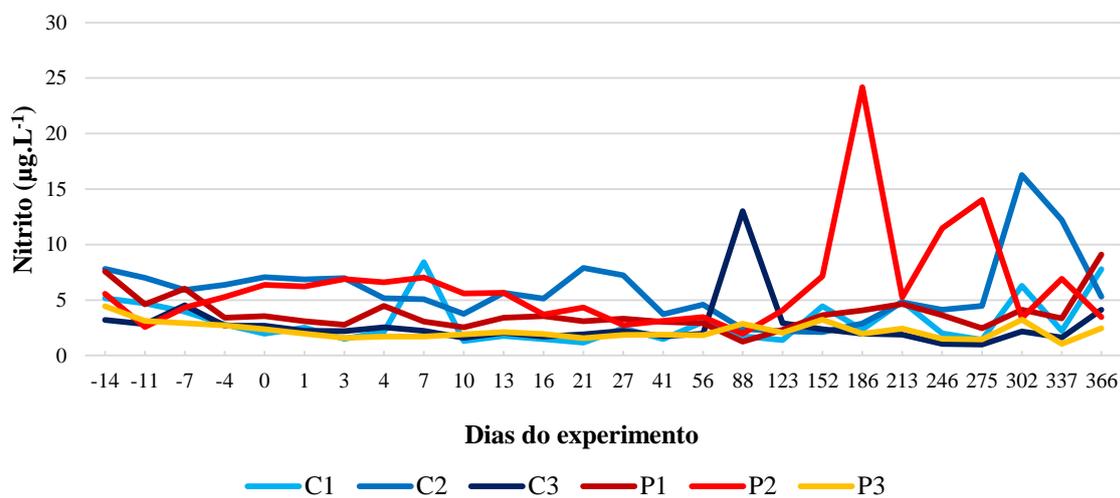


Figura 11: Valores do Nitrito (NO_2^-) em mg.L^{-1} obtidos nos tratamentos controle (C1, C2 e C3) e contaminados com pyrimethanil (P1, P2 e P3) nos experimentos em mesocosmos.

Para o nitrato (Figura 12 e na Tabela 5 do Apêndice A), os valores obtidos foram de 5,3 $\mu\text{g.L}^{-1}$ a 10,8 mg.L^{-1} (média de 833 $\mu\text{g.L}^{-1}$) para C1; entre 19,68 $\mu\text{g.L}^{-1}$ e 10,4 (média de

743 $\mu\text{g.L}^{-1}$) para C2; entre 4,07 $\mu\text{g.L}^{-1}$ e 20,49 mg.L^{-1} (média de 317,2 $\mu\text{g.L}^{-1}$) para C3; entre 3,85 $\mu\text{g.L}^{-1}$ e 10,57 mg.L^{-1} (média de 809 $\mu\text{g.L}^{-1}$) para P1; entre 21,56 $\mu\text{g.L}^{-1}$ e 10,64 mg.L^{-1} (média de 876,6 $\mu\text{g.L}^{-1}$) para P2; e entre 5,38 $\mu\text{g.L}^{-1}$ e 11,24 mg.L^{-1} (média de 1,09 mg.L^{-1}) para P3. As concentrações de nitrato até o 13º dia após a contaminação foram inferiores àquelas obtidas posteriormente. Registrou-se ainda um aumento na concentração de nitrato no 213º da realização do experimento, o que foi similar para todos os mesocosmos.

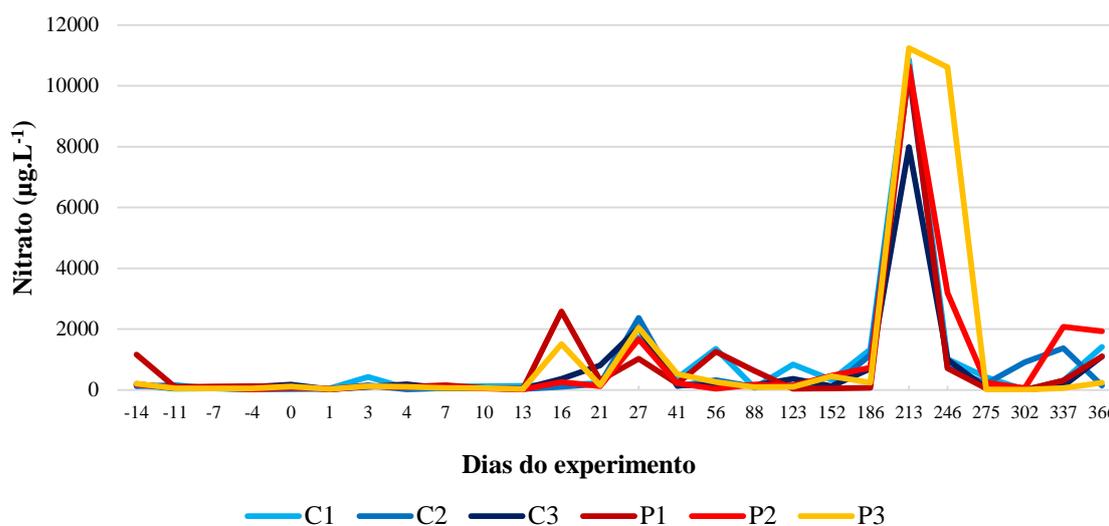


Figura 12: Valores do Nitrato (NO_3^-), em $\mu\text{g.L}^{-1}$, obtidos nos tratamentos controle (C1, C2 e C3) e contaminados com pyrimethanil (P1, P2 e P3) nos experimentos em mesocosmos.

As concentrações obtidas para o íon amônio (Figura 13 e na Tabela 5 do Apêndice A) foram de 2,75 $\mu\text{g.L}^{-1}$ e 2,31 mg.L^{-1} (média de 222,50 $\mu\text{g.L}^{-1}$) para C1; de 4,78 a 297,7 $\mu\text{g.L}^{-1}$ (média de 63,44 $\mu\text{g.L}^{-1}$) para C2; de 2,28 a 183,49 $\mu\text{g.L}^{-1}$ (média de 56,9 $\mu\text{g.L}^{-1}$) para C3; de 1,82 a 977,89 $\mu\text{g.L}^{-1}$ (média de 115,65 $\mu\text{g.L}^{-1}$) para P1; de 3,01 a 430,01 $\mu\text{g.L}^{-1}$ (média de 87,96 $\mu\text{g.L}^{-1}$) para P2; e de 2,12 a 183,75 $\mu\text{g.L}^{-1}$ (média de 49,91 $\mu\text{g.L}^{-1}$) para P3. Os valores médios mais elevados foram registrados em C1 e P1, enquanto os menores ocorreram em P3.

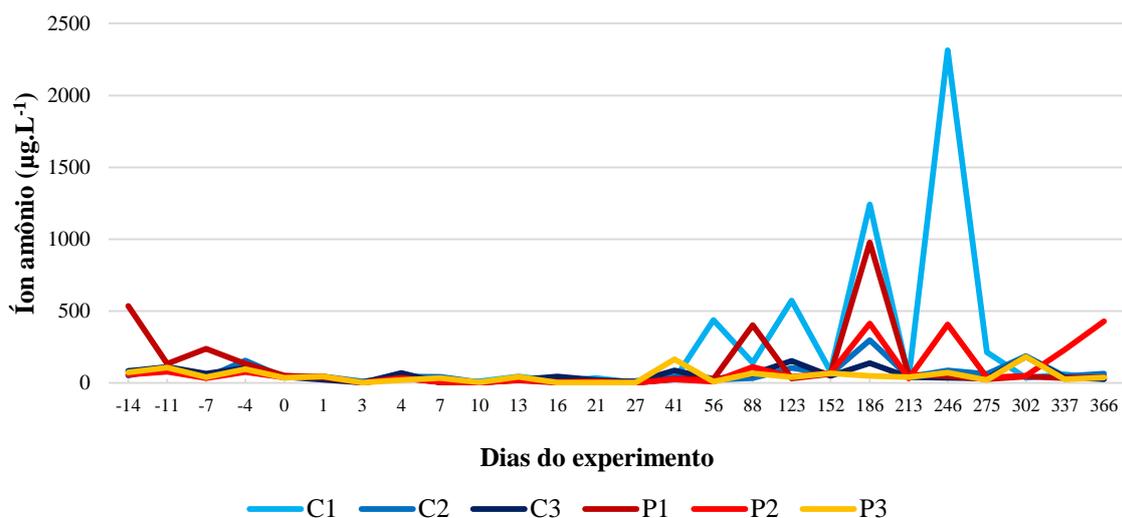


Figura 13: Valores do íon amônio (NH_4^+), em $\mu\text{g.L}^{-1}$, obtidos nos tratamentos controle (C1, C2 e C3) e contaminados com pyrimethanil (P1, P2 e P3) nos experimentos em mesocosmos.

Pelos resultados obtidos na análise das concentrações do fósforo total (Figura 14 e na Tabela 6 do Apêndice A) verifica-se poucas variações entre as réplicas, com exceção para o período do 16º ao 27º dia após a contaminação, com valores de 852,57; 679,32 e 504,32 mg.L^{-1} para os mesocosmos C3, C2 e P3, respectivamente. Os valores médios obtidos foram de 109,57; 153,87; 113,04; 84,56; 147,63 e 76,62 mg.L^{-1} , respectivamente para os mesocosmos C1, C2, C3, P1, P2 e P3. Os menores valores ocorreram no mesocosmo C3, com a menor concentração de 27,55 mg.L^{-1} .

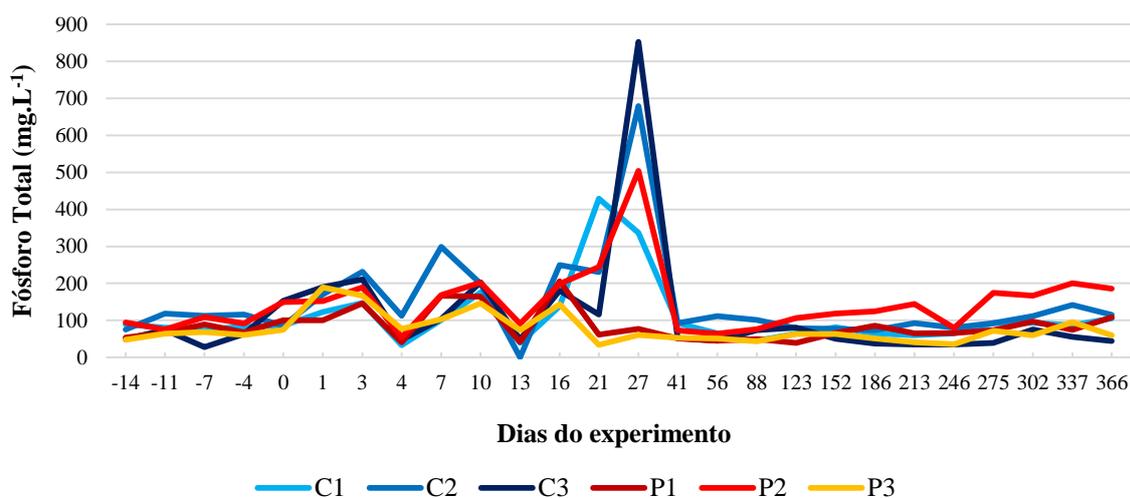


Figura 14: Valores do Fósforo Total, em mg.L^{-1} , obtidos nos tratamentos controle (C1, C2 e C3) e contaminados com pyrimethanil (P1, P2 e P3) nos experimentos em mesocosmos.

Na análise do fosfato inorgânico foram obtidos valores entre 0,9 e 12,42 $\mu\text{g.L}^{-1}$ (média de 5,6 $\mu\text{g.L}^{-1}$) em C1; 2,04 e 41,47 $\mu\text{g.L}^{-1}$ (média de 9,95) em C2; 1,26 e 4,82 $\mu\text{g.L}^{-1}$ (média de 4,82 $\mu\text{g.L}^{-1}$) em C3; 1,56 e 17 $\mu\text{g.L}^{-1}$ (média de 6,87 $\mu\text{g.L}^{-1}$) em P1; 1,56 e 15,18 $\mu\text{g.L}^{-1}$ (média de 8,19 $\mu\text{g.L}^{-1}$) em P2; e 1,28 e 11,97 $\mu\text{g.L}^{-1}$ (média de 4,97 $\mu\text{g.L}^{-1}$) em P3 (Figura 15 e na Tabela 6 do Apêndice A). Não foi possível observar um padrão na distribuição sazonal, uma vez que a variação foi constante, entretanto, registrou-se um aumento na concentração de fosfato inorgânico no mesocosmo C2, no 337º dia de monitoramento.

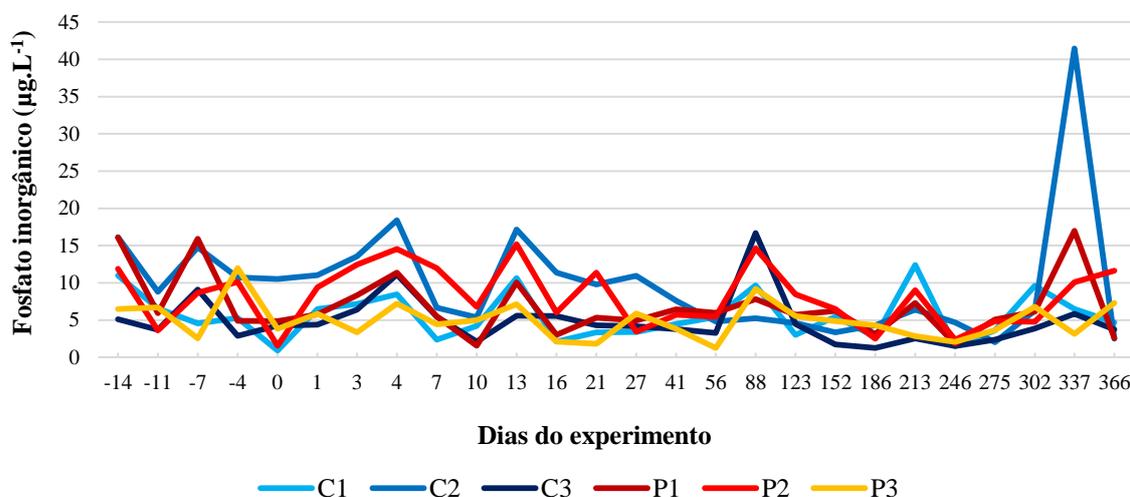


Figura 15: Valores do fosfato inorgânico, em $\mu\text{g.L}^{-1}$, obtidos nos tratamentos controle (C1, C2 e C3) e contaminados com pyrimethanil (P1, P2 e P3) nos experimentos em mesocosmos.

Os valores médios obtidos para fosfato total dissolvido estão apresentados na Figura 16 (e na Tabela 7 do Apêndice A), sendo de 15,87 (C1); 20,80 (C2); 14,92 (C3); 17,92 (P1); 19,28 (P2) e 16,11 $\mu\text{g.L}^{-1}$ (P3). O menor valor foi de 8,4 $\mu\text{g.L}^{-1}$ (em C1), e de forma similar ao fosfato inorgânico, também se registrou um aumento na concentração de fosfato total dissolvido no 337º dia, em C2 (69,14 $\mu\text{g.L}^{-1}$).

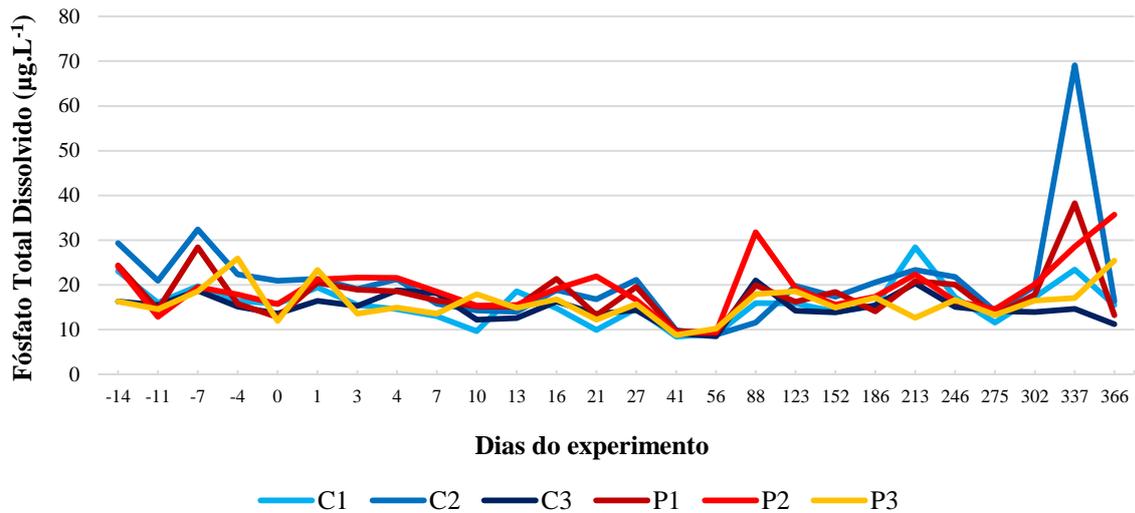


Figura 16: Valores do fósforo total dissolvido, em $\mu\text{g.L}^{-1}$, obtidos nos tratamentos controle (C1, C2 e C3) e contaminados com pyrimethanil (P1, P2 e P3) nos experimentos em mesocosmos.

As concentrações de silicato reativo (SiO_2) estiveram compreendidas entre 0,03 mg.L^{-1} (em P3) e 4,47 mg.L^{-1} (em P2). Os valores médios foram de 0,94; 1,62; 0,78; 1,13; 1,20; e 0,81 mg.L^{-1} para os mesocosmos C1, C2, C3, P1, P2 e P3, respectivamente. No mesocosmo C2 foram obtidas as maiores concentrações de silicato até o 27º após a contaminação, quando comparado com os outros mesocosmos. Os valores obtidos no monitoramento do silicato reativo estão ilustrados na Figura 17 (e na Tabela 7 do Apêndice A).

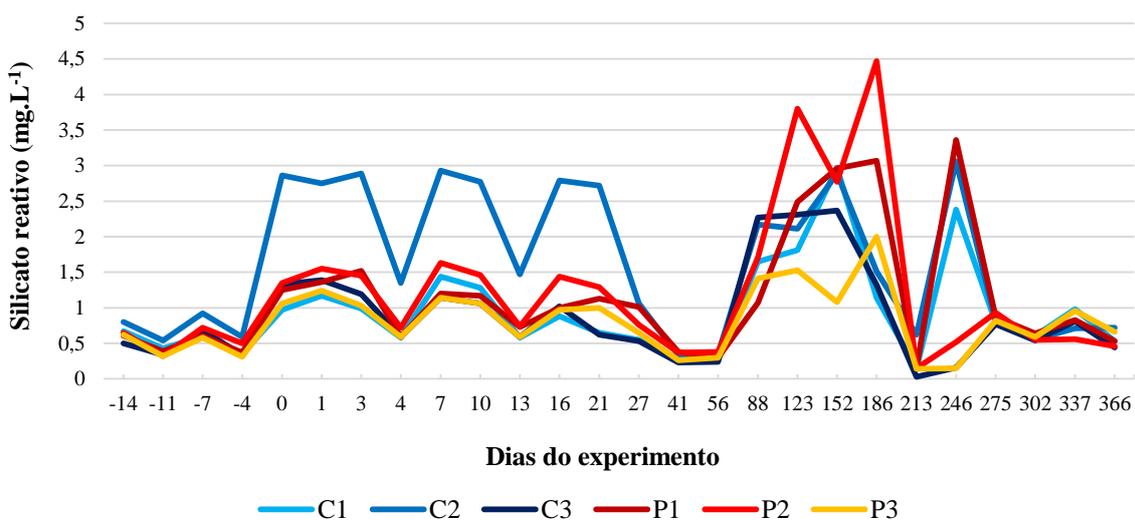


Figura 17: Valores do silicato reativo (SiO_2) em $\mu\text{g.L}^{-1}$ obtidos nos tratamentos controle (C1, C2 e C3) e contaminados com pyrimethanil (P1, P2 e P3) nos experimentos em mesocosmos.

7.1.3 *Análise de Componentes Principais das variáveis limnológicas*

Os resultados da Análise de Componentes Principais (ACP) indicaram que o primeiro eixo (componente 1) explicou 26,33% da variabilidade dos dados limnológicos e o segundo eixo (componente 2) explicou 23,59%, totalizando 49,92% da explicação dos dados. A componente 1 esteve representada pela concentração de pyrimethanil na água (Pyr), condutividade (Cond), concentração de oxigênio dissolvido (OD) e temperatura (Temp), enquanto a componente 2 pela turbidez (Turb), nitrogênio total (NT), fósforo total (PT) e pH.

Na Figura 18 verifica-se um gradiente temporal e espacial relacionados às variáveis consideradas e representadas nos dois eixos principais (Componentes 1 e 2), onde é possível observar a distinção de quatro grupos principais em função destas, sendo que a distribuição temporal é a principal condição para a definição dos grupos, e, posteriormente, a espacial.

O primeiro grupo (I) foi definido temporalmente pela fase inicial do monitoramento, constituindo-se das amostragens do 1º ao 13º dia nos mesocosmos que receberam o pyrimethanil, verificando-se relação do contaminante com temperatura e condutividade. O segundo grupo (II) foi constituído, em sua maioria, pelas mesmas amostragens do primeiro grupo, entretanto apresentam menor relação com as variáveis referentes à concentração de pyrimethanil na água e condutividade, mantendo-se a correlação com a temperatura. O terceiro grupo (III) foi constituído predominantemente pelas amostras referentes aos períodos posteriores do monitoramento, não sendo possível separar os tratamentos controle e contaminado em grupos distintos, já que não foram encontrados resíduos de pyrimethanil nos mesocosmos contaminados.

A distinção desses três primeiros grupos sugere uma clara variação temporal em relação à Componente 1, com os momentos iniciais apresentando valores positivos para essa componente e com o decorrer do monitoramento esses valores vão diminuindo até valores negativos.

O quarto grupo (IV) tem maior relação com a Componente 2 quando comparado com os outros três grupos. O grupo quatro é composto pelas amostragens referentes aos mesocosmos que apresentaram maior valor de turbidez e, conseqüentemente, maiores concentrações de nitrogênio total e fósforo total. O gradiente temporal também é possível ser observado, já que as amostras referentes aos primeiros momentos do monitoramento estão à direita do eixo Y e as posteriores à esquerda.

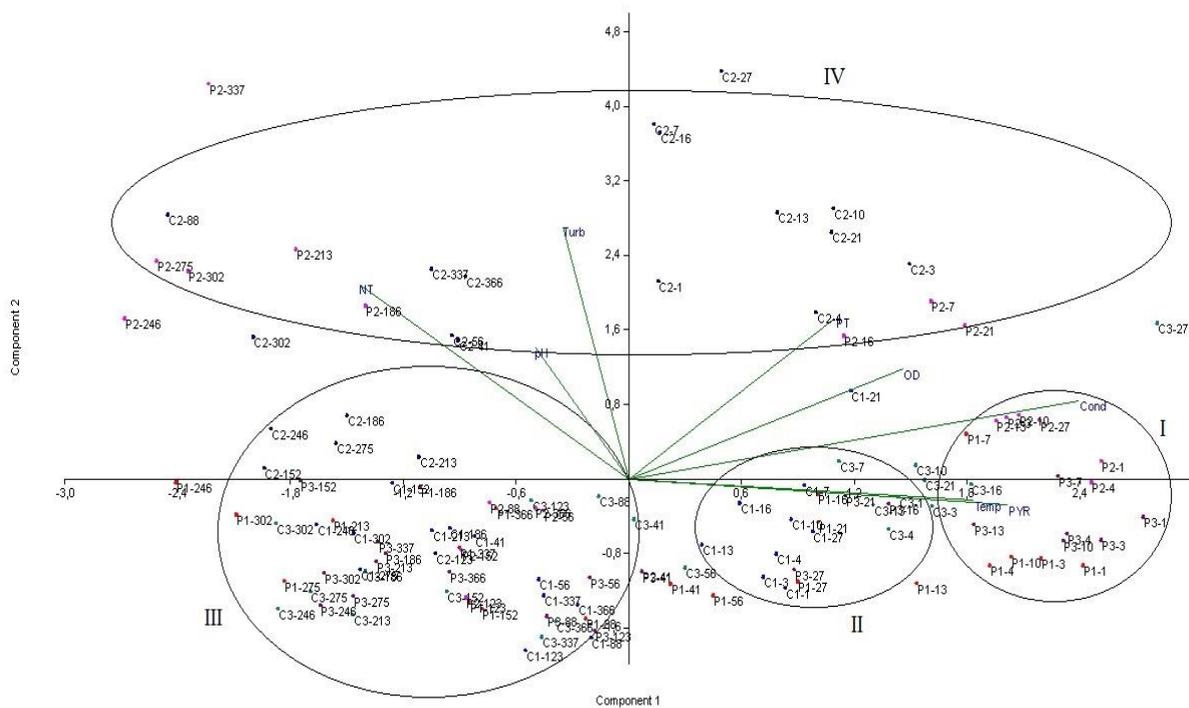


Figura 18: Dispersão dos escores das amostras durante o período de amostragem e das variáveis limnológicas consideradas na análise: pH, oxigênio dissolvido (OD), temperatura (Temp), condutividade (Cond), turbidez (Turb), nitrogênio total (NT), fósforo total (PT).

7.1.4 Índice de estado trófico

Os resultados referentes ao índice de estado trófico a partir do fósforo total estão apresentados na Tabela 3, verificando-se que, em sua maioria, os mesocosmos foram classificados como hipertróficos, totalizando 124 amostras (79,49%), supereutróficos, com 31 amostras (19,87%) e apenas uma amostra como eutrófica (0,64%).

Tabela 3: Classificação dos mesocosmos de acordo com o grau de trofia estabelecido para sistemas lênticos, calculado em função da concentração de fósforo total, de acordo com Lamparelli (2004).

	Tratamento						Classificação
	C1	C2	C3	P1	P2	P3	
-14	69,5	68,4	65,9	66,4	69,8	65,7	■ Hipereutrófico
-11	68,9	71,2	68,4	67,7	68,5	67,5	
-7	68,5	70,9	62,4	69,5	70,7	67,9	
-4	69,1	71,1	67,4	67,8	69,7	67,2	
0	69,2	69,3	72,8	70,2	72,6	68,4	□ Supereutrófico
1	71,4	73,4	74,1	70,2	72,7	74,1	
3	72,5	75,3	74,7	72,5	74,1	73,3	
4	63,5	70,9	65,7	64,8	66,5	68,6	□ Eutrófico
7	70,3	76,8	70,4	73,3	73,4	70,4	
10	73,6	74,4	74,5	73,2	74,5	72,5	
13	64,4	75,1	65,8	64,8	69,6	68,3	
16	72,2	75,8	73,8	74,6	74,4	72,4	
21	79	75,3	71,1	67,3	75,6	63,7	
27	77,6	81,8	83,2	68,6	80	67,2	
41	69,7	69,8	66,2	66,2	68,3	66,3	
56	67,6	70,9	65,4	65,4	67,5	66,2	
88	65,3	70,3	68,3	65,9	68,5	65,1	
123	67,5	68,7	68,9	64,5	70,6	67,4	
152	68,9	68,6	66	67,7	71,2	67,4	
186	67,6	68,3	64,2	69,3	71,5	66,2	
213	67,1	69,7	63,8	67,5	72,4	64,8	
246	67,6	68,9	63,7	67,7	68,8	63,9	
275	69,7	69,7	64,5	68,3	73,6	68,2	
302	69,8	70,9	68,5	70	73,3	67,1	
337	69,3	72,3	66,6	68,4	74,4	69,9	
366	70,5	71	65,2	70,7	74	67	

7.1.5 Análise granulométrica do sedimento

Os resultados da análise granulométrica estão apresentados na Figura 19, registrando-se a predominância de areia fina (entre 31,5 a 46,6%, com média de 41,81%) e areia média (entre 38 e 45%, com média de 41,01%), e em menor proporção, a fração silte (entre 0,3 e 1,1% com média de 0,65%). Os resultados demonstram que, excetuando o

mesocosmos C3, que apresentou uma maior proporção de areia grossa (20%), nos demais a granulometria foi semelhante.

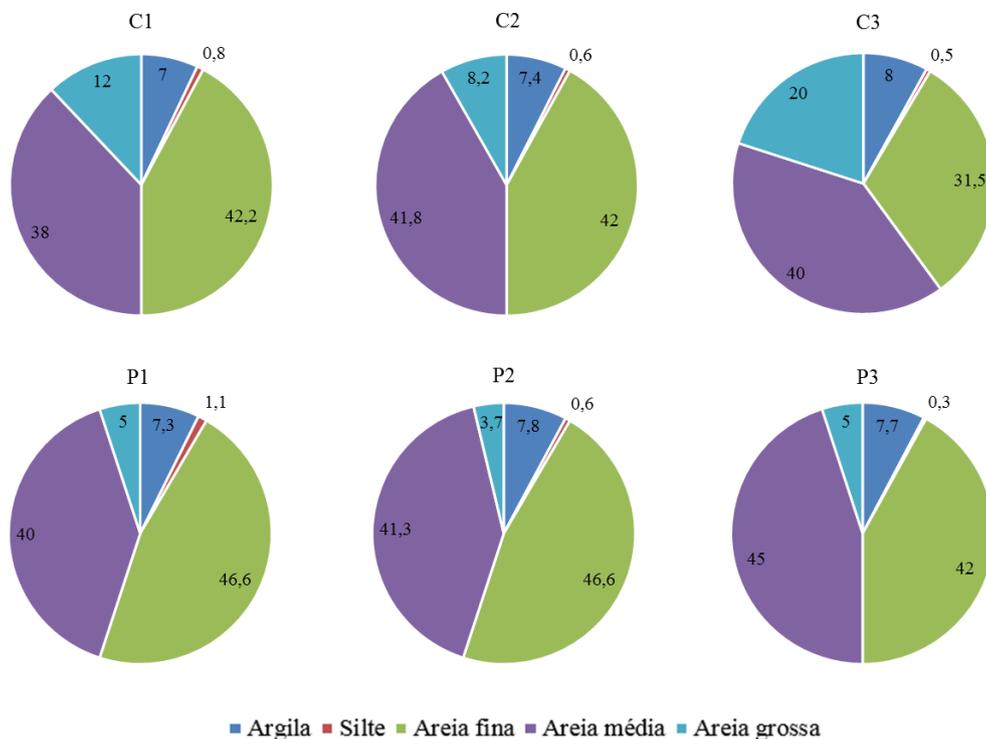


Figura 19: Resultado da análise granulométrica inicial dos mesocosmos controle (C1, C2 e C3) e contaminados com pyrimethanil (P1, P2 e P3). Os valores estão expressos em porcentagem.

7.1.6 Monitoramento das variáveis meteorológicas

Os valores referentes ao monitoramento das variáveis meteorológicas foram distribuídos de acordo com as datas de amostragem, referindo-se às médias dos intervalos inter-amostrais. A temperatura média do ar, no período em que foram realizados os experimentos, foi de 23,28°C, com as máximas variando entre 23,83 e 34,73°C, e as mínimas entre 10,65 e 19,88 °C (Figura 20 e na Tabela 8 do Apêndice A).

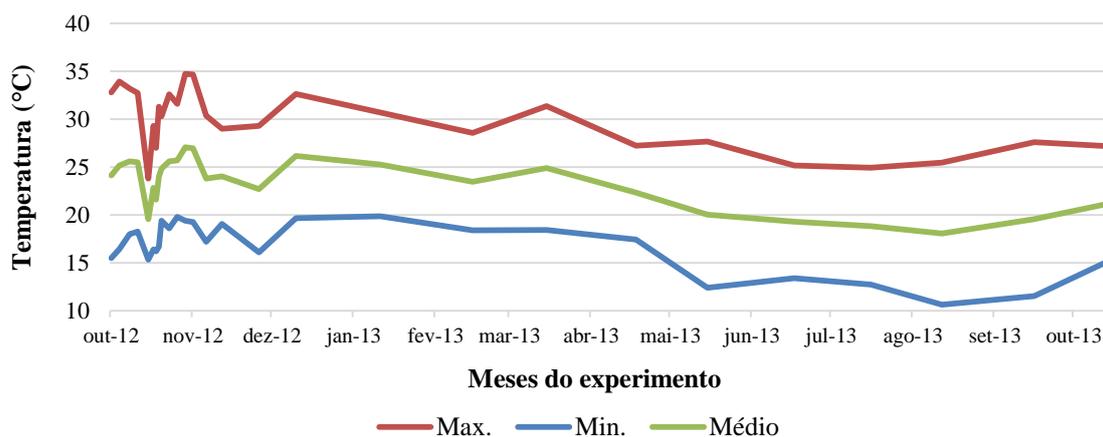


Figura 20: Valores referentes ao monitoramento das temperaturas do ar máximas, mínimas e médias (°C) para o período de estudo.

Os valores da evaporação estiveram compreendidos entre 5,46 e 2,17mm, com média de 4,06 mm. Para a precipitação registraram-se mínimos e máximos de 0,29 e 25,8mm, respectivamente, com exceção dos dias em que não houve precipitação, com média de 4,21mm para todo o período de monitoramento. A Figura 21 (e a Tabela 8 do Apêndice A) apresentam os valores obtidos para a evaporação e precipitação.

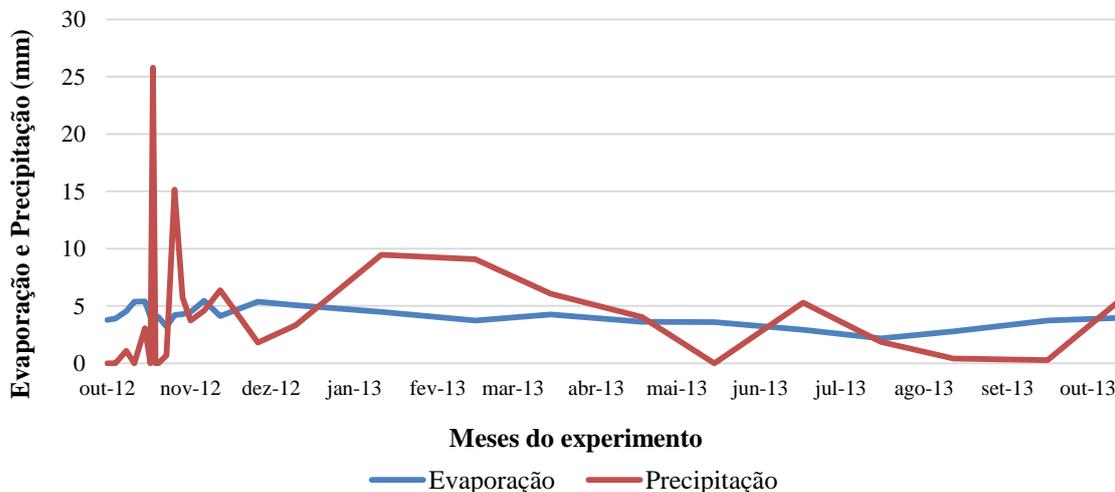


Figura 21: Valores obtidos para o monitoramento da evaporação (em mm) e precipitação (mm) para o período de estudo.

Os valores de radiação estiveram compreendidos entre 214,41 e 480,72 cal/cm²/dia, com média de 372,81 cal/cm²/dia. Os valores referentes ao monitoramento da radiação estão apresentados na Figura 22 (e na Tabela 8 do Apêndice A).

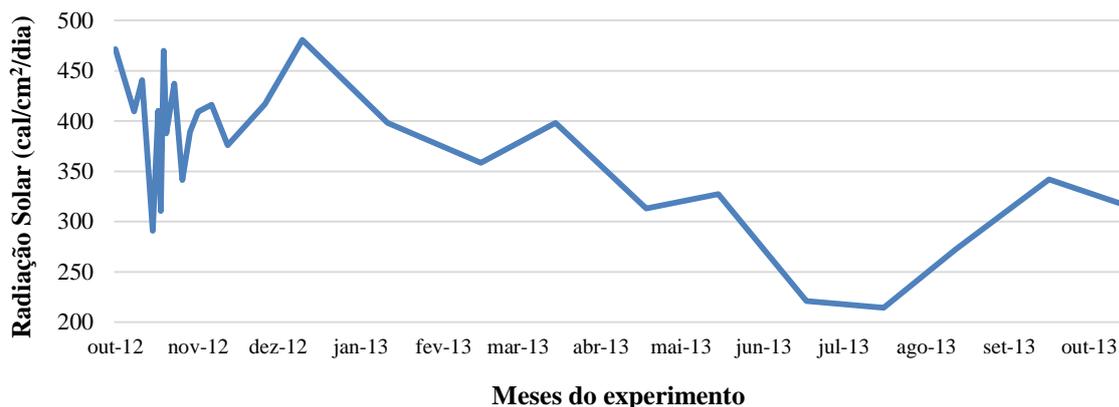


Figura 22: Valores referentes ao monitoramento da radiação solar em cal/cm²/dia.

7.1.7 Quantificação da concentração de pyrimethanil nos mesocosmos

Os resultados para a determinação da curva padrão estão ilustrados na Figura 23. O tempo de retenção para o pyrimethanil foi de aproximadamente 11,5 minutos. As concentrações foram obtidas a partir do cálculo da área relativa ao pico obtido no comprimento de onda de 254 nm.

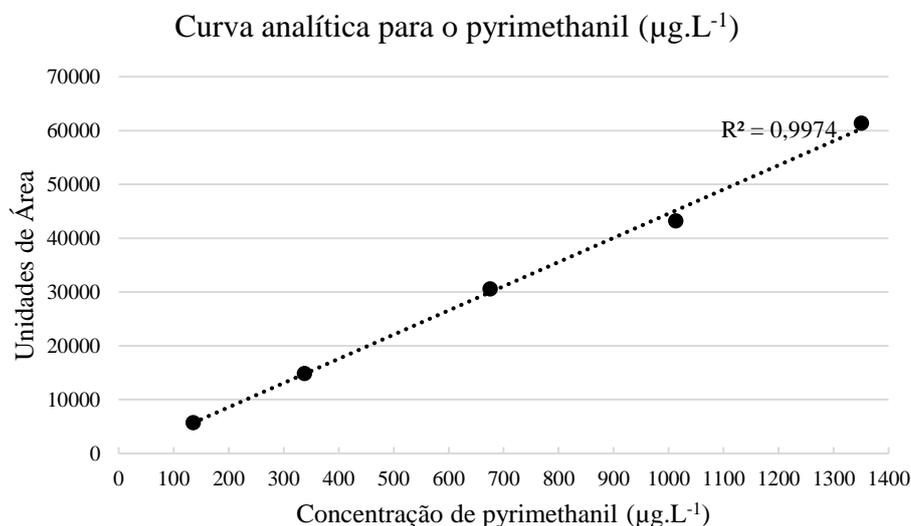


Figura 23: Curva analítica padrão para a análise da concentração de pyrimethanil.

Para o limite de detecção (LOD) foi utilizada a equação $LOD = 3*(Sb/a)$, apresentando como resultado $73,875 \mu\text{g.L}^{-1}$. O limite de quantificação (LOQ) foi calculado a partir da fórmula $LOQ = 10*(Sb/a)$, obtendo o valor de $246,249 \mu\text{g.L}^{-1}$. Os valores para a

cálculo da LOD e LOQ foram obtidos a partir da equação obtida na curva de calibração ($y = 45,002x - 429,32$), onde a é 45,002, b é -429,317 e Sb é o desvio padrão de b (1108,167). O valor de R^2 foi de 0,9974. Os cálculos foram baseados na metodologia descrita por Harris (2010).

Os resultados das análises estão apresentados na Figura 24. Inicialmente foram consideradas as amostras de todos os mesocosmos, a fim de avaliar uma possível contaminação nos mesocosmos controles, entretanto não foram encontrados picos referente à quantificação de pyrimethanil nos mesocosmos controle, ou seja, os mesmos não estavam contaminados com o agrotóxico. Em relação aos mesocosmos que receberam o pyrimethanil, as concentrações iniciais foram de 1400,99; 1293,01 e 1399,10 $\mu\text{g.L}^{-1}$, respectivamente para os mesocosmos P1, P2 e P3. A variação da concentração inicial de pyrimethanil nos mesocosmos contaminados são consequência das diferenças nos volumes já que a contaminação foi realizada a partir da estimativa do volume de água de cada mesocosmo. Em relação à meia vida do composto, foi possível observar que a concentração equivalente a 50% da concentração inicial foi atingida próxima ao 13º dia a partir da contaminação, e posteriormente há uma redução do decaimento até o 27º, quando as concentrações ainda não tinham atingido 25% da concentração inicial. A quantificação foi avaliada até o momento em que não foi mais possível detectar o pyrimethanil na água.

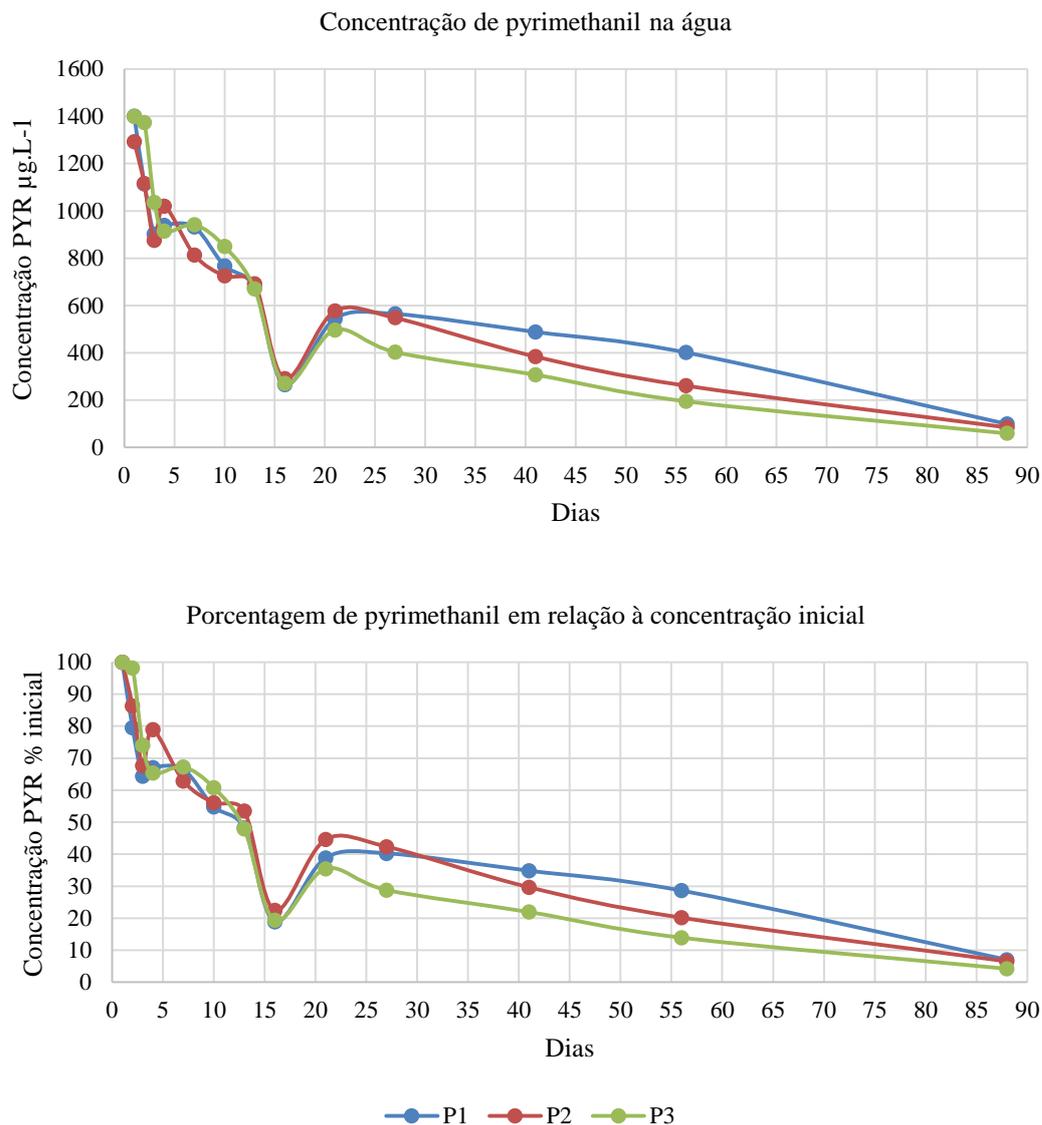


Figura 24: Resultados da quantificação do agrotóxico pyrimethanil, em mg.L⁻¹ (superior) e porcentagem relativa à concentração inicial (inferior).

7.2 Análise das comunidades fitoplanctônica e zooplanctônica

7.2.1 Composição e estrutura da comunidade fitoplanctônica

Na análise de comunidade fitoplanctônica foram identificados 87 taxa de algas, distribuídas em 31 famílias, 20 ordens e 12 classes. As duas classes com maior número de taxa foram as Conjugatophyceae, com 30 espécies (34,5% das espécies), seguido pelas Chlorophyceae, com 13 espécies (27,6 % das espécies). As classes com menor número de taxa foram as Chrysophyceae, Dinophyceae, Fragilariophyceae, Synurophyceae e Xanthophyceae, com apenas um táxon (1,15% em cada classe). A comunidade

fitoplanctônica apresentou 75,86% de espécies raras; 12,64% de espécies comuns; 8,05% de espécies frequentes e 3,45% de espécies constantes. Três espécies foram consideradas constantes estando presentes em mais de 80% das amostras analisadas: *Ankistrodesmus* sp., *Scenedesmus armatus* e *Peridinium* sp. As espécies *Coenochloris* sp., *Staurastrum* sp., *Staurodesmus* sp., *Cyclotella* sp., *Trachelomonas* sp1., *Trachelomonas* sp2., *Trachelomonas volvocina* foram consideradas frequentes por estarem em 50 a 80% das amostras. A composição taxonômica encontra-se descrita na Tabela 4.

Tabela 4: Composição taxonômica do fitoplâncton, frequência de ocorrência (FO) e classificação funcional das espécies registradas durante o período experimental, considerando todos os tratamentos. *: grupo funcional não identificado.

Taxa	Grupo funcional	FO (%)	Classificação FO
Bacillariophyceae			
Bacillariophyta não identificada	-	41,36	Comum
<i>Eunotia</i> sp.	MP	7,41	Rara
<i>Navicula</i> sp.	MP	37,04	Comum
<i>Navicula</i> sp2.	MP	0,62	Rara
<i>Nupela</i> sp.	MP	0,62	Rara
<i>Pinnularia</i> sp.	P	6,17	Rara
Chlorophyceae			
<i>Ankistrodesmus</i> sp.	X ₁	82,10	Constante
<i>Ankistrodesmus</i> sp2.	X ₁	1,85	Rara
<i>Coelastrum cambricum</i> (Archer, 1868)	J	19,10	Rara
<i>Coelastrum proboscideum</i> (Nordstedt; Lagerheim 1896)	J	6,79	Rara
<i>Coenochloris</i> sp.	F	63,00	Frequente
<i>Dimorphococcus lunatus</i> (Braun, 1855)	F	26,50	Comum
<i>Eutetramorus</i> sp.	F	13,00	Rara
<i>Monoraphidium contortum</i> (Fott 1969)	X ₁	19,80	Rara
<i>Monoraphidium minutum</i> (Komárková-Legnerová, 1969)	X ₁	2,47	Rara
<i>Pandorina</i> sp.	G	1,85	Rara
<i>Pediastrum</i> sp.	J	0,62	Rara
<i>Pediastrum tetras</i> (Ralfs, 1845)	J	3,09	Rara
<i>Quadrigula</i> sp.	*	6,17	Rara
<i>Scenedesmus acutus</i> (Meyen, 1829)	J	1,85	Rara
<i>Scenedesmus armatus</i> (Chodat, 1913)	J	88,27	Constante
<i>Scenedesmus denticulatum</i> (Lagerheim, 1882)	J	2,47	Rara
<i>Scenedesmus opoliensis</i> (Richter, 1895)	J	5,56	Rara
<i>Scenedesmus quadricauda</i> (Brébisson; Godey, 1835)	J	1,85	Rara

<i>Scenedesmus</i> sp2.	J	0,62	Rara
<i>Scenedesmus</i> sp3.	J	4,32	Rara
<i>Sphaerocystis</i> sp.	F	12,35	Rara
<i>Tetraedron minimum</i> (Hansgirg, 1888)	J	1,23	Rara
<i>Tetraedron</i> sp.	J	1,85	Rara
<i>Tetrastrum</i> sp.	J	11,11	Rara
Chrysophyceae			
<i>Dinobryon</i> sp.	E	3,09	Rara
Conjugatophyceae			
<i>Actinotaenium</i> sp.	X ₁	6,17	Rara
<i>Closterium</i> sp.	P	19,75	Rara
<i>Cosmarium denticulatum</i> (Borge, 1896)	N _A	20,37	Comum
<i>Cosmarium punctulatum</i> (Brébisson, 1856)	N _A	9,88	Rara
<i>Cosmarium quadrum</i> (Lundell, 1871)	N _A	0,62	Rara
<i>Cosmarium</i> sp1.	N _A	24,07	Comum
<i>Cosmarium</i> sp2.	N _A	22,84	Comum
<i>Cosmarium</i> sp3.	N _A	0,62	Rara
<i>Cosmarium</i> sp4.	N _A	25,93	Comum
<i>Desmidium cylindricum</i> Raciborski	MP	1,85	Rara
<i>Euastrum brasiliense</i> (West, 1914)	N	16,05	Rara
<i>Euastrum</i> sp.	N	1,23	Rara
<i>Euastrum subintegrum</i> Grönblad	N	0,62	Rara
<i>Gonatozygon</i> sp.	N _A	24,07	Comum
<i>Groenbladia</i> sp.	*	8,64	Rara
<i>Mougeotia</i> sp	T	5,56	Rara
<i>Sphaeroszoma</i> sp.	*	8,64	Rara
<i>Spirogyra</i> sp.	*	1,85	Rara
<i>Spondylosium</i> sp.	N	31,48	Comum
<i>Staurastrum americanum</i> (Smith, 1922)	P	14,81	Rara
<i>Staurastrum borgeanum</i> (Schmidle, 1898)	P	0,62	Rara
<i>Staurastrum furcatum</i> (Brébisson, 1856)	P	1,23	Rara
<i>Staurastrum pingue</i> (Teiling, 1942)	P	4,94	Rara
<i>Staurastrum pinnatum</i> W.B.Turner	P	6,17	Rara
<i>Staurastrum rotula</i> (Nordstedt, 1869)	P	1,85	Rara
<i>Staurastrum</i> sp.	P	54,94	Frequente
<i>Staurodesmus sellatus</i> (Teiling, 1948)	N _A	7,41	Rara
<i>Staurodesmus</i> sp.	N _A	35,19	Frequente
<i>Teilingia</i> sp.	N	1,23	Rara

<i>Xanthidium</i> sp.	N	8,64	Rara
Coscinodiscophyceae			
<i>Aulacoseira</i> sp.	P	16,05	Rara
<i>Cyclotella</i> sp.	A	69,75	Frequente
Cyanophyceae			
<i>Anabaena</i> sp.	H ₁	3,09	Rara
<i>Amphipleura</i> sp.	MP	0,62	Rara
<i>Aphanizomenon gracile</i> (Lemmermann, 1907)	H ₁	1,23	Rara
<i>Chroococcus</i> sp.	L _o	2,47	Rara
<i>Gomphosphaeria</i> sp.	L _o	4,32	Rara
<i>Merismopedia tenuissima</i> (Lemmermann, 1898)	L _o	1,85	Rara
<i>Pseudanabaena</i> sp.	MP	1,23	Rara
<i>Pseudanabaena minima</i> (Anagnostidis, 2001)	S ₁	7,41	Rara
<i>Raphidiopsis</i> sp.	S ₂	30,25	Comum
<i>Spirulina</i> sp.	S ₂	1,85	Rara
Dinophyceae			
<i>Peridinium</i> sp.	L _o	90,12	Constante
Euglenophyceae			
<i>Euglena</i> sp.	W ₁	3,70	Rara
<i>Trachelomonas</i> sp1.	W ₂	62,96	Frequente
<i>Trachelomonas</i> sp2.	W ₂	64,81	Frequente
<i>Trachelomonas volvocina</i> (Ehrenberg, 1834)	W ₂	69,75	Frequente
Fragilariophyceae			
<i>Fragilaria</i> sp.	P	33,33	Comum
Synurophyceae			
<i>Mallomonas</i> sp.	E	0,62	Rara
Trebouxiophyceae			
<i>Botryococcus terribilis</i> (Komárek; Marvan, 1992)	F	5,56	Rara
<i>Chlorella</i> sp.	X ₁	5,56	Rara
<i>Dictyosphaerium pulchellum</i>	F	4,94	Rara
<i>Dictyosphaerium</i> sp.	F	1,85	Rara
<i>Didymocystis</i> sp.	X ₁	9,88	Rara
<i>Oocystis</i> sp.	F	3,09	Rara
Xanthophyceae			
<i>Isthmochloron</i> sp.	*	1,23	Rara

O número de táxons e indivíduos para cada período amostrado está demonstrado na Tabela 5 e na Tabela 6 os valores referentes aos índices ecológicos calculados para cada

período de amostragem (Índice de Dominância de Simpson, Índices de diversidade de Shannon-Weaver (H), Índice de biodiversidade de Margalef e Equitabilidade J).

Na análise estatística foi observada a diminuição significativa ($p < 0,05$) para o número de táxons (riqueza) quando avaliados os períodos pré e pós-contaminação nos mesocosmos que receberam o contaminante (P1, P2 e P3) e diferença significativa ($p < 0,05$) na comparação entre o grupo controle (C1, C2 e C3) e contaminado (P1, P2 e P3) para o período do 1° ao 56° dia.

Para o número de indivíduos (densidade) foi observado um aumento significativo ($p < 0,05$) na comparação do período pré-contaminação com os 15 dias pós-contaminação para os mesocosmos contaminados (P1, P2 e P3) e diferença significativa ($p < 0,05$) entre o grupo controle (C1, C2 e C3) e contaminado (P1, P2 e P3) para o período pós-contaminação (15 dias após a contaminação), onde foi observado um maior número de indivíduos para os mesocosmos que receberam o pyrimethanil.

Tabela 5: Número de táxons e número de indivíduos por tratamento (Controle: C1, C2 e C3 e Contaminado: P1, P2 e P3) para a comunidade fitoplanctônica.

		Número de táxons (riqueza)						Número de indivíduos (org.L ⁻¹)					
		C1	C2	C3	P1	P2	P3	C1	C2	C3	P1	P2	P3
Dias do monitoramento	-14	16	13	5	15	19	12	212	246	588	103	455	104
	-11	16	19	13	14	24	13	121	113	211	112	238	77
	-7	19	15	12	18	23	16	127	1154	347	156	640	94
	-4	22	20	15	16	24	12	166	585	432	78	1255	182
	0	20	19	17	19	23	20	113	620	407	107	1198	419
	1	21	20	17	18	19	12	70	633	325	58	421	571
	2	18	24	19	14	18	13	78	802	349	120	334	654
	3	21	19	18	13	16	6	75	777	268	99	853	995
	4	21	21	23	15	14	12	76	405	393	141	1005	944
	7	20	16	21	14	15	8	103	246	458	192	462	723
	10	13	10	25	10	13	9	153	558	685	182	755	678
	13	13	15	16	6	16	8	150	564	524	116	2690	2620
	16	3	17	16	12	9	8	64	684	177	91	1617	1267
	21	12	13	12	12	14	10	612	1505	468	152	1586	772
	27	18	13	13	10	13	11	855	592	304	125	1131	937
	41	17	14	16	10	11	8	1616	792	923	122	1464	257
	56	24	12	12	10	5	12	1280	2635	5609	247	708	229
	88	20	7	8	13	13	11	325	89812	38116	1264	21621	861
	123	21	16	7	13	14	9	1850	28817	66140	3496	21617	90
	152	9	14	13	13	7	9	9935	10942	150	1576	76	78
186	10	15	8	14	5	8	5359	18484	64	13855	91086	65	
213	14	12	12	13	6	11	6146	9352	110	11767	165343	121	
246	5	9	10	13	6	10	59691	48126	135	11505	224835	35	
275	5	8	9	15	4	7	51638	132828	104	3910	231535	34	
302	5	6	13	13	5	7	42746	164417	94	2572	222868	34	
337	13	10	13	16	4	7	1949	138964	168	21506	247920	238	
366	8	9	24	17	7	10	10242	124080	411	41520	7285	177	

Em relação aos Índices ecológicos foi observada diferença significativa ($p < 0,05$) para o de Shannon-Weaver e de Margalef quando comparados os valores entre os períodos pré e pós-contaminação (primeiros 15 dias após a contaminação), registrando-se a

diminuição do valor médio no grupo contaminado (P1, P2 e P3), além da diferença significativa ($p < 0,05$) do Índice de Margalef entre o grupo controle (C1, C2 e C3) e contaminado (P1, P2 e P3) no período pós-contaminação (primeiros 15 dias). Também foi observada diferença significativa ($p < 0,05$) para o Índice de Simpson na comparação entre controle (C1, C2 e C3) e contaminado (P1, P2 e P3,) entre o 21º e 56º dia de monitoramento, registrando-se um menor valor dos índices nos mesocosmos que receberam a adição do pyrimethanil.

Para os outros índices calculados não foram observadas diferenças significativas tanto na comparação entre o período pré e pós contaminação quanto entre o grupo controle (C1, C2 e C3) e contaminado (P1, P2 e P3).

Tabela 6: Índices ecológicos para a comunidade fitoplanctônica: Índice de Dominância de Simpson, Índices de diversidade de Shannon-Weaver (H), Índice de biodiversidade de Margalef e Equitabilidade J, considerando os mesocosmos controle (C1, C2 e C3) e contaminados (P1, P2 e P3).

	Simpson (1-D)						Shannon-Weaver (H)						
	C1	C2	C3	P1	P2	P3	C1	C2	C3	P1	P2	P3	
Dias do monitoramento	-14	0,667	0,670	0,099	0,584	0,593	0,463	1,624	1,485	0,252	1,446	1,240	1,211
	-11	0,740	0,809	0,634	0,684	0,599	0,820	1,941	2,149	1,425	1,704	1,605	2,059
	-7	0,650	0,106	0,494	0,866	0,370	0,818	1,745	0,347	1,006	2,346	0,956	2,045
	-4	0,800	0,217	0,462	0,763	0,506	0,568	2,038	0,665	0,990	1,996	1,069	1,314
	0	0,787	0,291	0,419	0,855	0,512	0,477	2,067	0,846	0,971	2,272	1,034	1,213
	1	0,638	0,247	0,465	0,834	0,582	0,257	1,753	0,733	1,133	2,187	1,245	0,637
	2	0,705	0,222	0,487	0,713	0,598	0,321	1,872	0,704	1,175	1,671	1,330	0,764
	3	0,868	0,162	0,663	0,677	0,176	0,286	2,449	0,520	1,701	1,495	0,519	0,628
	4	0,818	0,295	0,495	0,636	0,166	0,348	2,265	0,872	1,310	1,513	0,463	0,770
	7	0,853	0,314	0,391	0,813	0,553	0,553	2,317	0,898	1,041	2,007	1,337	1,167
	10	0,723	0,122	0,673	0,651	0,498	0,743	1,693	0,366	1,645	1,312	1,135	1,477
	13	0,654	0,106	0,504	0,688	0,254	0,704	1,437	0,348	1,124	1,363	0,730	1,380
	16	0,503	0,081	0,505	0,829	0,517	0,711	0,801	0,282	1,296	1,971	1,102	1,391
	21	0,572	0,045	0,197	0,764	0,573	0,661	1,050	0,160	0,553	1,742	1,365	1,361
	27	0,713	0,195	0,419	0,757	0,539	0,638	1,469	0,548	0,946	1,753	1,341	1,295
	41	0,703	0,602	0,681	0,852	0,463	0,588	1,363	1,343	1,434	2,040	1,040	1,251
	56	0,727	0,219	0,448	0,821	0,310	0,747	1,576	0,515	0,901	1,968	0,657	1,779
	88	0,859	0,127	0,112	0,724	0,393	0,707	2,260	0,322	0,307	1,614	0,957	1,461
	123	0,660	0,258	0,395	0,289	0,636	0,823	1,648	0,703	0,633	0,771	1,409	1,908
	152	0,455	0,700	0,509	0,757	0,553	0,676	0,849	1,578	1,198	1,673	1,203	1,466
186	0,197	0,747	0,531	0,728	0,115	0,676	0,515	1,680	1,169	1,641	0,276	1,484	
213	0,197	0,777	0,476	0,753	0,088	0,672	0,517	1,769	1,177	1,717	0,224	1,620	
246	0,223	0,559	0,514	0,666	0,051	0,694	0,427	1,141	1,219	1,495	0,140	1,517	
275	0,124	0,331	0,579	0,698	0,092	0,701	0,284	0,646	1,283	1,670	0,219	1,427	
302	0,431	0,226	0,797	0,742	0,070	0,795	0,709	0,507	1,853	1,856	0,186	1,736	
337	0,681	0,614	0,714	0,797	0,084	0,740	1,510	1,211	1,649	1,904	0,200	1,613	
366	0,704	0,439	0,845	0,820	0,632	0,761	1,416	0,773	2,222	1,914	1,235	1,778	

Continuação da Tabela 6

		Margalef						Equitabilidade J					
		C1	C2	C3	P1	P2	P3	C1	C2	C3	P1	P2	P3
Dias do monitoramento	-14	2,800	2,179	0,627	3,021	2,941	2,366	0,586	0,579	0,157	0,534	0,421	0,487
	-11	3,128	3,809	2,241	2,754	4,204	2,766	0,700	0,730	0,556	0,646	0,505	0,803
	-7	3,717	1,986	1,880	3,367	3,405	3,301	0,593	0,128	0,405	0,812	0,305	0,738
	-4	4,109	2,982	2,307	3,442	3,224	2,114	0,659	0,222	0,366	0,720	0,336	0,529
	0	4,020	2,800	2,663	3,853	3,104	3,147	0,690	0,287	0,343	0,772	0,330	0,405
	1	4,709	2,945	2,767	4,195	2,979	1,733	0,576	0,245	0,400	0,757	0,423	0,256
	2	3,900	3,439	3,075	2,716	2,925	1,851	0,648	0,222	0,399	0,633	0,460	0,298
	3	4,635	2,704	3,041	2,609	2,223	0,724	0,805	0,177	0,588	0,583	0,187	0,350
	4	4,625	3,331	3,683	2,830	1,881	1,606	0,744	0,286	0,418	0,559	0,176	0,310
	7	4,103	2,725	3,264	2,474	2,282	1,063	0,774	0,324	0,342	0,761	0,494	0,561
	10	2,385	1,423	3,676	1,730	1,811	1,227	0,660	0,159	0,511	0,570	0,442	0,672
	13	2,393	2,210	2,395	1,052	1,899	0,889	0,560	0,129	0,405	0,761	0,263	0,664
	16	0,480	2,451	2,899	2,436	1,083	0,980	0,729	0,100	0,468	0,793	0,502	0,669
	21	1,714	1,640	1,789	2,190	1,764	1,354	0,422	0,062	0,223	0,701	0,517	0,591
	27	2,518	1,880	2,099	1,863	1,707	1,461	0,508	0,214	0,369	0,761	0,523	0,540
	41	2,166	1,948	2,197	1,874	1,372	1,262	0,481	0,509	0,517	0,886	0,434	0,602
	56	3,215	1,397	1,274	1,633	0,610	2,024	0,496	0,207	0,363	0,855	0,408	0,716
	88	3,285	0,526	0,664	1,680	1,202	1,480	0,755	0,165	0,148	0,629	0,373	0,609
	123	2,659	1,461	0,541	1,471	1,302	1,779	0,541	0,254	0,325	0,301	0,534	0,868
	152	0,869	1,398	2,396	1,630	1,385	1,834	0,386	0,598	0,467	0,652	0,618	0,667
186	1,048	1,425	1,684	1,363	0,350	1,676	0,224	0,620	0,562	0,622	0,171	0,714	
213	1,490	1,203	2,340	1,280	0,416	2,084	0,196	0,712	0,474	0,669	0,125	0,676	
246	0,364	0,742	1,834	1,283	0,406	2,528	0,265	0,520	0,530	0,583	0,078	0,659	
275	0,369	0,593	1,722	1,693	0,243	1,700	0,176	0,311	0,584	0,617	0,158	0,734	
302	0,375	0,416	2,640	1,528	0,325	1,708	0,441	0,283	0,723	0,724	0,115	0,892	
337	1,584	0,760	2,343	1,504	0,242	1,097	0,589	0,526	0,643	0,687	0,144	0,829	
366	0,758	0,682	3,821	1,505	0,675	1,738	0,681	0,352	0,699	0,676	0,635	0,772	

Pela análise da comunidade fitoplanctônica (Figura 25) não se verifica uma composição inicial, em termos de classe, semelhante em todos os mesocosmos (controle e contaminados), registrando-se inicialmente diferenças entre os tratamentos.

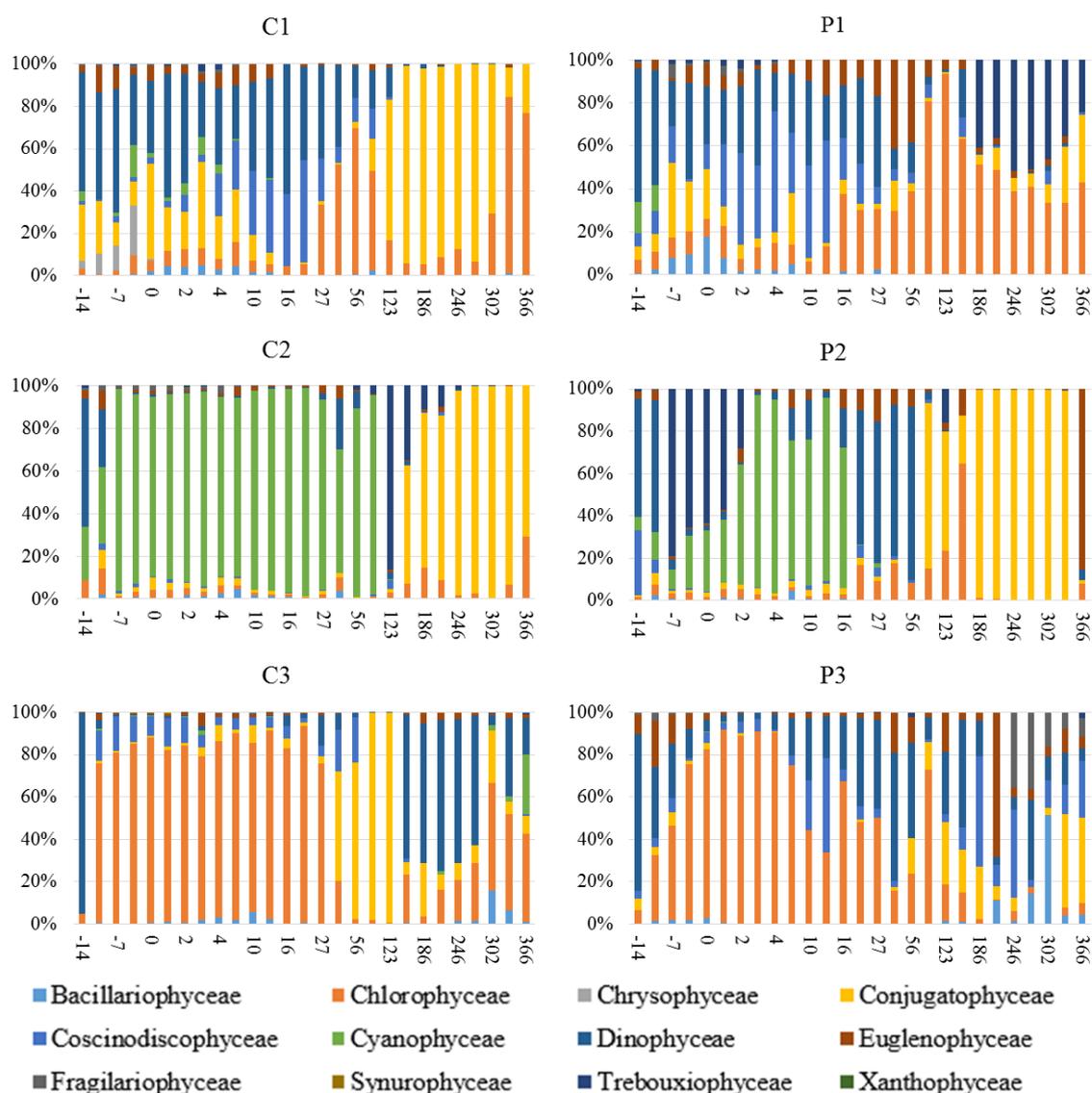


Figura 25: Abundância relativa das classes de fitoplâncton registrada durante o monitoramento dos mesocosmos nos tratamentos controle (C1, C2 e C3) e contaminados (P1, P2 e P3).

7.2.2 Análise da Principal Response Curves (PRC) da comunidade fitoplanctônica

Na Figura 26 está apresentada a PRC em nível de espécie, verificando-se que a comunidade dos mesocosmos que receberam o pyrimethanil (P1, P2 e P3) se distancia daquelas do controle (C1, C2 e C3) no decorrer do tempo, até o 152º dia do experimento, mantendo-se mais constantes em relação ao controle a partir desta data. Segundo o diagrama de espécies, as que apresentaram maior relevância em relação à resposta positiva (aumento de abundância) foram *Staurastrum sp.*, *Monoraphidium contortum*, *Ankistrodesmus sp.* e *Coelastrum proboscideum*; enquanto as que tiveram maior relevância em termos negativos

(diminuição da abundância) foram *Trachelomonas volvocina*, *Coenochloris sp.* e *Tetrastrum sp.*

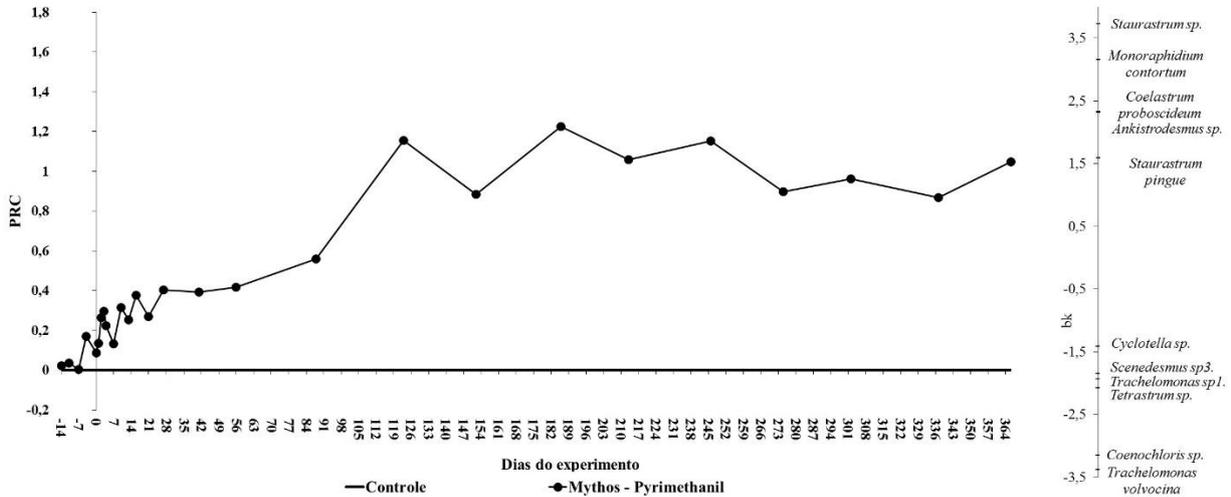


Figura 26: Resultados da Principal Response Curve da comunidade fitoplanctônica, considerando o nível de espécie, nos tratamentos controle e contaminado com pyrimethanil.

Pela análise da PRC realizada a partir da densidade fitoplanctônica, em nível taxonômico de gênero (Figura 27), verifica-se a mesma resposta, com a comunidade dos mesocosmos contaminados (P1, P2 e P3) se distanciando dos mesocosmos controle até o 123º dia, quando apresenta uma tendência de maior estabilização. A análise do diagrama demonstra que os gêneros que tiveram maior relevância para o efeito positivo foram *Staurastrum*, *Coelastrum*, *Monoraphidium* e *Ankistrodesmus*; enquanto que para o efeito negativo foram *Trachelomonas*, *Coenochloris* e *Tetrastrum*.

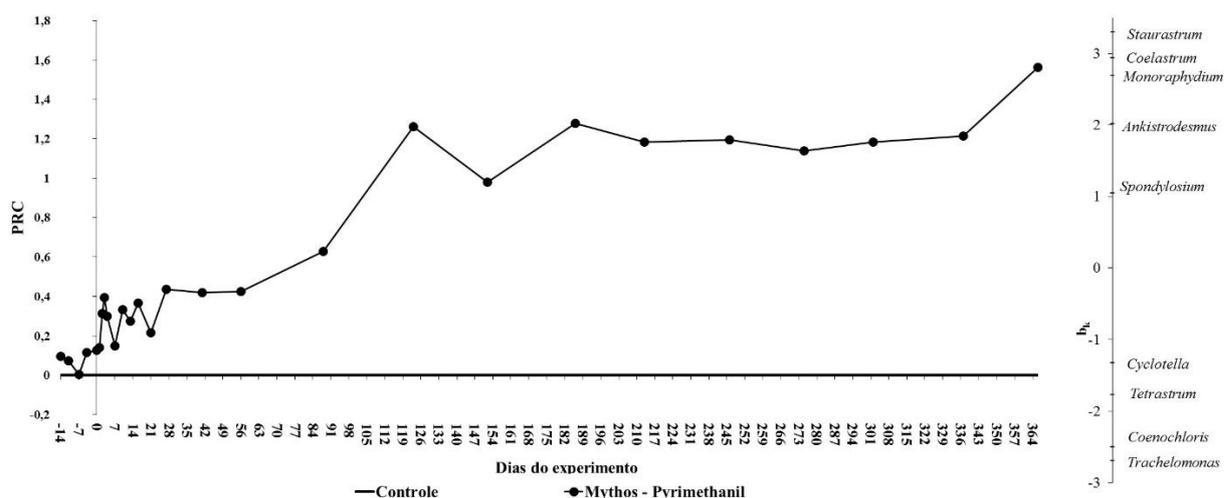


Figura 27: Resultados da Principal Response Curve da comunidade fitoplanctônica, considerando o nível de gênero, nos tratamentos controle e contaminado com pyrimethanil.

7.2.3 Composição e estrutura da comunidade zooplanctônica

Na análise de comunidade zooplanctônica verificou-se a presença de 18 taxa, distribuídos em 14 famílias pertencentes a 3 ordens. Dos 3 grupos, Rotifera foi o que apresentou maior número de espécies (8), seguido por Cladocera (7) e Copepoda (3). Em relação às 14 famílias identificadas, 9 apresentaram apenas uma espécie, 3 apresentaram duas espécies (Chydoridae, Diaptomidae e Synchaetidae) e apenas a família Lecanidae teve 3 representantes. A comunidade zooplanctônica apresentou 18,18% de espécies raras, 36,36% de espécies comuns, 27,27% de espécies frequentes e 18,18% de espécies constantes. Quatro espécies foram consideradas raras, dentre elas estão: *Alona guttata*, *Chydorus sphaericus*, *Argyrodiaptomus furcatus*, *Synchaeta* sp., por estarem presentes em menos de 20% das amostras analisadas. Já as espécies *Bosmina freyi*, *Ceriodaphnia silvestrii*, *Diaphanosoma spinulosum*, *Macrothrix spinosa* e *Polyarthra vulgaris* e os copepoditos de cyclopoida foram considerados como frequentes por estarem presentes entre 50 a 80% das amostras. Já a espécie *Notodiaptomus iheringi*, os nauplios de calanoida, copepoditos de calanoida, e nauplios de cyclopoida foram considerados constantes por estarem presentes em mais de 80% das amostras analisadas. A composição taxonômica encontra-se descrita na Tabela 7.

Tabela 7: Composição taxonômica do zooplâncton, frequência de ocorrência (FO) e classificação funcional das espécies registradas durante o período experimental, considerando todos os tratamentos. FP: filtrador pequeno; FM: filtrador médio; P: predador; *: grupo funcional não identificado.

Taxa	Grupo funcional	FO (%)	Classificação FO
Cladocera			
<i>Alona guttata</i> (Sars, 1862)	FM	12,18	Rara
<i>Bosmina freyi</i> (De Melo; Hebert, 1994)	FM	50	Frequente
<i>Ceriodaphnia silvestrii</i> (Daday, 1902)	FM	55,77	Frequente
<i>Chydorus sphaericus</i> (Muller 1785)	FM	5,77	Rara
<i>Diaphanosoma spinulosum</i> (Herbst, 1967)	FM	65,38	Frequente
<i>Ilyocryptus spinifer</i> (Herrick, 1882)	FM	37,18	Comum
<i>Macrothrix spinosa</i> (King, 1853)	FM	58,97	Frequente
Copepoda			
Calanoida			
Nauplio	FM	98,72	Constante
Copepodito	FM	100	Constante
<i>Argyrodiaptomus furcatus</i> (Sars, 1901)	FG	16,67	Rara
<i>Notodiaptomus ihering</i> (Poppe, 1891)	FG	94,23	Constante
Cyclopoidea			
Nauplio	FP	83,97	Constante
Copepodito	P	71,79	Frequente
<i>Metacyclops leptonus</i> (Kiefer, 1927)	P	28,85	Comum
Rotifera			
<i>Filinia</i> sp.	FP	35,9	Comum
<i>Keratella americana</i> (Carlin, 1943)	FP	48,08	Comum
<i>Lecane glypta</i> (Harring; Myers, 1926)	FP	19,23	Comum
<i>Lecane proiecta</i> (Hauer, 1956)	FP	17,31	Comum
<i>Lecane bulla</i> (Gosse, 1851)	FP	16,02	Comum
<i>Polyarthra vulgaris</i> (Carlin, 1943)	FP	67,31	Frequente
<i>Synchaeta</i> sp.	FP	3,2	Rara
<i>Trichocerca cylindrica</i> (Imhof, 1891)	FP	35,26	Comum

Na Figura 28 está apresentada a composição da comunidade zooplanctônica em termos de abundância relativa para cada um dos grupos encontrados (Cladocera, Copepoda e Rotifera), em relação à abundância total da comunidade zooplanctônica.

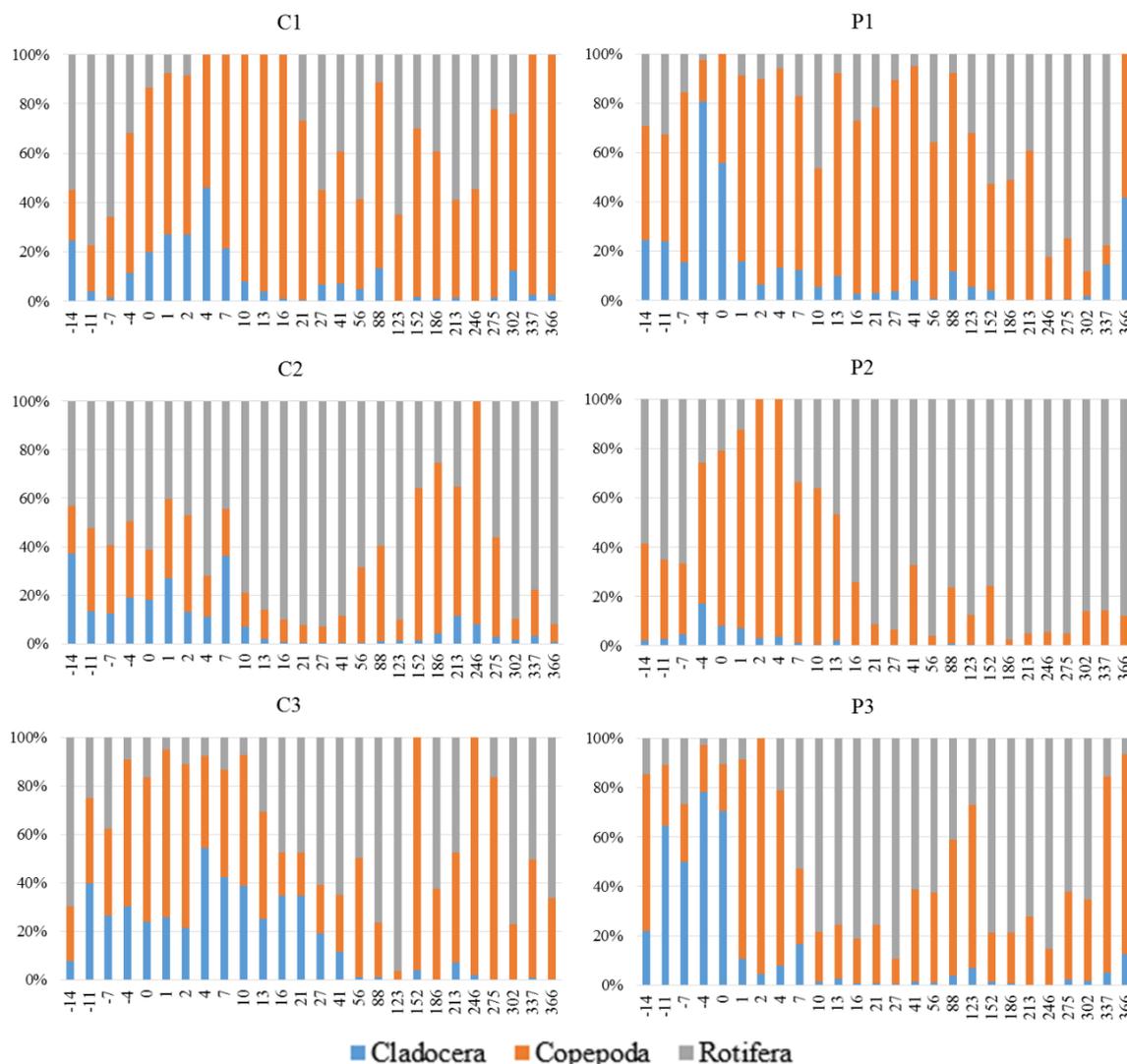


Figura 28: Abundância relativa (%) dos principais grupos zooplancônicos, registrada durante o monitoramento dos mesocosmos nos tratamentos controle (C1, C2 e C3) e contaminados (P1, P2 e P3).

Os valores obtidos para o número de táxons e indivíduos por período amostral estão apresentados na Tabela 8. Pela análise estatística verifica-se uma redução significativa ($p < 0,05$) entre o número de táxons para os mesocosmos contaminados (P1, P2 e P3) quando se compara o período pré e pós-contaminação (15 dias após a contaminação). Ainda em relação à análise do número de táxons é possível observar uma tendência de diminuição do número de táxons no decorrer do monitoramento. Em relação ao número de indivíduos foi observada a redução significativa ($p < 0,05$) no número de indivíduos para a mesma comparação no grupo contaminado (P1, P2 e P3) e também para o grupo controle (C1, C2 e C3) e contaminado (P1, P2 e P3) para o período pós-contaminação (15 dias após a contaminação). A partir do 21º não é observada diferença significativa no número de táxons e de indivíduos, na comparação entre grupos mesocosmos controle e contaminados.

Tabela 8: Número de táxons e número de indivíduos por tratamento (Controle: C1, C2 e C3 e Contaminado: P1, P2 e P3) para a comunidade zooplancônica.

Dias do monitoramento		Número de táxons						Número de indivíduos (org.L ⁻¹)					
		C1	C2	C3	P1	P2	P3	C1	C2	C3	P1	P2	P3
		-14	15	16	13	10	15	11	484	1010	677	246	658
-11	12	14	14	11	14	12	1188	514	444	223	898	319	
-7	13	12	12	12	12	14	964	592	284	231	779	229	
-4	10	15	10	11	14	10	608	816	370	879	655	868	
0	13	16	12	10	15	13	354	790	266	427	497	534	
1	10	15	13	8	14	8	336	812	308	94	267	59	
2	8	15	15	10	9	8	219	646	354	131	193	46	
4	7	16	12	8	8	11	225	1013	486	148	225	117	
7	7	15	10	12	13	11	101	1563	294	245	364	142	
10	10	15	14	10	11	9	65	2067	245	116	350	249	
13	7	15	11	10	15	12	84	4091	246	217	512	277	
16	7	15	11	12	14	10	104	5802	354	190	1302	303	
21	5	15	11	10	14	8	58	10835	354	82	4736	272	
27	11	14	10	8	14	13	91	8491	273	181	3171	619	
41	10	15	10	9	10	11	76	7005	362	140	1811	371	
56	7	13	11	8	8	11	72	1455	392	112	2752	442	
88	10	9	14	6	9	10	344	1042	401	117	391	178	
123	9	13	15	9	8	11	346	3639	6027	264	1515	116	
152	8	6	6	10	5	10	160	61	136	202	75	146	
186	8	10	6	7	9	10	179	311	79	256	4106	119	
213	8	8	5	9	8	6	174	848	51	149	751	45	
246	8	6	4	10	5	6	339	276	26	273	212	88	
275	7	11	7	7	5	8	213	372	85	306	205	81	
302	7	9	4	8	7	8	171	543	253	452	113	81	
337	6	9	7	8	9	9	194	342	158	570	399	97	
366	6	10	6	9	9	9	234	1810	151	198	1081	117	

Em relação aos índices ecológicos para a comunidade zooplancônica (Tabela 9), não foram observadas diferenças significativas em nenhuma das comparações realizadas.

Tabela 9: Índices ecológicos para a comunidade zooplancônica: Índice de Dominância de Simpson, Índices de diversidade de Shannon-Weaver (H), Índice de biodiversidade de Margalef e Equitabilidade J, considerando os mesocosmos controle (C1, C2 e C3) e contaminados (P1, P2 e P3).

Dias do monitoramento		Simpson (1-D)						Shannon-Weaver (H)					
		C1	C2	C3	P1	P2	P3	C1	C2	C3	P1	P2	P3
		-14	0,824	0,806	0,668	0,806	0,697	0,796	2,027	1,963	1,580	1,827	1,568
-11	0,513	0,803	0,823	0,862	0,785	0,666	1,198	1,988	2,013	2,159	1,840	1,528	
-7	0,616	0,859	0,881	0,775	0,743	0,799	1,436	2,146	2,224	1,885	1,726	2,000	
-4	0,845	0,845	0,842	0,408	0,839	0,410	1,982	2,126	1,958	0,996	2,060	0,975	
0	0,776	0,825	0,855	0,659	0,789	0,521	1,865	2,084	2,112	1,358	1,885	1,250	
1	0,844	0,812	0,811	0,750	0,803	0,786	2,021	1,995	1,954	1,614	1,984	1,711	
2	0,826	0,828	0,848	0,709	0,644	0,669	1,900	2,133	2,134	1,545	1,335	1,394	
4	0,830	0,598	0,705	0,788	0,750	0,825	1,847	1,572	1,644	1,751	1,509	1,880	
7	0,785	0,791	0,801	0,790	0,811	0,745	1,672	1,916	1,820	1,784	1,868	1,736	
10	0,620	0,662	0,838	0,719	0,801	0,371	1,377	1,488	2,124	1,592	1,803	0,828	
13	0,678	0,641	0,819	0,740	0,768	0,662	1,360	1,341	1,855	1,648	1,771	1,523	
16	0,561	0,557	0,783	0,697	0,752	0,330	0,964	1,141	1,808	1,541	1,647	0,774	
21	0,618	0,494	0,783	0,639	0,520	0,479	1,144	1,014	1,808	1,342	1,149	1,033	
27	0,828	0,209	0,818	0,594	0,454	0,660	1,948	0,549	1,911	1,216	0,909	1,434	
41	0,792	0,465	0,818	0,696	0,727	0,727	1,758	1,063	1,952	1,496	1,410	1,537	
56	0,737	0,628	0,815	0,817	0,443	0,724	1,457	1,439	1,820	1,795	0,801	1,405	
88	0,794	0,638	0,787	0,680	0,660	0,736	1,783	1,292	1,921	1,351	1,472	1,545	
123	0,686	0,567	0,157	0,762	0,372	0,679	1,272	1,183	0,453	1,692	0,843	1,439	
152	0,638	0,631	0,600	0,743	0,650	0,508	1,217	1,201	1,201	1,615	1,133	1,127	
186	0,652	0,758	0,727	0,747	0,204	0,475	1,299	1,705	1,467	1,521	0,509	1,063	
213	0,640	0,767	0,681	0,802	0,617	0,689	1,361	1,617	1,327	1,737	1,158	1,287	
246	0,691	0,736	0,317	0,499	0,229	0,261	1,459	1,491	0,633	1,136	0,518	0,545	
275	0,767	0,774	0,512	0,408	0,546	0,562	1,625	1,757	1,002	0,794	0,886	1,140	
302	0,744	0,672	0,372	0,263	0,646	0,602	1,534	1,344	0,667	0,589	1,260	1,238	
337	0,551	0,605	0,694	0,644	0,617	0,703	1,026	1,286	1,330	1,264	1,174	1,483	
366	0,575	0,162	0,523	0,694	0,608	0,780	1,056	0,420	1,043	1,418	1,140	1,744	

Continuação da Tabela 9

Dias do monitoramento	Margalef						Equitabilidade J					
	C1	C2	C3	P1	P2	P3	C1	C2	C3	P1	P2	P3
	-14	1,070	1,085	0,894	0,725	1,045	0,817	0,749	0,708	0,616	0,794	0,579
-11	0,786	0,989	1,000	0,812	0,948	0,868	0,482	0,753	0,763	0,900	0,697	0,615
-7	0,871	0,828	0,876	0,891	0,811	1,053	0,560	0,864	0,895	0,759	0,695	0,758
-4	0,676	1,029	0,702	0,731	0,971	0,658	0,861	0,785	0,850	0,415	0,781	0,424
0	0,939	1,105	0,881	0,694	1,067	0,910	0,727	0,752	0,850	0,590	0,696	0,487
1	0,707	1,029	0,950	0,611	1,040	0,637	0,878	0,737	0,762	0,776	0,752	0,823
2	0,569	1,046	1,096	0,764	0,657	0,651	0,914	0,788	0,788	0,671	0,608	0,670
4	0,487	1,085	0,840	0,588	0,568	0,857	0,949	0,567	0,662	0,842	0,726	0,784
7	0,521	0,982	0,715	0,886	0,937	0,843	0,860	0,708	0,791	0,718	0,728	0,724
10	0,812	0,963	1,048	0,772	0,783	0,644	0,598	0,550	0,805	0,691	0,752	0,377
13	0,529	0,920	0,806	0,732	1,065	0,878	0,699	0,495	0,774	0,716	0,654	0,613
16	0,519	0,899	0,783	0,905	0,923	0,713	0,495	0,421	0,754	0,620	0,624	0,336
21	0,365	0,864	0,783	0,796	0,846	0,559	0,711	0,375	0,754	0,583	0,436	0,497
27	0,876	0,815	0,719	0,578	0,868	0,900	0,812	0,208	0,830	0,585	0,344	0,559
41	0,800	0,888	0,703	0,675	0,625	0,780	0,764	0,392	0,848	0,681	0,613	0,641
56	0,537	0,846	0,776	0,602	0,472	0,769	0,749	0,561	0,759	0,863	0,385	0,586
88	0,706	0,577	1,008	0,429	0,621	0,744	0,775	0,588	0,728	0,754	0,670	0,671
123	0,627	0,794	0,897	0,641	0,492	0,858	0,579	0,461	0,167	0,770	0,406	0,600
152	0,584	0,454	0,423	0,737	0,356	0,757	0,585	0,670	0,670	0,702	0,704	0,489
186	0,579	0,712	0,443	0,482	0,525	0,770	0,625	0,741	0,819	0,782	0,232	0,462
213	0,580	0,513	0,369	0,672	0,517	0,466	0,655	0,778	0,825	0,791	0,557	0,718
246	0,550	0,399	0,295	0,719	0,326	0,439	0,702	0,832	0,457	0,494	0,322	0,304
275	0,489	0,780	0,528	0,475	0,327	0,619	0,835	0,733	0,515	0,408	0,551	0,548
302	0,498	0,606	0,241	0,538	0,516	0,619	0,788	0,612	0,481	0,283	0,648	0,595
337	0,411	0,628	0,501	0,528	0,620	0,697	0,573	0,586	0,684	0,608	0,534	0,675
366	0,404	0,625	0,419	0,656	0,576	0,685	0,590	0,183	0,582	0,645	0,519	0,794

7.2.4 Análise da Principal Response Curves (PRC) da comunidade zooplanctônica

Em relação à análise da PRC para a comunidade zooplanctônica, em nível de espécie (Figura 29), verifica-se o efeito do agrotóxico até o 21º dia após a contaminação, o que também ocorre após o 42º dia, seguido por valores abaixo ou acima do controle (entre o 152º e 213º dia). Segundo o diagrama de espécies (Figura 29), aquelas que apresentaram mais relevância para a diminuição da abundância foram *Diaphanosoma spinulosum*, *Trichocerca cylindrica* e *Filinia* sp., enquanto que as contribuíram para um efeito positivo (aumento de abundância) foram as espécies *Polyarthra vulgaris* e *Ceriodaphnia silvestrii*.

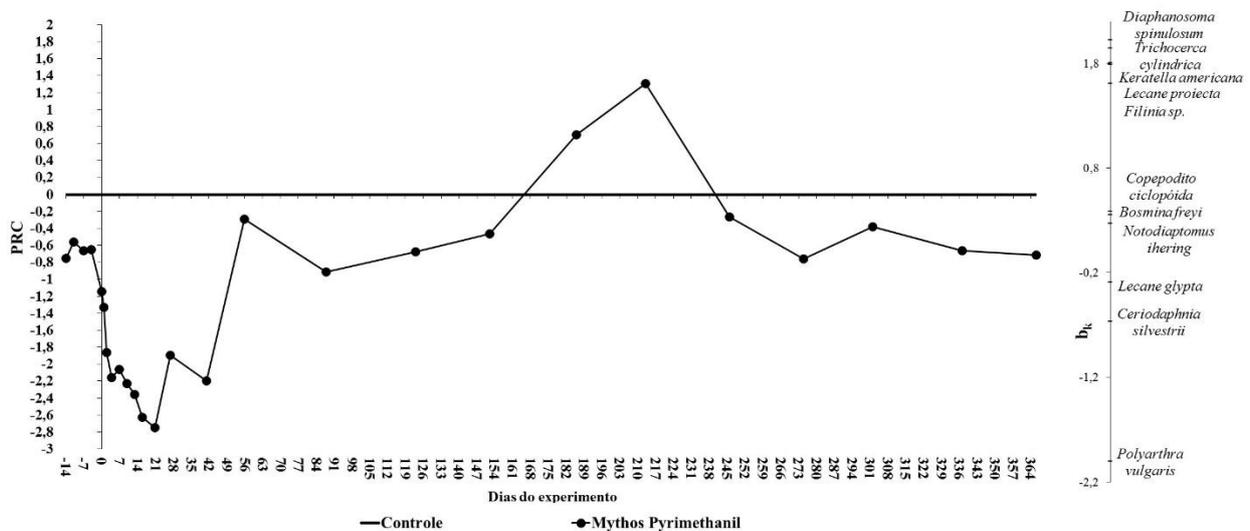


Figura 29: Principal response curve para análise da comunidade zooplanctônica em nível de espécie.

Em relação à análise da PRC em nível de família (Figura 30), pode-se observar que houve pouca diferença em relação ao observado para a mesma análise em nível de espécie (Figura 30).

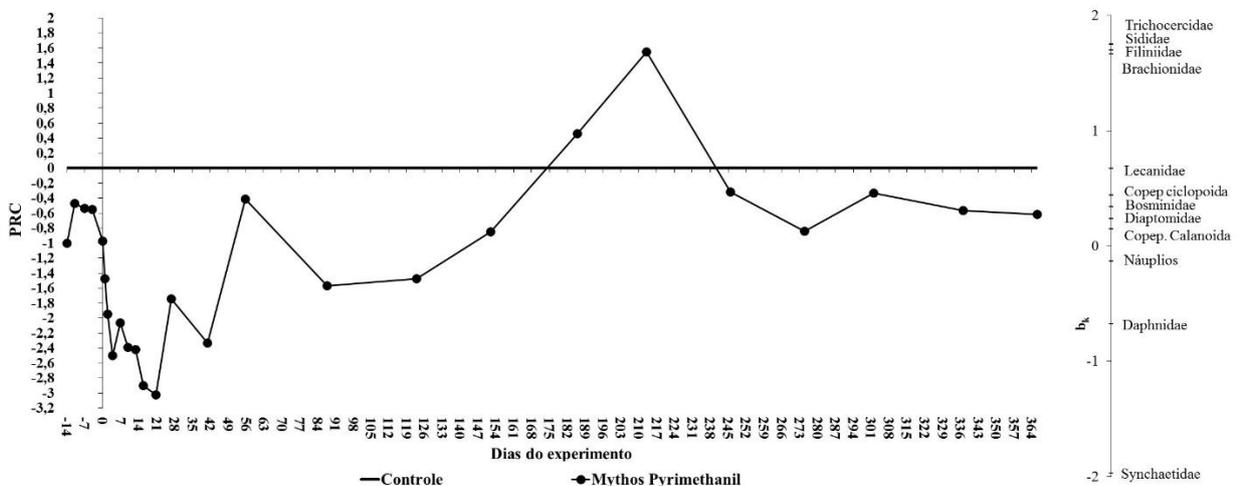


Figura 30: Principal response curve para análise da comunidade zooplanctônica em nível de família.

7.2 Análise dos coeficientes de variação

Os resultados da análise dos coeficientes de variação das variáveis monitoradas ao longo do experimento apresentaram valores médios entre 0,73 % e 107%. A Figura 31 apresenta os *bloxplot* referentes aos coeficientes de variação das variáveis analisadas para os

tratamentos controle (C) e contaminado com pyrimethanil (P). As variáveis que apresentaram menores coeficientes de variação foram temperatura, oxigênio dissolvido, pH, condutividade e fósforo total dissolvido. As variáveis que apresentaram maior coeficiente de variação foram nitrogênio total, nitrito, nitrato e íon amônio; além da turbidez.

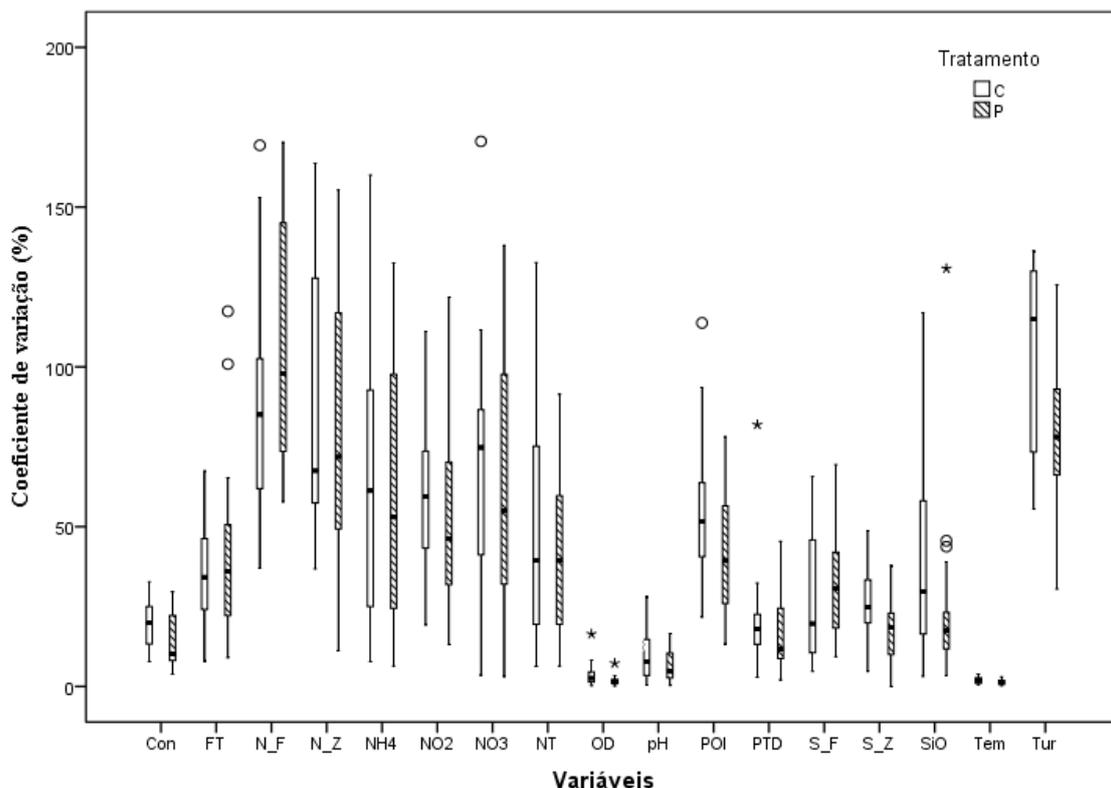


Figura 31: Bloxplot referente aos coeficientes de variação das variáveis: condutividade (com), fósforo total (FT), abundância do fitoplâncton (N_F), abundância do zooplâncton (N_Z), íon amônio (NH₄), nitrito (NO₂), nitrato (NO₃), nitrogênio total (NT), oxigênio dissolvido (OD), pH, fósforo inorgânico (POI), fósforo total dissolvido (PTD), número de espécies de fitoplâncton (S_F), número de espécies de zooplâncton (S_Z), silicato reativo (SiO), temperatura (Tem) e turbidez (Turb); para os tratamentos controle (C) e contaminados com pyrimethanil (P).

7.3 Testes ecotoxicológicos

A seguir serão apresentados apenas os resultados obtidos para os *endpoints* selecionados, não detalhando os valores das variáveis físico-químicas para cada teste de toxicidade, pois todos estiveram dentro do estabelecido pelas respectivas normas. Os valores específicos para cada uma das variáveis e os resultados dos *endpoints* avaliados encontram-se na Tabela 10 do corpo do texto e nas Tabelas 1 a 6 do Apêndice B.

7.3.1 Testes de toxicidade com *C. silvestrii* e *D. similis*

Para cada espécie foram realizados dois testes de sensibilidade, sendo que os valores obtidos da $CE_{50;48h}$ para a espécie *C. silvestrii* foram de 0,99 e 1,27 $g.L^{-1}$ de NaCl e para *D. similis* foram de 591,17 e 586,94 $mg.L^{-1}$ de KCl. Os resultados dos testes de sensibilidade com *C. silvestrii* e *D. similis* estiveram de acordo com a carta-control de laboratório, que é de 1,18 a 1,37 $g.L^{-1}$ de cloreto de sódio (NaCl) para *C. silvestrii* e de 552,84 a 632,15 $mg.L^{-1}$ de cloreto de potássio (KCl) para *D. similis*.

Para avaliar os efeitos do pyrimethanil foram realizados 6 testes de toxicidade aguda e 2 testes de toxicidade crônica com o organismo-teste *Ceriodaphnia silvestrii* e 4 testes de toxicidade aguda com *Daphnia similis*. Os resultados obtidos nos testes ecotoxicológicos estão apresentados na Tabela 1 a 3, do Apêndice B, verificando-se que a $CE_{50;48h}$ para *C. silvestrii* esteve compreendida entre 3,03 e 3,40 $mg.L^{-1}$ de pyrimethanil, com média de 3,26 $mg.L^{-1}$, limite superior de 3,51 $mg.L^{-1}$, limite inferior de 3,01 $mg.L^{-1}$ e coeficiente de variação de 3,88% (Figura 32). Os valores para $CE_{10;48h}$ e $CE_{90;48h}$ foram de 2,57 e 4,19 $mg.L^{-1}$ de pyrimethanil, respectivamente (Figura 31 e Tabela 10 no corpo do texto e Tabela 1 do Apêndice B).

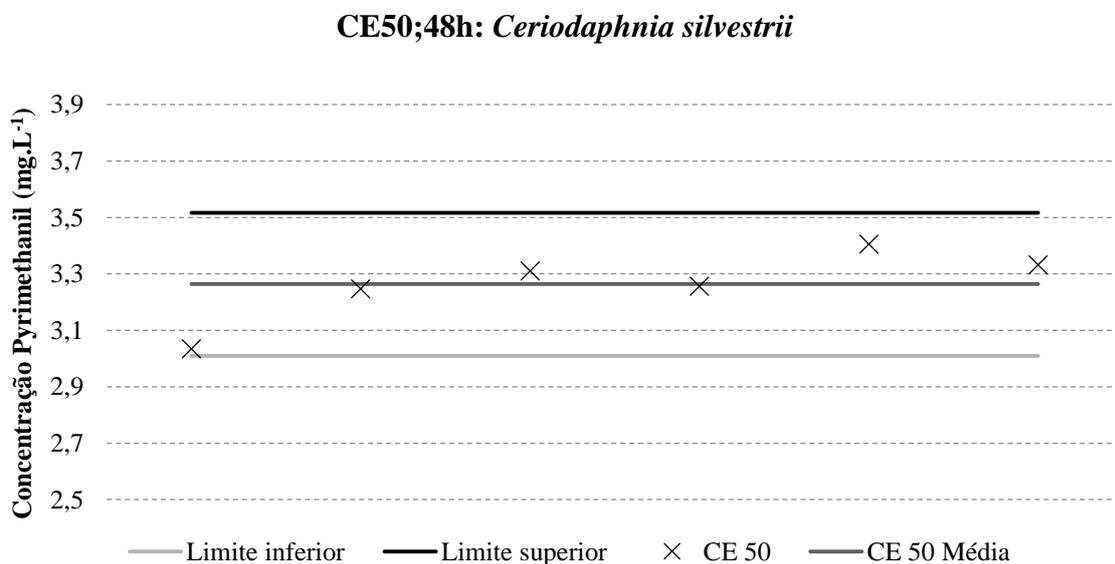


Figura 32: Resultados da concentração de efeito (CE_{50}) para os testes de toxicidade aguda (48h) com *Ceriodaphnia silvestrii*, exposta ao pyrimethanil

Os resultados dos testes de toxicidade crônica com *C. silvestrii* encontram-se na Figura 33, verificando-se os valores da CE_{50} sobre a reprodução de 0,674 e 0,675 $mg.L^{-1}$, com limites superior de 0,68 $mg.L^{-1}$ e inferior de 0,67 $mg.L^{-1}$ e coeficiente de variação de

0,10%. Os valores da CE_{10} e CE_{90} foram de 0,20 e 2,33 mg.L^{-1} de pyrimethanil respectivamente (Figura 32 e Tabela 10, e na Tabela 2 do Apêndice B). A pequena variação apresentada nos resultados pode ser decorrente do fato de que os testes foram elaborados ao mesmo tempo, com o mesmo lote de indivíduos e as mesmas soluções teste.

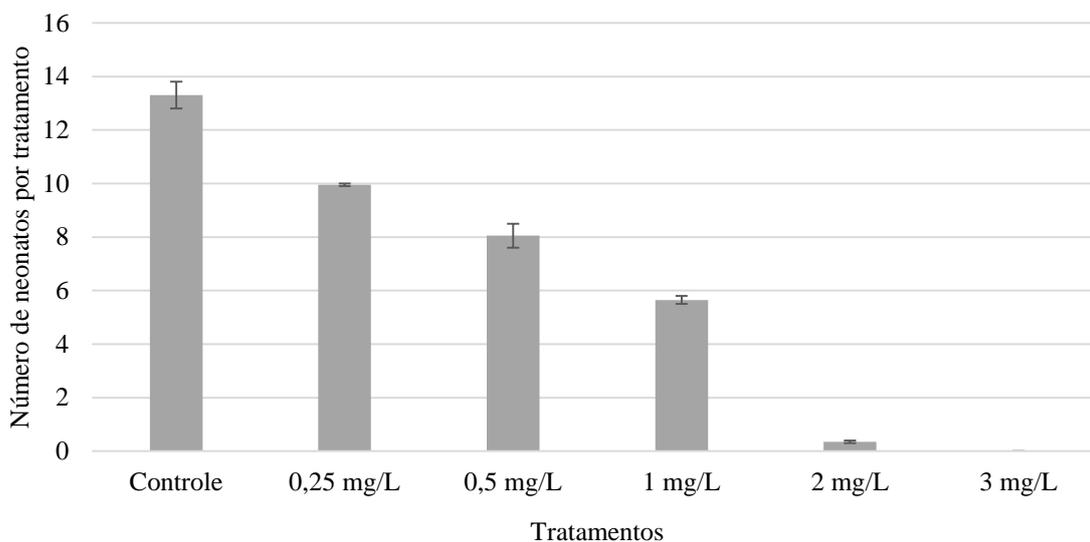


Figura 33: Número médio de neonatos de *C. silvestrii* por tratamento nas exposições ao pyrimethanil.

Para *D. similis* a $CE_{50,48h}$ média foi de 3,651 mg.L^{-1} , com valores entre 3,07 e 3,97 mg.L^{-1} , limite superior de 4,48 mg.L^{-1} , limite inferior de 2,82 mg.L^{-1} e coeficiente de variação de 11,40%. Os resultados da $CE_{10,48h}$ e $CE_{90,48h}$ foram de 1,69 e 7,99 mg.L^{-1} respectivamente (Figura 34 e Tabela 10 do corpo do texto e Tabela 3 do Apêndice B), apresentando um coeficiente de variação superior comparados aos obtidos com a espécie *C. silvestrii*.

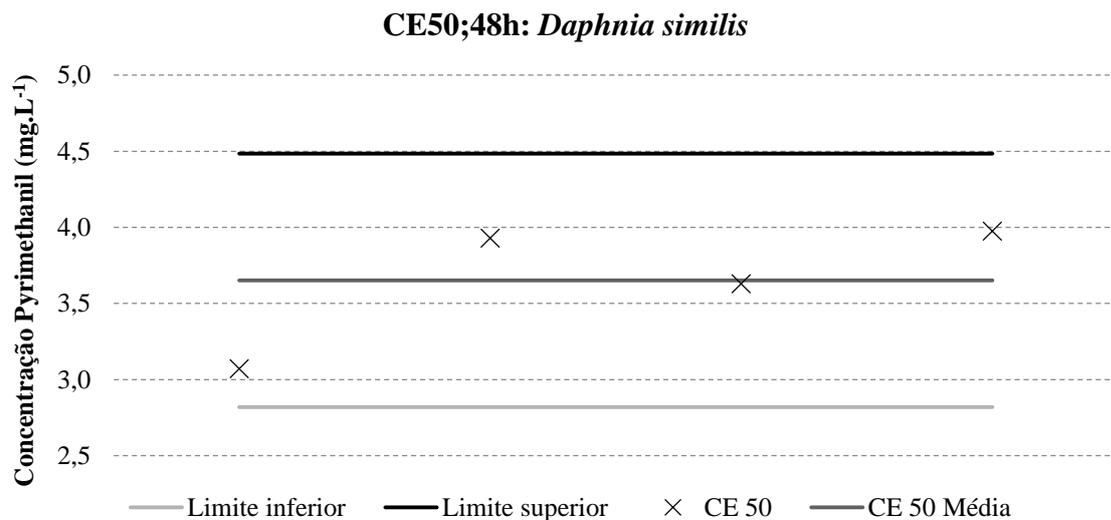


Figura 34: Resultados da concentração de efeito (CE₅₀) para os tentes de toxicidade aguda (48h) com *Daphnia similis*.

7.3.2 Teste de toxicidade com *Pseudokirchneriella subcapitata*

Pelos resultados dos testes de sensibilidade com *P. subcapitata* verifica-se que a concentração de inibição de 50% do crescimento algáceo foi de 4,24 g.L⁻¹, o que está de acordo com a carta controle previamente estabelecida no laboratório de Ecotoxicologia do NEEA (entre 4,0 e 4,79 g.L⁻¹ de NaCl).

Os resultados dos testes de toxicidade com pyrimethanil demonstram uma CE₅₀ de 9,563 e 9,753 mg.L⁻¹, com concentração média de 9,658 mg.L⁻¹, limite inferior 9,389 mg.L⁻¹ e limite superior 9,927 mg.L⁻¹ e coeficiente de variação de 1,39%. Os resultados da CE₁₀ e CE₉₀ foram 2,96 e 31,63 mg.L⁻¹ respectivamente (Tabela 4 do Apêndice B). Na Figura 34 estão apresentados os valores de inibição do crescimento celular (número de células e porcentagem) em relação ao contaminante.

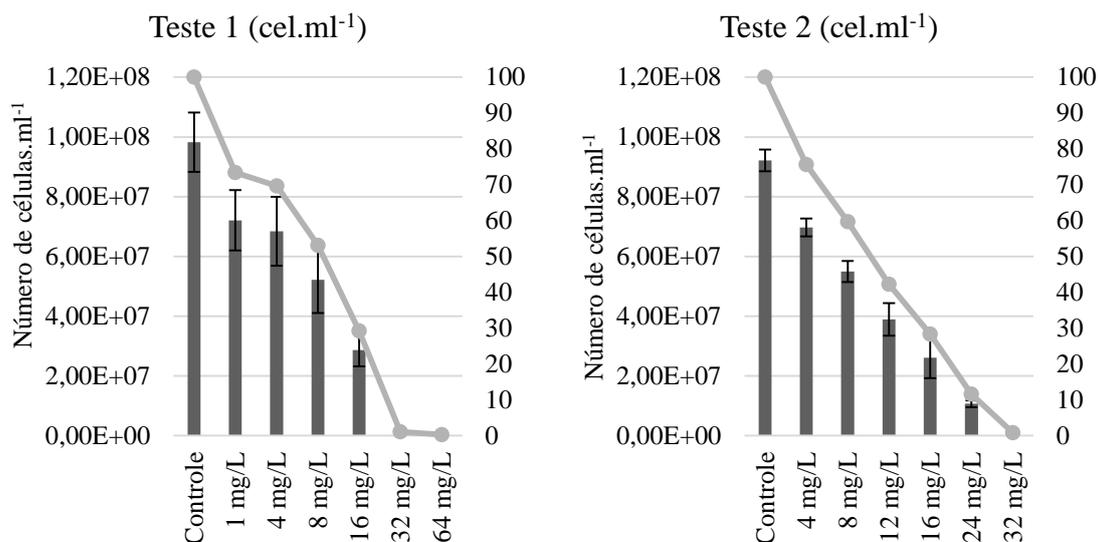


Figura 35: Resultados dos testes de toxicidade com *Pseudokirchneriella subcapitata*, expressos em densidade celular (cel.ml⁻¹) no gráfico de barras, e a inibição de crescimento em porcentagem no gráfico de linhas, para as concentrações de pyrimethanil (em mg.L⁻¹)

7.3.3 Testes de toxicidade laboratorial e in situ com *Danio rerio*

Os resultados obtidos nos testes de sensibilidade com cloreto de potássio (KCl) estiveram de acordo com a faixa estabelecida na carta controle laboratorial (entre 667,69 e 914,56 mg.L⁻¹), com CL_{50,48h} de 758,15 mg.L⁻¹, com limite inferior de 733,15 mg.L⁻¹ e superior de 782,08 mg.L⁻¹.

Os resultados da avaliação biométrica dos 30 indivíduos do lote obtido para a realização dos testes estão representados na Figura 35. Em relação a análise biométrica, pela regressão linear verifica-se homogeneidade entre os indivíduos, apresentando como equação do modelo de regressão $y = 0,0099x - 0,1166$ com $R^2 = 0,94$, demonstrando que o modelo estabelecido está adequado.

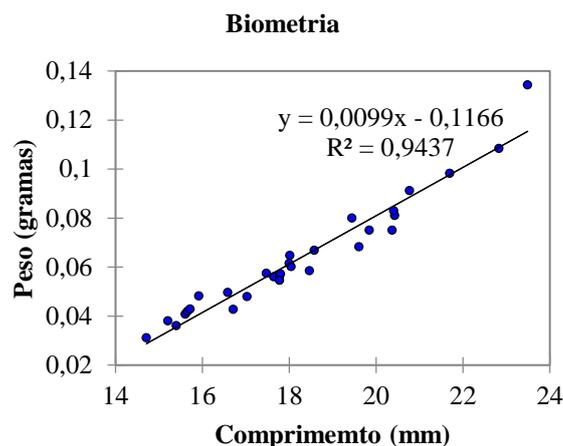


Figura 36: Avaliação biométrica do lote de *Danio rerio*, apresentando a relação entre o peso (g) e o comprimento (mm).

Em relação aos testes de toxicidade com amostras de água dos mesocosmos e os testes de toxicidade realizados *in situ* não foram verificadas imobilidade (em laboratório) ou mortalidade (laboratório e *in situ*) em nenhum dos tratamentos (controle e pyrimethanil), conforme resultados apresentados nas Tabelas de 7 a 12 do Apêndice B.

Nos resultados dos testes de toxicidade para avaliação da letalidade mediante exposição de 48 horas ao pyrimethanil (Figura 37 e Tabela 10 do corpo do texto e Tabelas 5 e 6 do Apêndice B), a $CL_{50,48h}$ média foi de $32,17 \text{ mg.L}^{-1}$, variando entre $30,0 \text{ mg.L}^{-1}$ e $36,54 \text{ mg.L}^{-1}$, com limite superior de $37,55 \text{ mg.L}^{-1}$, limite inferior de $26,79 \text{ mg.L}^{-1}$ e coeficiente de variação de 8,359%. Os resultados da $CL_{10,48h}$ e $CL_{90,48h}$ foram de 30,22 e $35,67 \text{ mg.L}^{-1}$ respectivamente. Para os testes de toxicidade com duração de 96 horas, o valor médio de $CL_{50,96h}$ foi $27,46 \text{ mg.L}^{-1}$, apresentando valores entre $24,85 \text{ mg.L}^{-1}$ e $28,94 \text{ mg.L}^{-1}$, com limite superior de $30,31 \text{ mg.L}^{-1}$, limite inferior de $24,60 \text{ mg.L}^{-1}$ e coeficiente de variação de 5,20%. Os resultados da $CL_{10,96h}$ e $CL_{90,96h}$ foram de 22,11 e $34,14 \text{ mg.L}^{-1}$ respectivamente (Figura 37 e Tabela 10 do corpo do texto e Tabelas 5 e 6 do Apêndice B).

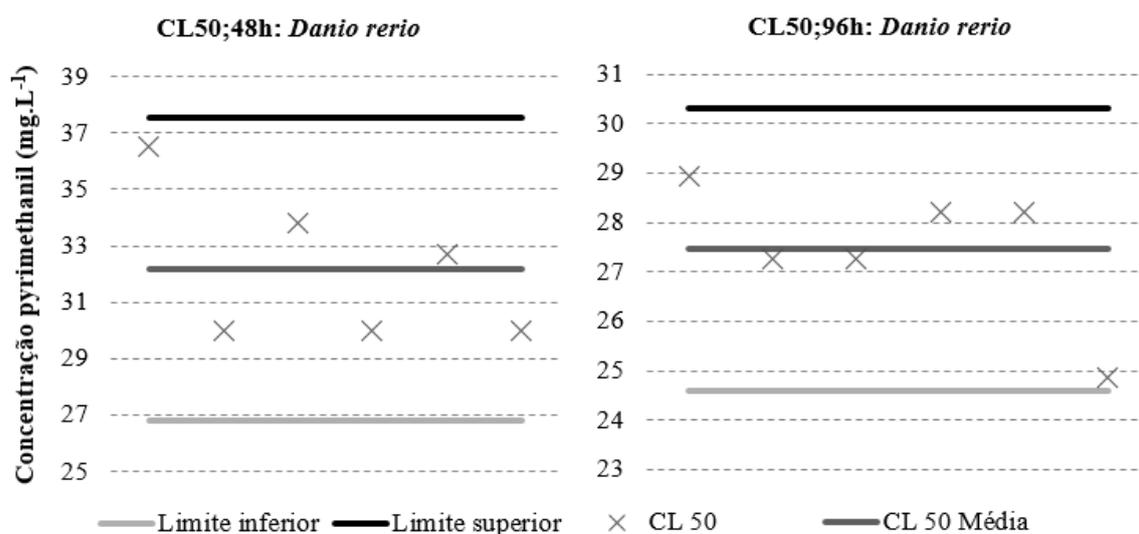


Figura 37: Resultados da CL₅₀, avaliando a letalidade, para os testes de toxicidade aguda (48h e 96h) com *Danio rerio* em exposições ao pyrimethanil.

Em relação à avaliação da imobilidade dos organismos-teste (Figura 38 e Tabela 10 do corpo do texto e Tabelas 5 e 6 do Apêndice B), os valores da CE_{50;48h} foram de 12,90 e 14,52 mg.L⁻¹, com média de 13,77 mg.L⁻¹, limite inferior de 12,44 mg.L⁻¹, limite superior de 15,105 mg.L⁻¹ e coeficiente de variação de 4,84%. Os resultados da CE_{10;48h} e CE_{90;48h} foram de 9,28 e 20,56 mg.L⁻¹, respectivamente. Os valores da CE_{50;96h} estiveram entre 7,99 e 12,02 mg.L⁻¹, CE_{50;96h} média de 10,45 mg.L⁻¹, limite inferior de 7,73 mg.L⁻¹, limite superior de 13,18 mg.L⁻¹ e coeficiente de variação de 13,02%. Os resultados da CE_{10;96h} e CE_{90;96h} foram de 7,45 e 14,83 mg.L⁻¹ respectivamente.

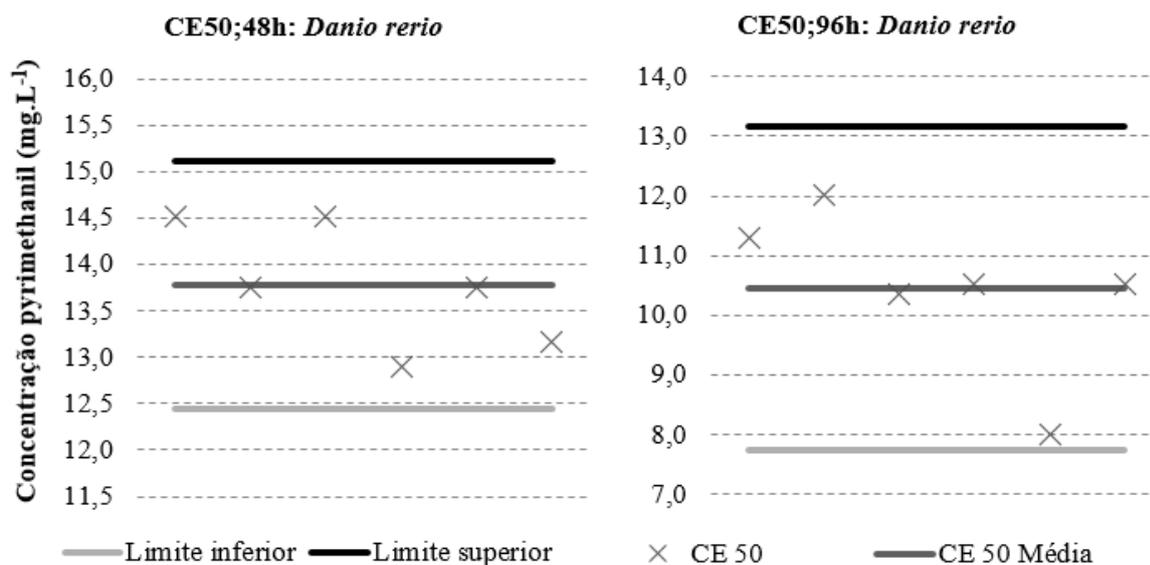


Figura 38: Resultados da concentração de efeito (CE₅₀), avaliando a imobilidade, para os testes de toxicidade aguda (48h e 96) com *Danio rerio* em exposições ao pyrimethanil.

7.4 Distribuição da sensibilidade dos testes e endpoints

Os resultados dos valores da CE₉₀, CE₅₀ e CE₁₀, obtidos nos testes de toxicidade com pyrimethanil, com os diferentes organismos-testes selecionados, estão resumidos na Tabela 10.

Tabela 10: Síntese dos resultados dos testes de toxicidade laboratoriais com os organismos-teste selecionados para avaliação do efeito tóxico do pyrimethanil.

Sumário dos resultados dos testes ecotoxicológicos (mg.L ⁻¹)											
Organismo-teste	Duração	Endpoint	Resultados de CE ₅₀ mg.L ⁻¹						Média CE ₁₀ mg.L ⁻¹	Média CE ₅₀ mg.L ⁻¹	Média CE ₉₀ mg.L ⁻¹
<i>C. silvestrii</i>	10 dias	Número de neonatos	0,67			0,67			0,20	0,67	2,33
<i>C. silvestrii</i>	48h	Imobilidade	3,03	3,24	3,31	3,25	3,40	3,33	2,57	3,26	4,19
<i>D. similis</i>	48h	Imobilidade	3,07	3,92	3,62		3,97		1,69	3,65	7,99
<i>P. subcapitata</i>	96h	Inibição de crescimento	9,56			9,75			2,96	9,66	31,63
<i>D. rerio</i>	96h	Imobilidade	11,30	12,02	10,34	10,53	7,99	10,53	7,45	10,45	14,83
<i>D. rerio</i>	48h	Imobilidade	14,51	13,76	14,52	12,90	13,76	13,17	9,28	13,77	20,56
<i>D. rerio</i>	96h	Letalidade	28,94	27,26	27,26	28,22	28,22	24,85	22,11	27,46	34,14
<i>D. rerio</i>	48h	Letalidade	30,00	36,54	32,67	30,00	33,80	30,00	30,22	32,17	34,37

A partir dos valores médios da CE/CL₅₀ para cada tipo de teste de toxicidade foi elaborada uma curva de sensibilidade dos endpoints avaliados com a finalidade de facilitar a visualização da sensibilidade (Figura 38). O resultado da curva de sensibilidade aponta para a maior sensibilidade das espécies zooplancônicas, menor sensibilidade para a espécie

de peixe *D. rerio* e um valor intermediário para a sensibilidade da espécie de alga *P. subcapitata*. Nota-se que os diferentes *endpoints* para *C. silvestrii* (letalidade para o teste de toxicidade aguda e reprodução para o teste de toxicidade crônica), assim como a letalidade e imobilidade para os testes de toxicidade com *D. rerio*, apresentam grandes diferenças em relação aos resultados das concentrações de efeito observados.

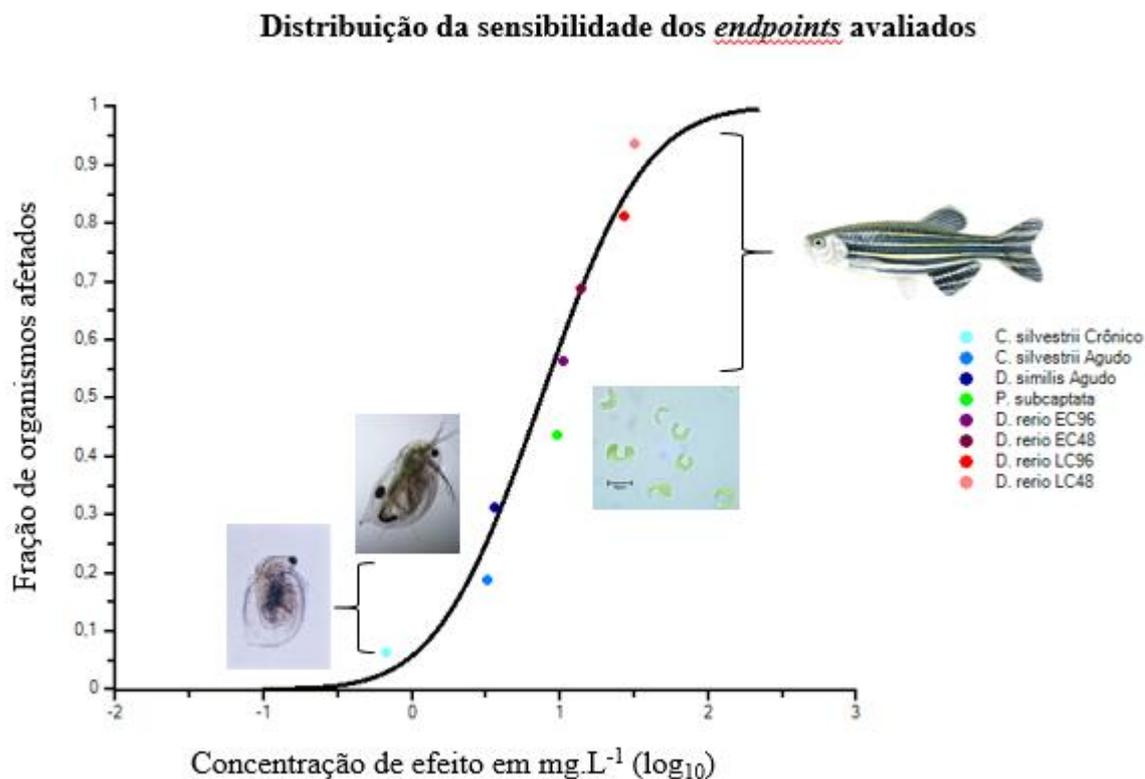


Figura 39: Distribuição da sensibilidade dos testes ecotoxicológicos para as diferentes espécies e *endpoints* avaliados.

8 DISCUSSÃO

Avaliações ecotoxicológicas com pyrimethanil ainda são escassas na literatura. Dentre os estudos existentes uma parte é direcionada a fauna edáfica (BANDOW; COORS; RÖMBKE, 2013; BANDOW et al., 2014; SEELAND et al., 2013) e outra para organismos aquáticos, na qual se pode destacar os estudos de Dosnon-Olette, Couderchet e Eullaffroy (2009), sobre fitoremoção e toxicidade para as espécies de macrófitas *Lemna minor*, *Spirodela polyrhiza*, *Cabomba aquatica*, *Callitriche palustris* e *Eloдея canadenses*; Verdisson, Couderchet e Vernet (2001), para a macrófita *L. minor* e microalga *Scenedesmus acutus*; Dosnon-Olette et al. (2010) com as espécies de microalgas *Scenedesmus obliquus* e *Scenedesmus quadricauda*; Müller et al. (2012), sobre exposições crônicas de longa duração com *C. riparius* em diferentes cenários de alterações climáticas; Seeland, Oehlmann e Müller (2012), que avaliaram a sensibilidade aguda e crônica para *Chironomus riparius* e *Daphnia magna* em diferentes temperaturas; e o de Scherer et al. (2013), que avaliaram os efeitos sobre o cladóceros *Daphnia pulex* em exposições por via direta (contaminação da via aquosa), indireta (contaminação do alimento), na combinação (direta e indireta) na presença ou ausência de predador (*Chaoborus flavicans*).

Desse modo, o presente estudo apresenta importantes informações a respeito dos potenciais tóxicos do pyrimethanil e das formulações comerciais com este princípio ativo, a partir da análise dos efeitos em condições laboratoriais e em modelos ecossistêmicos, complementando as pesquisas ecotoxicológicas disponíveis na literatura, subsidiando a avaliação do risco ambiental do pyrimethanil, principalmente em relação àqueles associados ao seu uso em ambientes tropicais.

8.1 Persistência ambiental da formulação comercial Mythos®

A primeira informação relevante a ser destacada no presente estudo está relacionada à persistência da formulação comercial utilizada (Mythos®) em comparação com os dados encontrados referentes à persistência do princípio ativo pyrimethanil descritos na literatura científica, nos estudos de regulação do uso e relatórios sobre a avaliação de risco do pyrimethanil.

Segundo o relatório EFSA (2006), o pyrimethanil é um composto que não sofre processo de fotólise direta, desse modo, o processo de degradação na presença de luz não é

favorecido. Entretanto, o composto é suscetível ao processo de degradação indireta decorrente da presença de organismos fotossintetizantes no ambiente. Outra informação relevante ressaltada no relatório é o de que a substância também não é prontamente biodegradável. Desse modo, tais características favorecem a persistência do pyrimethanil no ambiente, demonstrando sua alta estabilidade em ambientes aquáticos.

Em relação ao tempo de meia vida, o relatório aponta dois valores diferentes (8,9 e 24 dias), avaliados em dois sistemas distintos, que apresentam sedimento, sem exposição à luz e mantidos a temperatura de 20°C (EFSA, 2006). Nenhuma informação adicional a respeito das características dos dois sistemas é apresentada, como a presença de comunidades ou os valores das variáveis físico-químicas, o que dificulta a interpretação da diferença entre os dois valores apresentados e as possíveis comparações com outras informações obtidas na literatura ou com os resultados obtidos na presente pesquisa.

A avaliação da degradação do pyrimethanil no presente estudo apontou para um tempo de meia vida médio de aproximadamente 13 dias, onde a concentração do composto cai para 50% da concentração inicial. Adicionalmente foi observado que ao longo do tempo há um decréscimo da taxa de degradação do composto, sendo que a segunda meia vida apresenta o valor médio de 24 dias e a terceira meia vida de 37 dias. Estes resultados apresentam um valor superior ao apresentado pelo relatório EFSA (European Food Safety Authority) (2006), o que confirma a maior persistência do composto em estudo.

Em relação à comparação dos resultados obtidos com as informações do relatório EFSA (2006), deve-se ressaltar que o presente estudo apresenta uma série de fatores que poderiam interferir de forma positiva, diminuindo o tempo de degradação do composto, como a presença de uma comunidade complexa e bem estabelecida, com todos os níveis tróficos (produtores, predadores e decompositores), a qual influenciaria a degradação, já que o relatório destaca a importância dos processos associados à fotossíntese como agentes de degradação (EFSA, 2006). Desse modo, supõe-se que os valores de degradação apresentados no relatório EFSA (2006) são provenientes de uma avaliação em um sistema sem luz, onde não há atividade fotossintetizante, desconsiderando esse importante agente de degradação.

Alguns autores apontam fatores que sugerem um comportamento de dissipação mais rápida dos agrotóxicos em ambientes tropicais. Isto estaria relacionado a condições e processos associados com o incremento na degradação química, biodegradação e taxa de volatilização, decorrentes das maiores temperaturas, fotodegradação e maior incidência de raios solares (RACKE, 2003). Os resultados obtidos por Van Wijngaarden, Brock e Douglas

(2005), na comparação do tempo de degradação do clorpirifós em modelos simulando o clima temperado e mediterrâneo, em condições de temperatura diferentes em aproximadamente 10°C, apontaram uma taxa de degradação 33% mais rápida nas condições de maiores temperaturas.

Entretanto, outros estudos demonstram que essa diferença não parece ser tão consistente. Um estudo em microcosmo realizado na região do Pantanal, demonstrou que não houve diferença significativa da dissipação dos agrotóxicos alachlor, atrazina, clorpirifós, endosulfan, metolachlor, profenofos, simazine e trifluralin quando comparados com os estudos realizados em regiões temperadas (LAABS et al., 2007).

Racke (2003), em uma extensa revisão sobre o destino e comportamento dos agrotóxicos em ambientes tropicais, destaca que ainda há muito o que ser avaliado para uma clara compreensão das diferenças no comportamento de agrotóxicos em ambientes tropicais e temperados, o que poderiam implicar até sobre a real eficiência da utilização dos estudos de riscos associados ao uso dos agrotóxicos realizados em condições de clima temperado para situações de ambientes tropicais. O autor ainda afirma que estudos que avaliem os efeitos de percolação, *runoff* e volatilização dos agrotóxicos devem ser amplamente encorajados, visando elucidar esses mecanismos que aparentam ter ampla influência sobre a dinâmica dos agrotóxicos em ambientes tropicais. Além disso, o autor sugere que a inclusão de estudos em ambientes tropicais deveria ser exigida pelas agências de regulação dos países dessa região, de forma a obterem informações mais úteis em nível regional e avaliar com maior clareza a eficiência o risco associado ao uso dos diferentes agrotóxicos.

Desse modo, apesar dos inúmeros fatores que poderiam favorecer a degradação e/ou dissolução do composto nas unidades experimentais contaminadas, o tempo de meia vida obtido no presente estudo foi mais elevado, o que sugere a maior persistência da formulação comercial em comparação com as informações fornecidas pelo relatório EFSA (2006) e consequentemente em uma maior biodisponibilidade do composto. Este resultado aponta uma importante questão que envolve a concepção dos relatórios elaborados para a avaliação dos agrotóxicos: o fato de que os relatórios elaborados para a regulamentação dos agrotóxicos são realizados, em sua maioria, com base em estudos com os princípios ativos, desconsiderando os riscos associados à presença de outras substâncias nas formulações comerciais e que podem afetar drasticamente a persistência dessas formulações no ambiente (COX; SURGAN, 2006).

As diferentes tecnologias presentes nas formulações comerciais muitas vezes visam aumentar a eficiência no combate de pragas, serem mais seguros durante a aplicação, entre outros aspectos. Entretanto, as alterações dessas propriedades afetam drasticamente a persistência dos agrotóxicos no ambiente. Tal fato pode ser confirmado pelos estudos sobre diferentes formulações de clorpirifós, que demonstraram que a versão micro-encapsulada do agrotóxico inibe a degradação do composto por aproximadamente 65 dias, enquanto as formulações em grânulos e em concentrado emulsionável apresentam meia vida de 2,2 e 6,3 dias, respectivamente (MONTEMURRO et al., 2002). Desse modo, a referência de meia vida baseada nos estudos com princípio ativo, que são utilizados nos processos regulatórios, é subestimada quando comparada com as diferentes formulações comerciais que existem no mercado.

Apesar do estudo de Montemurro e colaboradores (2002) demonstrarem diferenças em relação à persistência de diferentes formulações comerciais, ainda não há informações suficientes na literatura que comparem a persistência ambiental de princípios ativos com suas respectivas formulações comerciais em ecossistemas aquáticos. Esse fato é consequência da dificuldade na obtenção de informações mais detalhadas sobre as formulações como quais substâncias e tecnologias estão presentes, e que muitas vezes permanecem desconhecidas devido à interesses industriais e comerciais.

Os estudos realizados por Verdisson, Couderchet e Vernet (2001), com uma formulação que tem como princípio ativo o pyrimethanil (Scala®), também apresentaram uma grande estabilidade. Nos dois testes conduzidos pelos autores o composto apresentou-se estável durante todo o período do teste, sendo que os testes de toxicidade com *S. acutus* e *L. minor* tiveram duração de 18 horas e 6 dias, respectivamente.

Essas informações confirmam a alta persistência ambiental e estabilidade do composto, em especial as formulações comerciais que tem o pyrimethanil como princípio ativo, em ecossistemas aquáticos. Desse modo, este composto pode apresentar alto risco para a comunidade aquática, já que pode permanecer por longos períodos no ambiente e consequentemente impactar as comunidades de forma crônica, mesmo que em baixas concentrações.

Os diferentes resultados apresentados demonstram a importância e necessidade do desenvolvimento de novos estudos para que seja possível elucidar com clareza as diferenças na dinâmica dos agrotóxicos em ambientes tropicais, assim como quais fatores são mais relevantes nas diferenças entre ambientes temperados e tropicais em relação à persistência e

mobilidade dos agrotóxicos nos ecossistemas aquáticos. Além disso, deve-se buscar ainda compreender quais são as diferenças entre os riscos associados à utilização das diferentes formulações comerciais em comparação aos seus respectivos ingredientes ativos, já que está bem consolidada na literatura científica as diferenças em relação a persistência e biodisponibilidade. Ou seja, muito ainda deve ser discutido a respeito da persistência ambiental de agrotóxicos para que o processo de regulamentação seja mais eficiente e realmente forneça critérios mais seguros para a utilização das formulações nos diferentes tipos de sistemas, sejam tropicais ou temperados.

8.2 Os estudos ecotoxicológicos laboratoriais com Mythos®

A comparação das informações encontradas na literatura com as obtidas no presente estudo com espécies fitoplanctônicas demonstram a alta variabilidade nas concentrações de efeito para essas espécies. Foram encontrados quatro estudos na literatura sobre os efeitos do pyrimethanil em espécies fitoplanctônicas. Dentre estes estudos está a base de dados da US-EPA, que apresenta uma CE_{50} de $1,8 \text{ mg.L}^{-1}$ para a espécie *Pseudokirchneriella subcapitata*, indicando como referência o estudo de Scherer et al. (2013). Todavia, o estudo de Scherer et al. (2013) foi realizado com a espécie zooplanctônica *Daphnia pulex*, não havendo menção aos valores de inibição para a espécie *P. subcapitata*. Caso esta informação esteja realmente correta, os valores obtidos estão bem acima do apresentado pela US-EPA, para o mesmo parâmetro avaliado (CE_{50}).

Os outros estudos encontrados na literatura são os de Verdisson, Couderchet e Vernet (2001), Dosnon-Olette et al. (2010) e Seeland, Oehlmann e Müller (2012). Os resultados da CE_{10} obtidos por Verdisson, Couderchet e Vernet (2001) para a espécie *Scenedesmus acutus* foram bem próximos ao valor obtido no presente estudo ($2,07 \text{ mg.L}^{-1}$) para o mesmo *endpoint* (CE_{10}). Entretanto, conforme há o aumento da inibição do crescimento verifica-se que há o aumento da diferença dos valores da CE_{50} entre os estudos. Os autores obtiveram a concentração de $22,81 \text{ mg.L}^{-1}$ para a inibição de 50% do crescimento, o que representa o dobro da obtida no presente ($9,66 \text{ mg.L}^{-1}$). Para a inibição de 90% a concentração foi de $46,84 \text{ mg.L}^{-1}$, ou seja, 15 mg.L^{-1} a mais que do valor obtido no presente estudo para o mesmo efeito ($31,63 \text{ mg.L}^{-1}$). Em relação às pesquisas desenvolvidas por Seeland, Oehlmann e Müller (2012), os resultados foram mais próximos (CE_{50} foi de $13,7 \text{ mg.L}^{-1}$ para a espécie *Desmodemus subspicatus*). O estudo de Dosnon-Olette et al. (2010) teve um enfoque mais

direcionado para a fitoremoção dos agrotóxicos dimetomorfe e pyrimethanil, não apresentando valores de CE_{50} , já que o objetivo do trabalho foi mensurar a remoção dos agrotóxicos.

A comparação com os estudos de Verdisson, Couderchet e Vernet (2001) e Seeland, Oehlmann e Müller (2012) deve considerar três aspectos importantes: a diferença na sensibilidade entre as espécies fitoplanctônicas, a diferença na duração dos testes e o composto que foi avaliado, seja ele o princípio ativo ou as diferentes formulações comerciais que estão disponíveis no mercado.

Em relação ao primeiro aspecto deve-se destacar que já está bem estabelecida na literatura a diferença na sensibilidade entre as espécies fitoplanctônicas. Blanck, Wallin e Wängberg (1984), por exemplo, apontam diferenças de até três ordens de grandezas entre as espécies dependendo do tipo de composto testado. Rojíčková-Padrťová e Maršálek (1999), relataram uma diferença de até 56.000 vezes para a EC_{50} entre diferentes espécies fitoplanctônicas para o herbicida Goal, afirmando ainda que as variações na sensibilidade estão relacionadas às diferenças na morfologia, citologia, fisiologia e genética das espécies, enfatizando aspectos como a proporção superfície e volume e também as diferenças nas atividades metabólicas entre as diferentes espécies.

Apesar dos autores anteriormente mencionados apontarem claras evidências sobre a diferença entre a sensibilidade das espécies fitoplanctônicas, os resultados apresentados por Dosnon-Olette et al. (2010), especificamente com o pyrimethanil, são mais relevantes para o presente estudo. Os autores obtiveram diferenças significativas na inibição do crescimento das espécies *S. obliquus* e *S. quadricauda* expostas ao composto, confirmando a hipótese da diferença na sensibilidade das diferentes espécies, mesmo pertencentes ao mesmo gênero.

O segundo aspecto está relacionado ao tempo de exposição. Os testes de toxicidade de Verdisson, Couderchet e Vernet (2001) tiveram duração de 48 horas; os de Seeland, Oehlmann e Müller (2012) 72h, enquanto que no presente estudo a exposição foi de 96 horas.

O terceiro aspecto a ser observado é a possível diferença de toxicidade entre as diferentes formas em que o contaminante foi avaliado, já que no estudo de Verdisson, Couderchet e Vernet (2001) foi utilizado a formulação comercial (Scala®), enquanto que Seeland, Oehlmann e Müller (2012) utilizaram o princípio ativo (Pestanal®, 99,9% de pureza). Dessa forma, a comparação com os resultados apresentados por Verdisson, Couderchet e Vernet (2001) sugerem possíveis diferenças na sensibilidade das espécies em

exposições à diferentes formulações comerciais que apresentam o mesmo princípio ativo em sua constituição (Scala® e Mythos®).

Os três pontos destacados reforçam o argumento da necessidade de avaliações mais complexas em relação aos riscos associados ao uso de agrotóxicos, de forma a avaliar não apenas os princípios ativos, mas as diferentes formulações comerciais e o maior número de espécies possíveis, visando garantir a proteção da diversidade fitoplanctônica.

Em relação às espécies zooplancônicas, os valores obtidos para os testes de toxicidade aguda para as espécies *Ceriodaphnia silvestrii* e *Daphnia similis* foram semelhantes (3,26 e 3,65 mg.L⁻¹, respectivamente), e também estiveram próximo ao valor obtido por Seeland, Oehlmann e Müller (2012) para *Daphnia magna* (CE_{50,48h} de 2,9 mg.L⁻¹). Apesar da proximidade entre os valores obtidos nos testes de toxicidade aguda, os resultados obtidos nos testes de toxicidade crônica para *C. silvestrii* (CE₅₀ de 0,67mg.L⁻¹) estiveram bem abaixo do valor obtido por Seeland, Oehlmann e Müller (2012) para a espécie *D. magna* (CE₅₀ de 1,18 mg.L⁻¹), que foi quase duas vezes o valor obtido no presente estudo.

Tal fato indica o maior potencial tóxico da formulação comercial Mythos® na exposição crônica quando comparado com o princípio ativo. Essa diferença pode ser decorrente da maior persistência da formulação comercial como também da possibilidade de serem mais facilmente assimilados pelos organismos devido à presença de substâncias inertes, como surfactantes, que podem aumentar o potencial de absorção do composto (BEGEEL et al., 2010; COX; SURGAN, 2006). Estas diferenças serão discutidas mais detalhadamente ao final deste tópico.

Outro estudo encontrado na literatura sobre o efeito crônico do pyrimethanil em espécies zooplancônicas é o de Scherer et al. (2002), conduzido dentro de um modelo de testes multifatorial, avaliando o efeito do pyrimethanil sobre a espécie *Daphnia pulex* na presença ou ausência de predador e em diferentes temperaturas. Apesar de também avaliar o efeito do pyrimethanil, pouco pode ser comparado aos resultados obtidos nesta pesquisa, já que o objetivo dos autores não foi avaliar as concentrações de efeito, mas sim os efeitos cumulativos dos diferentes estressores (contaminante, predador e temperatura). Apesar de não comparável, os autores demonstraram que mesmo em uma concentração (0,5 mg.L⁻¹) que não apresentou efeitos crônicos em um cenário de contaminação direta (contaminação da água) para a espécie *D. pulex*, foi possível verificar efeitos em diferentes *endpoints* (número de neonatos, tamanho das fêmeas e tempo para atingir a primeira ninhada) quando a contaminação ocorreu associada a outro elemento estressor, como a presença de predador,

alimento contaminado ou diferentes temperaturas. Este estudo aponta a importância de uma avaliação de cenários ecologicamente mais relevantes e com múltiplos estressores, já que este é o cenário real que ocorre em eventos de contaminação dos ecossistemas aquáticos.

O último organismo-teste avaliado na presente pesquisa foi a espécie de peixe *Danio rerio*, considerando a sobrevivência (CL) e a imobilidade (CE). Em relação à comparação dos dois *endpoints*, considera-se que a imobilidade é muito mais sensível e altamente relevante para a avaliação de riscos ecológicos (BEGEEL et al., 2010; RUBACH; CRUM; VAN DEN BRINK, 2011), já que evidencia o comprometimento da saúde do organismo, afetando o comportamento e influenciando indiretamente o ecossistema local. Desse modo, a avaliação do desempenho natatório é um importante parâmetro ecológico, pois embora o organismo possa se recuperar, quando imóvel está em situação de grande risco em condições naturais (RUBACH; CRUM; VAN DEN BRINK, 2011), o que está associado ao aumento da vulnerabilidade à predação, à diminuição da capacidade de forrageamento e ao decréscimo da taxa de crescimento dos organismos (FLOYD; GEIST; WERNER, 2008).

Os resultados para os dois testes (estático com duração de 48 horas e semi-estático com duração de 96 horas), considerando os *endpoints* selecionados, confirmaram a hipótese de maior sensibilidade para a avaliação da imobilidade. Na $CL_{50;96h}$ o valor obtido foi de 27,46 mg.L⁻¹, enquanto que na avaliação da $CE_{50;96h}$ foi de 10,45 mg.L⁻¹. Em relação ao teste de toxicidade com duração de 48 horas os valores foram de 13,77 mg.L⁻¹ e 32,17 mg.L⁻¹, para CE e CL, respectivamente. Pode-se observar que o valor obtido para a CL_{50} foi superior ao valor obtido para a CE_{50} em ambos os casos.

Uma informação adicional que deve ser destacada é que, ao longo do período avaliado, não foi observada a recuperação dos indivíduos que apresentavam imobilidade. Desse modo, os organismos permaneceram no estado de habilidade natatória e orientação alteradas ou comprometidas durante todo o período sem que esta condição tenha sido revertida. Tal fato demonstra que de acordo com a avaliação ecotoxicológica proposta pela Norma ABNT (2011), que avalia exclusivamente a mortalidade, esses organismos não poderiam ser contabilizados como mortos, entretanto, na natureza tais indivíduos estariam totalmente vulneráveis a predadores ou agentes físicos, como serem carregados pela corrente ou serem levados para regiões mais profundas ou próxima ao sedimento, onde a concentração de oxigênio dissolvido é mais baixa, o que conseqüentemente influenciaria na sobrevivência desses indivíduos.

A análise da Figura 39 (apresentada nos resultados), referente à distribuição da sensibilidade dos *endpoints* avaliados nesse estudo, aponta para os altos riscos de uma avaliação considerando apenas aspectos como a mortalidade de indivíduos. É possível observar que os valores obtidos para *endpoints* reprodução (*C. silvestrii*) e imobilidade (*D. rerio*) foram menores que aqueles obtidos para mortalidade para os respectivos organismos. Desse modo, a elaboração da avaliação de risco com base em valores de mortalidade como referência para estabelecer uma faixa de segurança mostra-se inconsistente com relação à determinação de padrões que possibilitariam a proteção da diversidade aquática.

Além disso, é importante mencionar que a maioria das pesquisas referentes aos processos de regulamentação dos agrotóxicos é determinada com base nos princípios ativos constituintes em sua forma pura. Entretanto, a presença de outras substâncias nas formulações comerciais promove alterações na toxicidade e persistência desses produtos em relação ao princípio ativo isoladamente (BEGEEL et al., 2010).

No estudo realizado por Lipok, Studnik e Gruyaert (2010), para comparar a toxicidade da fórmula comercial Roundup® 360 SL em relação aos seus constituintes, o Glifosato e a Isopropilamina, verificou-se que substâncias presentes na formulação comercial, como as aminas alifáticas de polioxietileno (um surfactante utilizado para aumentar o transporte do herbicida no tecido vegetal), podem promover o aumento da toxicidade para o fitoplâncton, quando é comparada a formulação comercial com as misturas de ingredientes ativos que compõem o produto. Outro importante exemplo também relacionado ao glifosato é a pesquisa desenvolvida por Everett e Dickerson, (2003), na qual se verificou que as formulações com glifosato foram pelo menos 100 vezes mais tóxicas para os protozoários ciliados *Tetrahymena thermophila* e *Ichthyophthirius multifiliis* quando comparado com o princípio ativo.

Beggel et al. (2010), em um estudo com as fórmulas Talstar® e Termidor® e seus respectivos princípios ativos, a bifentrina (piretróide) e o fipronil (fenil-pirazol), dois inseticidas, apresentaram valores 5 vezes mais tóxicos para o Talstar® e 2 vezes mais tóxicos para o Termidor® quando comparados aos seus princípios ativos puros em testes com a larva de peixes da espécie *Pimephales promelas*. Pereira, Cerejeira e Espírito-Santo (2000), também realizaram um estudo comparando cinco princípios ativos (molinato, propanil, MCPA, chlorfenvinphos, endosulfan) e formulações comerciais com esses princípios ativos como base, demonstrando que há grande diferença de toxicidade entre as mesmas, registrando-se maior toxicidade para as formulações comerciais, como observado com as

espécies *Thamnocephalus platyurus* e *Daphnia magna*, e menor toxicidade para a espécie de alga *Pseudokirchneriella subcapitata*. No entanto, para a espécie *Artemia salina* não se verificou diferença significativa entre os resultados obtidos com o ingrediente ativo e as formulações comerciais.

Essas diferenças de toxicidade estão relacionadas à presença de substâncias que são denominadas ingredientes inertes, que podem aumentar o potencial tóxico de formulações comerciais, incluindo o desenvolvimento de neurotoxicidade, genotoxicidade e disfunção hormonal, decorrente de alterações como a absorção do composto pelos diferentes organismos, seja ele alvo ou não-alvo, na mobilidade e persistência ambiental. Solomon et al. (2003), afirmam que o princípio ativo muitas vezes contribui apenas com parte da toxicidade total das formulações comerciais, assim, essas formulações são, na maioria dos casos, mais tóxicas que os ingredientes ativos isolados, principalmente para os organismos aquáticos que também apresentam sensibilidade aos surfactantes presentes nas formulações comerciais.

Em muitos casos ainda é possível afirmar que a toxicidade pode ser decorrente exclusivamente das substâncias inertes presentes nas formulações, sendo muito mais tóxicas que os princípios ativos (MITCHELL; CHAPMAN; LONG, 1987). Nesse caso, espécies que não apresentam sensibilidade aos princípios ativos são muito sensíveis aos outros compostos presentes nas formulações comerciais. Além disso, ainda é necessário considerar as interações entre as diferentes substâncias presentes nas formulações, já que essas misturas podem implicar em distintas interações, tornando a toxicidade muito superior aos efeitos somados do princípio ativo e das substâncias presentes nas formulações (SERVIZI; GORDON; MARTENS, 1987).

Servizi, Gordon e Martens (1987), por exemplo, analisando os efeitos isolados e em mistura do princípio ativo glifosato e do surfactante Mono 818, que combinados formam a formulação comercial Roundup[®], verificaram reações de antagonismo (diminuição da toxicidade) e de sinergismo (mais que a simples soma dos dois efeitos), dependendo das espécies avaliadas. Além disso, os autores observaram que tais interações estão relacionadas não apenas à sensibilidade das espécies, mas também a características ambientais, como o pH.

Desse modo, nem sempre é claro se os efeitos são atribuíveis aos princípios ativos, aos ingredientes inertes, às interações entre ingredientes ativos e inertes, ou até mesmo com interações com possíveis compostos que estão presentes no ambiente ou às características

ambientais. Isso ocorre porque esses ingredientes raramente são identificados nas bulas dos produtos, impossibilitando o desenvolvimento de estudos para avaliação dos efeitos dos compostos separadamente (COX; SURGAN, 2006).

8.3 O estudo em mesocosmo

O desenho experimental foi adequado para a avaliação dos efeitos diretos e indiretos do fungicida pyrimethanil. Esta afirmação baseia-se no fato dos dois grupos (não contaminado e contaminado) não apresentarem diferenças significativas em relação aos parâmetros limnológicos e ecológicos analisados no período pré-contaminação, demonstrando que apesar das diferenças entre as réplicas elas não são significativamente diferentes entre si. Desse modo, as diferenças entre os parâmetros analisados no período pós-contaminação seriam decorrentes dos efeitos da contaminação e dos processos sucessionais relacionados à dinâmica ecológica dos sistemas.

Apesar das análises não apontarem para diferenças significativas entre os dois tratamentos, é possível verificar que os valores médios da turbidez, nitrogênio total, nitrito, nitrato, fósforo total e fosfato inorgânico para os mesocosmos P2 e C2 foram superiores em comparação com as outras réplicas. Esse resultado foi identificado pela ACP, na qual os mesocosmos P2 (contaminado) e C2 (não contaminado) encontram-se mais relacionados ao Componente 2 e, conseqüentemente, com as variáveis turbidez, as formas nitrogenadas e fosfatadas.

A diferença em relação à maior concentração de nutrientes teve como consequência uma maior densidade para as comunidades zooplanctônica e fitoplanctônica, que pode estar relacionado ao fato de que o fósforo e o nitrogênio são importantes fatores limitantes à produtividade dos corpos d'água, principalmente no que se refere à ambientes lânticos, modulando sobre a abundância das espécies fitoplanctônicas e, conseqüentemente, aumentando a disponibilidade de recursos para a comunidade zooplanctônica, promovendo um efeito *bottom-up* (STERNER, 2008; TILMAN; KILHAM; KILHAM, 1982).

As variações observadas entre as réplicas não invalidam o *design* experimental adotado já que inicialmente era pressuposta a possibilidade de divergência entre os sistemas, uma vez que os inúmeros trabalhos em escala de mesocosmos apresentam altos coeficientes de variação entre as réplicas. Petersen et al. (1999), por exemplo, apontam que cerca de 37% dos estudos desenvolvidos em escala de mesocosmos apresentam problemas em relação à

definição de réplicas. Essas divergências entre as réplicas não invalidam os estudos em mesocosmos, já que não implicam na não ocorrência dos efeitos dos contaminantes sobre a biota, apesar de dificultar as suas interpretações.

As diferenças entre as réplicas em experimentos em mesocosmos é um fato constantemente relatado na literatura científica (BROCK et al., 2015; CAQUET et al., 2001; PETERSEN et al., 1999; KRAUFVELIN, 1998). Um modo de avaliar as diferenças entre as réplicas é por meio da análise dos coeficientes de variação de Pearson. Esse coeficiente quantifica as diferenças entre as réplicas em relação às variáveis monitoradas e quanto maior o valor, maior a diferença mínima entre os tratamentos necessária para a detecção de um efeito estatisticamente significativo (BROCK et al., 2015; KRAUFVELIN, 1998).

De acordo com os estudos encontrados na literatura, os parâmetros que apresentam menores variações são as variáveis físicas e químicas, como temperatura, oxigênio dissolvido, pH e sólidos dissolvidos, enquanto que nutrientes e a composição das comunidades apresentam um maior coeficiente de variação (CAQUET et al., 2001; KRAUFVELIN, 1998). Esse mesmo padrão foi observado no presente estudo, já que os parâmetros que apresentaram menores coeficientes de variação foram as variáveis físico-químicas temperatura, oxigênio dissolvido, pH e condutividade (coeficiente de variação <20%), enquanto que as variáveis que apresentaram maior coeficiente de variação foram a densidade do fitoplâncton e zooplâncton, as formas nitrogenadas (nitrato e íon amônio) e turbidez (coeficiente de variação >60%).

Segundo Kraufvelin (1998), Giddings e Eddlemon (1979) e Isensee (1976) coeficientes de variação de até 30% podem ser considerados como aceitáveis, entretanto, os autores evidenciam que esses valores estariam, em sua maioria, relacionados a parâmetros como pH, oxigênio dissolvido, temperatura e condutividade, enquanto que formas nitrogenadas e fosfatadas e, principalmente, parâmetros biológicos, frequentemente apresentam coeficientes de variação elevados. Isensee (1976) também observou variações de 0 a 75% para experimentos com duração de 30 dias, enquanto Giddings e Eddlemon (1979) obtiveram coeficientes de variação de 6,18% a 62,94% para os nutrientes analisados em experimento em mesocosmos com 80 dias de duração, e Kraufvelin (1998) obteve coeficientes entre 15,4% e 115,8% para um experimento com duração de menos de 5 meses.

A partir dessas informações pode-se inferir que o presente estudo apresentou coeficientes de variação de acordo com os relatados na literatura, já que a média dos coeficientes de variação para os nutrientes analisados estiveram entre 16,88% (fosfato total

dissolvido) e 69,21% (nitrato), de acordo com os valores obtidos por Giddings e Eddlemon (1979) e entre 18,29% (número de espécies de zooplâncton) e 107,01% (densidade fitoplanctônica), abaixo das variações obtidas por Kraufvelin (1998). Nesse contexto, ainda é importante ressaltar que período de duração nesta pesquisa foi muito superior aos dos demais autores, o que implica em maiores coeficientes de variação devido à influência da escala temporal, demonstrando que o *design* experimental e os coeficientes de variação observados estiveram de acordo com a literatura.

Além disso, Sanderson (2002), em uma extensa revisão sobre os coeficientes de variação em estudos de microcosmo (em laboratório) e mesocosmos (em ambientes abertos), constatou que a média dos coeficientes de variação analisados foi de 45%. Quando o autor considerou apenas os estudos em mesocosmos esse coeficiente foi de 51%. No presente estudo a média dos coeficientes de variação avaliados foi de 43,01%, bem abaixo do que o autor obteve para os experimentos com *design* experimental semelhante.

A dificuldade na replicabilidade e, conseqüentemente, a obtenção de altos coeficientes de variação, está relacionada ao fato de que os experimentos em mesocosmos obedecem às escalas temporal e espacial. Desse modo, quanto maior o sistema maior a semelhança com as condições naturais e quanto maior a escala temporal maiores serão as variabilidades encontradas entre as réplicas e entre as características experimentais e naturais (CAIRNS, 1995; KEMP et al., 2001). Em relação à esta afirmação, pode-se destacar que o presente estudo estaria suscetível as dificuldades relacionadas às duas escalas já que o modelo adotado apresenta um maior volume (1500 litros) e um longo período de monitoramento (380 dias), o que conseqüentemente favoreceu os altos valores obtidos nos coeficientes de variações.

É difícil elucidar com clareza quais são os fatores que restringem a replicabilidade e promovem as divergências entre as unidades experimentais em estudos de mesocosmos, pois mesmo em condições físico-químicas praticamente idênticas as comunidades aquáticas estariam suscetíveis a divergências (KRAUFVELIN, 1998; HURLBERT, 1984). Além disso, os mesocosmos estão sujeitos a diversos agentes externos e pequenas diferenças iniciais nas características bióticas e abióticas, as quais poderiam agir de forma a promover sucessões ecológicas distintas na escala temporal, promovendo drásticas mudanças nos diferentes sistemas (KRAUFVELIN, 1998).

Essa série de fenômenos que influencia a variabilidade entre os diferentes mesocosmos também são aplicados aos ambientes naturais. Dessa forma, mesmo ambientes

muito próximos e com características visuais semelhantes apresentam grandes diferenças em relação às características bióticas e abióticas, principalmente no que se refere à composição das comunidades presentes. Desse modo, limitar a validade dos estudos em mesocosmos apenas para situações em que é observada alta replicabilidade e baixos coeficientes de variação seria desconsiderar as possíveis diferenças e divergências dos ecossistemas e, conseqüentemente, subestimar um fenômeno chave dos ambientes naturais.

8.3.1 Os efeitos sobre as comunidades fitoplanctônica e zooplanctônica

Os estudos ecotoxicológicos com comunidades têm crescido em importância nos últimos anos, proporcionando uma avaliação mais realística em relação aos riscos dos contaminantes nos ecossistemas aquáticos. Apesar disso, ainda são escassas as pesquisas que envolvem uma avaliação por um período de tempo mais prolongado. Neste sentido, procurou-se avaliar os efeitos do fungicida pyrimethanil sobre a dinâmica das comunidades planctônicas (fitoplâncton e zooplâncton) por um período de 15 dias antes e de 366 dias após a adição do contaminante, utilizando uma concentração abaixo da faixa de sensibilidade estabelecida para as espécies *Pseudokirchneriella subcapitata*, *Ceriodaphnia silvestrii*, *Daphnia smilis* e *Danio rerio*, e próxima ao valor da sensibilidade crônica para *Ceriodaphnia silvestrii*, que foi a espécie que apresentou maior sensibilidade para o fungicida pyrimethanil.

A análise da dinâmica das comunidades pode ser realizada a partir da utilização de métodos multivariados, os quais permitem deduzir quais os principais fatores que estão influenciando a dinâmica da comunidade, revelando padrões nas matrizes de dados das espécies e das amostragens (WIJNGAARDEN et al., 1995). A vantagem nesse tipo de método de análise está relacionada ao fato que ele resume as informações em todas as populações analisadas, permitindo assim avaliar os efeitos em nível de comunidade (VAN DE BRINK; TER BRAAK, 1999). Entretanto, os resultados são apresentados em formas mais subjetivas, através de diagramas de ordenação, o que dificulta a interpretação.

As técnicas de ordenação permitem avaliar quais as variáveis ambientais estão afetando a composição de espécies, plotando os resultados de forma que as amostras com composição de espécies semelhantes estejam mais próximas e as diferentes mais distantes entre si (WIJNGAARDEN et al., 1995). Uma importante técnica de ordenação utilizada atualmente nos estudos ecotoxicológicos em nível de comunidade é a Principal Response Curves (PRC), que representa um desdobramento da análise de redundância (RDA). Embora

a RDA resulte em um gráfico que mostra as mudanças da composição das espécies ao longo do tempo, suas trajetórias irregulares dificultam a interpretação das diferenças entre os tratamentos e o controle assim como a relação desses com o tempo. Nesse sentido, o método da PRC minimiza essa dificuldade ao representar o tempo e o controle em uma linha horizontal, facilitando a comparação com os outros tratamentos. Adicionalmente, é estabelecido um diagrama de espécies no qual se pondera quais as espécies apresentam maior peso na análise, assim, é possível avaliar a resposta das espécies, tanto em relação aos impactos negativos quanto aos positivos em relação à presença do elemento estressor (VAN DEN BRINK; TER BRAAK, 1999).

Em relação aos efeitos diretos da contaminação, pela análise da PRC para a comunidade fitoplanctônica, tanto em nível de espécie quanto de gênero, verifica-se que esta não foi sensível à presença do pyrimethanil na água, registrando-se um efeito mais positivo, relacionado ao aumento da densidade populacional. Apesar do efeito positivo sobre o fitoplâncton, é possível observar um período inicial de instabilidade para o tratamento contaminado quando comparado com o tratamento sem contaminação, o qual possivelmente esteve associado à eliminação de algumas espécies de algas mais sensíveis e ao aumento da densidade das espécies mais resistentes ou daquelas que sofreram redução da pressão da predação pelo zooplâncton. Após esse período de instabilidade, verifica-se um aumento na densidade populacional, superiores aos sistemas não contaminados.

Este efeito positivo sobre a comunidade fitoplanctônica também pode ser confirmado pela análise do diagrama de espécies (Figura 26, no item Resultados), onde observa-se que há um maior número de espécies que apresentam respostas positivas (53 espécies apresentaram respostas positivas enquanto que 34 espécies apresentaram respostas negativas) em resposta à adição do pyrimethanil. A comparação dos resultados obtidos nos diagramas de gêneros (Figura 27, no item Resultados) também aponta para o mesmo comportamento já que em sua maioria os gêneros apresentaram respostas positivas à contaminação (32 gêneros apresentaram respostas positivas enquanto que 24 apresentaram efeitos negativos). Esta análise permite identificar quais espécies ou gêneros se foram favorecidas após a contaminação (espécies: *Staurastrum sp.*, *Monoraphidium contortum*, *Ankistrodesmus sp.* e *Coelastrum proboscideum*; e os gêneros: *Staurastrum*, *Coelastrum*, *Monoraphidium* e *Ankistrodesmus*) ou aquelas que foram negativamente impactadas, tendo suas densidades diminuídas (espécies: *Staurastrum*, *Coelastrum*, *Monoraphidium* e *Ankistrodesmus*; gêneros: *Trachelomonas*, *Coenochloris* e *Tetrastrum*).

Apesar da semelhança entre as curvas obtidas na PRC, não se recomenda que a identificação seja realizada apenas em nível de gênero. A diferença na sensibilidade de espécies para um composto (ROJÍČKOVÁ-PADRTOVÁ; MARŠÁLEK, 1999); BLANCK; WALLIN; WÄNGBERG, 1984), mesmo para espécies pertencentes ao mesmo gênero (DOSNON-OLETTE et al., 2010), confirmam a importância de se realizar a identificação para o nível taxonômico mais específico possível, visando garantir a proteção das espécies fitoplanctônicas.

A resposta predominantemente positiva da comunidade fitoplanctônica obtida está de acordo com o valor da sensibilidade obtido nos testes de toxicidade realizados com a alga *P. subcapitata* ($CE_{50;96}$: 9,65 mg.L⁻¹) e os valores encontrados na literatura para a espécie *Desmodemus subspicatus* (13,70 mg.L⁻¹) (SEELAND; OEHLMAN; MÜLLER, 2012) e *Scenedesmus acutus* (22,81 mg.L⁻¹) (VERDISSON, COUDERCHET; VERNET, 2001), já que estas concentrações foram de 7 a 17 vezes maiores do que a média da concentração utilizada para a contaminação dos mesocosmos.

Apesar do efeito positivo sobre a densidade fitoplanctônica, foi possível observar o desaparecimento de alguns táxons após a contaminação e a diminuição significativa do índice de Margalef e Shannon-Weaver. Estes resultados demonstram a redução da diversidade fitoplanctônica e também a alteração da equabilidade da comunidade, já que o índice de Shannon-Weaver considera também as proporções de cada espécie. A PRC permite identificar quais espécies estão mais suscetíveis à exclusão ou diminuição da densidade de forma que estas espécies que apresentam maior peso negativo na análise (valores negativos para o diagrama de espécie), conseqüentemente diminuindo a pressão da competição, possibilitando o aumento da abundância das espécies oportunistas ou resistentes ao pyrimethanil, que correspondem às espécies que apresentam os valores mais positivos para o mesmo diagrama.

Os resultados obtidos sugerem que, em geral, a comunidade fitoplanctônica não sofre efeito direto da contaminação pelo fungicida pyrimethanil, sendo o aumento da densidade fitoplanctônica um efeito indireto derivado dos impactos negativos sobre a comunidade zooplanctônica e, conseqüentemente, da diminuição da predação e pastagem. Outros estudos com fungicidas também apresentaram esse mesmo padrão. Van den Brink et al (2000), por exemplo, não observaram efeitos negativos sobre a comunidade fitoplanctônica após a exposição ao carbedazim, verificando um efeito direto sobre a comunidade zooplanctônica e indireto sobre a comunidade fitoplanctônica. Lin e colaboradores (2012), no estudo sobre

os efeitos do fungicida metiram sobre as comunidades aquáticas, observaram os efeitos negativos sobre a comunidade zooplanctônica enquanto que em relação à comunidade fitoplanctônica somente um dos 109 táxons encontrados apresentou resposta negativa mediante a exposição ao fungicida. Zafar et al. (2012), também obtiveram resultados semelhantes, uma vez que as espécies fitoplanctônicas não foram diretamente afetadas pela presença do fungicida azoxystrobin. Desse modo, pode-se considerar que a comunidade fitoplanctônica apresenta menor sensibilidade que a comunidade de invertebrados, em especial a comunidade zooplanctônica.

Em relação à comunidade zooplanctônica é possível observar uma maior predominância do efeito negativo sobre a densidade populacional após a contaminação (Figuras 29 e 30, no item Resultados). Pela análise das curvas obtidas na PRC verifica-se um distanciamento dos resultados obtidos nos mesocosmos contaminados em relação ao tratamento sem contaminação até o 21º dia e uma tendência de recuperação da comunidade a partir desse momento. Esse efeito é consequência da redução significativa no número de espécies e da densidade zooplanctônica para o período subsequente à contaminação, associados à presença mais pronunciada do contaminante nos primeiros dias do monitoramento pós-contaminação, já que foi possível observar que a degradação do composto, a uma concentração de 50% do valor inicial, ocorreu somente a partir do 13º dia, confirmando os efeitos mais drásticos observados nos períodos iniciais.

Apesar da taxa de degradação do composto e quantificação apenas até o 88º dia do monitoramento, pôde-se observar que a estabilização da comunidade zooplanctônica ocorreu somente após o 257º dia. Entretanto, antes de atingir a estabilidade é possível observar um período de alta instabilidade desta comunidade. Esta instabilidade da comunidade zooplanctônica no período pós-contaminação pode ser decorrente da dificuldade na recuperação das espécies mais sensíveis, uma vez que espécies tolerantes podem dificultar ou até mesmo impedir o reestabelecimento de outras espécies que competem pelo mesmo nicho (FROST et al., 2006). Além disso, esta instabilidade pode ser consequência do distúrbio promovido nas relações de competição entre as espécies redundantes da comunidade (que apresentam as mesmas características funcionais e ocupam o mesmo nicho), decorrente da diminuição da competição e, conseqüentemente, do favorecimento das espécies redundantes com menor sensibilidade ao contaminante (JOHNSON, 2000). Desse modo, deve-se reconhecer que os efeitos sobre o zooplâncton ultrapassam o período em que

foi possível à quantificação do pyrimethanil na água, o que sugere a magnitude do distúrbio promovido nas comunidades mediante à exposição ao pyrimethanil.

Os resultados obtidos pela análise da PRC em nível de família também apresentaram o mesmo padrão, apesar disso, essa análise foi realizada apenas com intuito de complementar a análise em nível de espécie, de modo que não se sugere a simplificação na identificação taxonômica. Conforme já mencionado, análises em níveis de espécie permitem um melhor reconhecimento das particularidades de cada uma, como as características metabólicas, o nicho ecológico, os grupos funcionais, entre outros.

Os efeitos observados sobre a comunidade zooplanctônica estão de acordo com o esperado, uma vez que a concentração de pyrimethanil utilizada para a contaminação dos mesocosmos (1,40; 1,29 e 1,37 mg.L⁻¹) correspondem a valores entre a faixa de sensibilidade crônica e aguda para algumas espécies presentes. Isto pode ser confirmado pelos resultados dos testes de toxicidade crônica laboratorial para o Mythos® com a espécie *Ceriodaphnia silvestrii*, nos quais se registrou uma CE₅₀ crônica de 0,675 mg.L⁻¹ e CE₅₀ aguda de 3,26 mg.L⁻¹, assim como os resultados obtidos por Seeland, Oehlmann e Müller (2012) para a espécie *D. magna* (toxicidade aguda: CE_{50,48h} de 2,9 mg.L⁻¹; toxicidade crônica: CE₅₀ de 1,18 mg.L⁻¹).

Desse modo, o decréscimo da comunidade zooplanctônica pode ser consequência da mortalidade, da diminuição da taxa reprodutiva e dos processos sucessionais decorrentes, além das alterações na composição do fitoplâncton, com o aparecimento de espécies menos preferenciais para o zooplâncton. Apesar da concentração de pyrimethanil utilizada para a contaminação dos mesocosmos estar abaixo das concentrações que promovem efeitos agudos sobre as espécies de cladóceros *C. silvestrii* e *D. similis*, obtidos por esta pesquisa, e do valor encontrado por Seeland, Oehlmann e Müller (2012) para *Daphnia magna*, outras espécies podem apresentar sensibilidade aguda para as concentrações utilizadas na contaminação dos mesocosmos, principalmente aquelas que apresentaram maior peso no diagrama de espécies (Figura 29 e 30).

Além disso, deve-se considerar que muitas espécies, mesmo sendo mais resistentes ao efeito isolado do contaminante, podem ter a sensibilidade aumentada devido à exposição a múltiplos estressores, o que inclui a presença de predadores, as relações de competição e fatores ambientais como temperatura, pH, entre outros. Esses efeitos foram observados por Scherer e colaboradores (2013), quando os autores verificaram o aumento da sensibilidade de *D. pulex* ao pyrimethanil em concentrações em que previamente não foram observados

efeitos em exposições apenas ao pyrimethanil (sem a presença de outros estressores). Mendes (2011) obteve resultados semelhantes, ao expor a espécie *Danio rerio* à presença da abamectina (Vertimec®) em condições de campo (experimentos em mesocosmos), registrando-se efeitos sobre os organismos-teste na situação experimental mencionada, o que não ocorreu quando as mesmas amostras de água dos mesocosmos foram coletadas e testadas em laboratório com a mesma espécie.

A análise conjunta dos resultados da PRC para a comunidade fitoplanctônica e zooplanctônicas permite uma avaliação mais complexa dos efeitos diretos e indiretos da contaminação pelo fungicida Mythos®. De acordo com os resultados obtidos é possível inferir que a partir dos efeitos sobre a comunidade zooplanctônica, com a redução da densidade e do número de espécies, há uma diminuição da pressão de pastagem (*grazing*) sobre a comunidade fitoplanctônica, promovendo um aumento dessa comunidade nos mesocosmos que sofreram contaminação.

Resultados semelhantes foram obtidos por Van den Brink et al. (2000), onde a comunidade zooplanctônica foi afetada negativamente pela presença do fungicida carbendazim (Derosal®), promovendo a diminuição ou até mesmo a exclusão de diversas espécies zooplanctônicas, acarretando na diminuição da pressão de pastagem sobre a comunidade fitoplanctônica e, conseqüentemente, favorecendo o aumento da densidade fitoplanctônica e da concentração de clorofila *a*. Esse comportamento também pode ser observado em uma série de estudos com inseticidas, nos quais os efeitos diretos (negativos) sobre a comunidade zooplanctônica promoveram efeitos indiretos (positivos) sobre a comunidade fitoplanctônica, como os resultados apresentados por Barry e Logan (1998) com o Endosulfan; Boone e Semlitsch (2002, 2001) e Havens (1995, 1994) com o Carbaryl; Boyle e colaboradores (1996) com Diflubenzuron; Hurlbert et al. (1970, 1972), Papst e Boyer (1980), Brazner e Kline (1990) e Van Wijngaarden, Brock e Douglas (2005) com clorpirifós; Taub (1997) com o Malathion; Tidou et al. (1992) com o Deltamethrin; Jak et al. (1998) com Dichloroaniline, entre outros..

Foi possível observar que nos mesocosmos em que houve a contaminação ocorreu um aumento da densidade fitoplanctônica após um período inicial de instabilidade. Esse período de instabilidade pode ser resultado da resposta da comunidade à diminuição da pressão de herbivoria e a diminuição da densidade ou exclusão de algumas espécies fitoplanctônicas, afetando as relações de competição entre as espécies presentes. Após esse período há o aumento da densidade fitoplanctônica seguido de uma nova situação de

equilíbrio onde a comunidade apresenta valores superiores à comunidade que não sofreu impacto da contaminação. Este novo patamar se mantém mesmo após a recuperação da comunidade zooplanctônica e, constitui-se um novo estado de equilíbrio atingido pela comunidade fitoplanctônica nos sistemas impactados.

Rohr; Kerby e Sih (2006), em uma revisão sobre o estudo de comunidades e impactos de contaminantes em ecossistemas aquáticos, sugerem que o efeito da competição pode promover uma mudança em termos da composição da comunidade já que espécies que apresentam um nicho mais restrito estariam menos suscetíveis à competição do que espécies mais generalistas. Essa teoria pode ser aplicada para explicar o novo estado de equilíbrio observado no presente estudo. Desse modo, a comunidade fitoplanctônica teria sofrido modificações em sua composição em consequência da diminuição da pressão de predação, relacionada à diminuição da comunidade zooplanctônica, promovendo inicialmente um aumento da comunidade fitoplanctônica e uma posterior situação competição entre as espécies fitoplanctônicas, distinta da situação pré-contaminação e do mesocosmos que não foram contaminados, determinando uma nova situação de equilíbrio entre essas populações. Desse modo, o período de instabilidade observado após a contaminação poderia ser decorrente de adaptação da comunidade fitoplanctônica às mudanças nas relações tróficas, buscando uma nova situação de equilíbrio.

Já em relação ao zooplâncton, o equilíbrio atingido pela comunidade após o distúrbio e a instabilidade da comunidade estariam mais relacionados à sensibilidade ao contaminante, a taxa de recuperação de cada população, assim como as novas relações de competição, nas quais seriam favorecidas as espécies de hábito mais especialista, já que estas seriam menos suscetíveis à competição pelos recursos. Desta forma, a estrutura da comunidade que inicialmente foi regulada pela pressão dos predadores e suas preferências e/ou seletividade alimentar, passa a sofrer mais influência das relações de competição entre as espécies resistentes e oportunistas, as quais competem pelos mesmos recursos (ROSENZWEIG; MACARTHUR, 1963).

Nesta situação, a dinâmica do ecossistema aquático seria regulada por uma complexa relação entre o efeito de *bottom-up* e *top-down* (FLEEGER; CARMAN; NISBET, 2003), em que inicialmente uma modificação na regulação *top-down* pela diminuição dos predadores (pastadores) diminuiria a pressão sobre a comunidade, aumentando a sua densidade até um momento em que esta seria regulada por uma nova combinação decorrente da competição por recurso (*bottom-up*) e uma menor pressão de predação/pastagem (*top-*

down). Um modelo hipotético da dinâmica das comunidades após a contaminação por pyrimethanil nos mesocosmos é apresentado na Figura 40.

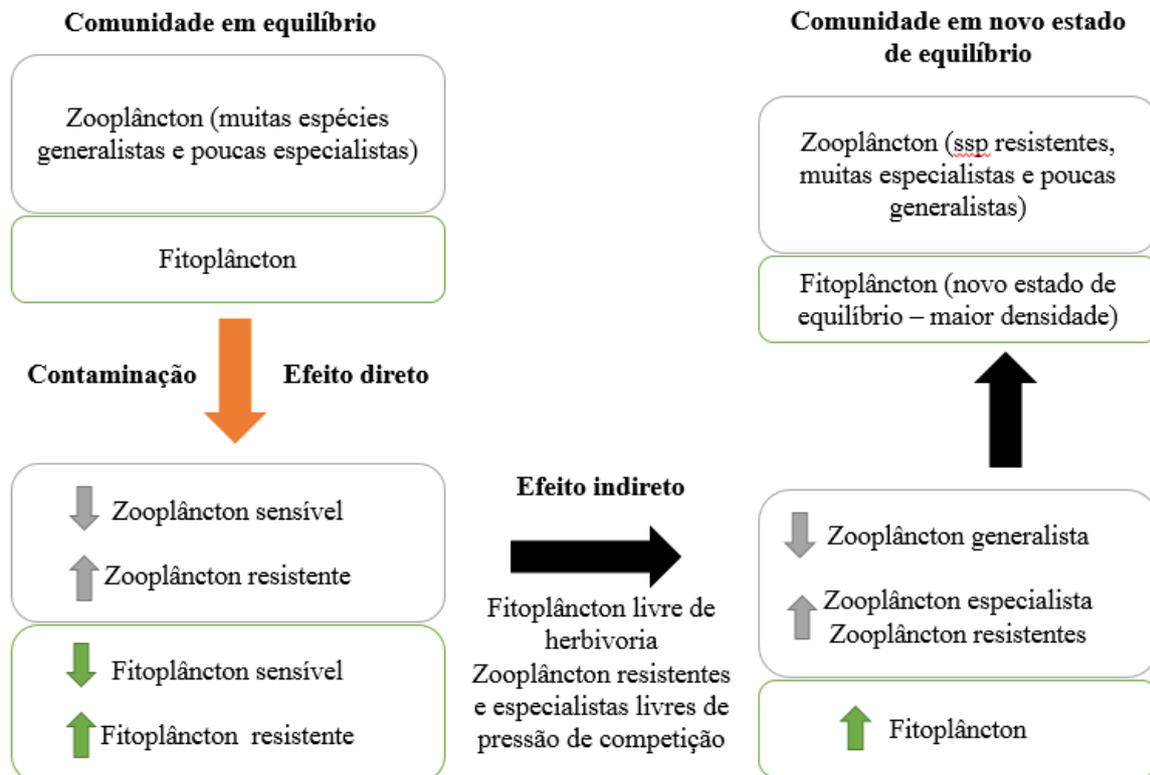


Figura 40: Modelo hipotético dos possíveis efeitos diretos e indiretos do pyrimethanil sobre a dinâmica e regulação *bottom-up* e *top-down* após a contaminação.

Fleeger; Carman; Nisbet, (2003), em sua revisão de 150 estudos que avaliaram os efeitos indiretos de contaminantes em ecossistemas aquáticos, mencionam que aproximadamente 69% dos resultados obtidos sugerem que as mudanças na abundância e diversidade são decorrentes da regulação *bottom-up* em função do aumento ou diminuição dos recursos, com efeitos nos produtores e consumidores. Este estudo confirma a hipótese de que a comunidade fitoplanctônica estaria sendo regulada pela competição entre as diferentes espécies, mas agora em condições diferentes das iniciais, já que a diversidade fitoplanctônica foi afetada indiretamente pela contaminação, promovendo alterações nas relações ecológicas. Uma importante informação destacada pelos mesmos autores é que 60% dos estudos relataram aumento na densidade dos produtores primários resultantes dos efeitos indiretos ocasionados pelos efeitos diretos dos contaminantes nos organismos pastadores (consumidores), fenômeno também observado no presente estudo. De todos os trabalhos analisados pelos autores apenas dez (6,67%) não apontaram efeitos indiretos na comunidade

aquática, o que demonstra a importância dos processos *bottom-up* e *top-down* na regulação do equilíbrio das comunidades aquáticas após um distúrbio.

Outro aspecto importante na dinâmica das comunidades está relacionado com a perda de espécies e os efeitos em cascata, ocasionando perdas de espécies secundárias, alterando o ecossistema (EBENMAN; LAW; BORRVALL, 2004; PAINE, 1966). Ebenman, Law e Borrvall (2004) ainda afirmam que quanto mais redundante a comunidade, maior será o número de sobreposições de nichos ecológicos, sendo menor a probabilidade de que ocorram perdas ou extinções secundárias e maior a resistência e resiliência da comunidade. Este mecanismo está associado ao conceito de espécies-chave, que possuem alta influência na regulação da sustentabilidade dos sistemas ou cuja alteração sobre o papel exercido no ambiente promove grandes alterações na comunidade e nas funções do ecossistema (POWER et al., 1996; CLEMENTS; ROHR, 2009). Estas espécies estão em todos os tipos de ambientes e podem pertencer a qualquer nível trófico (POWER et al., 1996; PRESTON, 2002). Apesar de sua importância, são de difícil identificação devido à necessidade de complexas manipulações nas escalas temporal e espacial, nos diferentes níveis de organização e em diversos grupos taxonômicos (POWER et al., 1996). Devido a essa complexidade não foi possível identificar quais foram as espécies chave do presente estudo, entretanto, reconheceu-se as respostas das comunidades frente ao desaparecimento de algumas espécies.

As diversas informações previamente destacadas demonstram a complexa dinâmica que rege as relações tróficas, a resistência e resiliência das comunidades aquáticas, o que dificulta uma clara compreensão de quais são os principais fatores que influenciam a resistência e resiliência dos ecossistemas aquáticos após um distúrbio. Entretanto, é fato que a utilização das concentrações de efeito e não efeito observado para diferentes espécies, tanto em modelos laboratoriais quanto em campo, não é suficiente para entender as respostas do ecossistema ao distúrbio e a recuperação das comunidades aquáticas (VAN DEN BRINK et al., 1996). Ambientes aquáticos podem requerer longos períodos para a recuperação das comunidades afetadas direta e indiretamente, e esta recuperação não está exclusivamente relacionada à sensibilidade aos efeitos letais e subletais dos organismos afetados, mas a fatores como a taxa de degradação e os tipos de subprodutos gerados, o tipo de habitat (lênticos ou lótico), as taxas de migração, as dinâmicas de extinções e recolonização, a sensibilidade e taxa de recuperação espécie-específica (RELYEA; HOVERMAN, 2006).

Desse modo, um importante fator para a recuperação dos sistemas impactados é a proximidade e a conexão de ambientes que possam promover fontes de organismos para a recolonização dos ambientes impactados (BROCK; VAN WIJNGAARDEN; VAN GEEST, 2000; VAN DEN BRINK et al., 1996). Esta afirmação sugere que modelos ecossistêmicos em que as unidades experimentais estão isoladas, como os adotados no presente estudo, dificultam a avaliação da recuperação devido à ausência de conexão entre as unidades experimentais e ambientes que podem fornecer os organismos para a recolonização dos tratamentos impactados.

Outro importante fator que influencia a resiliência das comunidades aquáticas é a redundância, assim, quanto maior a sobreposição de espécies ocupando o mesmo nicho maior a capacidade da comunidade de se recuperar, de forma que uma espécie pode ocupar os recursos disponíveis pela exclusão ou diminuição da densidade de uma espécie que ocupa o mesmo nicho (JOHNSON, 2000).

Desse modo, a recuperação da comunidade não implica necessariamente no retorno da comunidade a um equilíbrio onde a composição das espécies são similares ao período pré-distúrbio ou à composição de ambientes ou aos tratamentos não impactados. Hazanato e Yasuno (1990), por exemplo, observaram uma drástica mudança na composição da comunidade aquática após a exposição ao carbaryl, com substituição de rotíferos pelos cladóceros. Com a finalidade de avaliar a recuperação após a contaminação em um período diferente os autores promoveram a mesma contaminação no período do inverno, e os resultados apontaram que os cladóceros não se tornaram dominantes na comunidade, como observado no primeiro experimento, inferindo que o período em que é realizado o distúrbio, e conseqüentemente a diferença nas condições climáticas, também são importantes fatores na determinação da recuperação das comunidades aquáticas.

Adicionalmente, diversos autores relatam longo períodos para a recuperação de comunidades impactadas por pesticidas. Woin (1998), por exemplo, observou que foram necessários dois anos após a aplicação do inseticida fenvalerate para que a comunidade de invertebrados fosse reestabelecida, entretanto a diversidade de espécies e a abundância apresentaram diferenças significativas quando comparada com o controle. Segundo o levantamento de Niemi e colaboradores (1990) o zooplâncton requer um período consideravelmente longo para que ocorra a recuperação após um distúrbio, apontando como referência os valores de 0,35; 0,2; e 0,88 anos para a recuperação das comunidades de rotíferos, cladóceros e copépodos, respectivamente.

Os resultados apresentados demonstraram a importância do modelo de estudo utilizado neste estudo, permitindo discutir aspectos chaves que regulam a dinâmica de ambientes aquáticos impactados por agrotóxicos, em especial fungicidas, constituindo uma importante ferramenta para a Ecotoxicologia e avaliação de risco ambiental. A partir disso, pode-se considerar que os impactos promovidos pela contaminação ambiental pelo pyrimethanil promoveu uma complexa dinâmica entre diversos fatores que influenciam direta e indiretamente as comunidades aquáticas mesmo em concentrações abaixo da faixa de sensibilidade para os organismos presentes nos ambientes naturais.

8.4 A necessidade de mudanças no processo de regulação de agrotóxicos no Brasil

As informações apresentadas no presente estudo demonstram a complexidade dos impactos decorrentes da contaminação ambiental por agrotóxicos, ou seja, os efeitos diretos e indiretos sobre as populações, os efeitos sobre a dinâmica das comunidades, as diferenças de sensibilidade em relação à biodiversidade, além das diferenças no que tange a persistência e mobilidade das formulações comerciais em relação aos seus respectivos princípios ativos.

Essa complexidade demonstra a necessidade de uma discussão a respeito de como vem sendo feito o processo de registro e regulação do uso dos agrotóxicos no Brasil, o que compreende a liberação do uso, o armazenamento, a aplicação e o descarte. Enquanto países como os Estados Unidos e os da Europa promovem um constante debate dentro de uma visão mais ambiental, pouco tem sido discutido no Brasil a respeito do assunto, e quando existente tem como enfoque principal, e muitas vezes exclusivamente, a saúde humana.

Os Estados Unidos possuem um eficiente sistema de monitoramento dos agrotóxicos, com inúmeras informações importantes. Um exemplo é o mapa disponível no *National Water-Quality Assessment (NAWQA) Program*, no qual se obtém informações detalhadas e atualizadas anualmente sobre quais os agrotóxicos, os volumes e os locais em que são utilizados (USGS, 2015). Além disso, para o registro de um novo agrotóxico, ingrediente ativo ou a inclusão de um novo uso para um agrotóxico já comercializado, a USEPA (Agência de Proteção Ambiental) exige da empresa responsável um complexo estudo sobre os ingredientes presentes nas formulações, as culturas utilizadas, frequência e quantidade de uso, além das formas de armazenamento e disposição. Adicionalmente deve fornecer uma avaliação completa dos riscos de curto e longo prazo à população humana e à vida selvagem (espécies alvo e não alvo), incluindo os riscos de contaminação de águas superficiais e

subterrâneas. Dependendo dos riscos são requeridos estudos em campo em condições naturais ou seminaturais para a avaliação dos efeitos sobre a vida selvagem. Após a análise dos resultados obtidos, a agência verifica e complementa as informações através da consulta à literatura e comunidade científica, para posteriormente tomar a decisão com base na comparação da eficiência e dos riscos do composto em avaliação com produtos de referência já existentes (US EPA, 2015). Todo esse processo pode demorar entre 6 e 9 anos e envolvem custos que superam os 50 milhões de dólares para cada caso (TOTH, 1996). Além disso, os Estados Unidos têm investido em diversas pesquisas e programas de redução do uso e dos riscos dos agrotóxicos, como o *Environmental Stewardship Program* (PESP), e a inclusão da participação popular nas discussões sobre o tema buscando a transparência do assunto (US EPA, 2015).

Em relação à Europa o processo para regulação e alteração de uso dos agrotóxicos é detalhado e requer um dossiê amplo contendo informações físico-químicas, eficácia, toxicidade a humanos, ecotoxicidade, destino e comportamento no ambiente e especificidade à cultura. O processo tem duração entre 2,5 e 3,5 anos e deve ser renovado a cada 15 anos (EC, 2015). Um aspecto interessante em relação aos estudos ecotoxicológicos é que este se baseia em conceito denominado de Concentração Aceitável, a qual é determinada através de dois valores: o limite ecológico, que tem como referência as concentrações que promovem efeitos negligenciáveis, e a recuperação ecológica, onde é possível aceitar efeitos desde que a recuperação das populações ocorra em um período de tempo aceitável. Para a avaliação dessas concentrações são necessários diversos estudos em laboratório e modelos ecossistêmicos (EFSA, 2013).

Desse modo, pode-se destacar que os modelos de regulação americano e europeu requerem informações e comprovações detalhadas em relação à eficácia e os riscos ambientais dos compostos em questão, exigindo um complexo estudo ecotoxicológico que avalia os riscos à vida selvagem do local, não apenas por meio de estudos laboratoriais com espécies endêmicas, mas avaliações em condições naturais ou seminaturais condizentes com a região.

Em relação ao Brasil, o processo regulatório de agrotóxicos é baseado nas leis N° 7.802, de 11 de julho de 1989, e N° 9.974, de 6 de junho de 2000, onde é subdividida as competências entre o Ministério do Meio Ambiente, representado pelo IBAMA e responsável pelo monitoramento ambiental e avaliação ecotoxicológica; Ministério da Agricultura, responsável pela eficiência agrônômica e fiscalização das importações e

fabricação; e Ministério da Saúde, representado pela Anvisa e responsável pela avaliação e monitoramento toxicológico e definição de limites máximos de resíduos. A fiscalização é também subdividida em nível federal (produção, importação e exportação de agrotóxicos e produtos relacionados), estadual (uso, comércio, armazenamento e transporte) e municipal (armazenamento). Essas subdivisões diminuem a eficiência na regulação devido aos inúmeros atores e esferas envolvidas, e o conflito de interesse entre as diferentes partes.

Os estudos ecotoxicológicos estão dentro da esfera de responsabilidade do IBAMA e devem ser realizados com as espécies internacionalmente padronizadas mesmo quando realizados em laboratórios nacionais. O órgão ressalta que nesse caso as espécies endêmicas podem ser adequadamente protegidas na avaliação com o uso de fatores de proteção adicionais, mas sem qualquer menção à quais seriam esses fatores (IBAMA, 2015). Além disso, não é destacada a necessidade de estudos em situações naturais ou seminaturais simuladas ou mesmo com espécies ecologicamente relevantes para a região, o que poderia promover uma maior proteção da biodiversidade local.

O posicionamento do IBAMA em relação à eficiência dos estudos ecotoxicológicos que são utilizados para a regulação dos agrotóxicos no Brasil não condiz com os atuais estudos desenvolvidos internacionalmente, os quais apontam grandes diferenças na sensibilidade entre diferentes espécies (DOSNON-OLETTE et al., 2010). Além disso, as diferenças bióticas e abióticas entre os diferentes ecossistemas, zonas climática ou micro-região e as sazonalidades climáticas são fatores que influenciam a dinâmica (modulação e propagação) dos agrotóxicos e devem ser rigorosamente consideradas, visto que grande parte dos estudos utilizados para os processos regulatórios dos agrotóxicos no Brasil são baseados em testes de toxicidade com espécies e condições típicas de ambientes temperados. Nesse sentido, são necessárias mais pesquisas que visem avaliar as reais diferenças e os riscos associados à utilização de resultados baseados unicamente em ambientes de clima temperados, para a interpretação dos efeitos e proteção da biodiversidade de regiões tropicais.

9. CONSIDERAÇÕES FINAIS

Com base nos resultados obtidos pelo estudo é possível destacar a relevância e aplicabilidade dos estudos em modelos ecossistêmicos, em especial os de mesocosmo, como uma importante ferramenta para a avaliação dos efeitos dos contaminantes sobre as comunidades aquáticas. As avaliações em nível de indivíduos, populações e comunidades permitiram reconhecer os efeitos diretos e indiretos da contaminação ambiental por agrotóxicos, inferindo sobre a dinâmica da comunidade após a contaminação e na modulação do agrotóxico em ambientes naturais.

Tomando como referência as hipóteses propostas, pode-se considerar que apesar dos valores das sensibilidades obtidos nos estudos laboratoriais serem uma referência para a elaboração da regulamentação do uso de agrotóxicos no Brasil, esses valores não asseguram a proteção das populações ou comunidades avaliadas, visto que no presente estudo foram observados efeitos diretos e indiretos para as diferentes comunidades avaliadas mesmo em concentrações abaixo da faixa de sensibilidade estabelecida em estudos laboratoriais mono-específicos. Este tipo de estudo desconsidera a presença de múltiplos estressores, que podem interferir na sensibilidade das populações, assim como a complexidade das relações que envolve os diversos compartimentos, a biodiversidade e as relações tróficas, que podem promover efeitos diretos e indiretos sobre os ecossistemas aquáticos. Desse modo, pode-se parcialmente rejeitar a hipótese 1 (resultados obtidos nas avaliações ecotoxicológicas em laboratório são importantes valores de referência para a avaliação dos efeitos diretos e indiretos da contaminação sobre a comunidade aquática), sendo possível considerar que os valores obtidos em laboratório são valores norteadores que podem auxiliar na proteção dos ecossistemas aquáticos, mas que não devem ser utilizados de forma isolada para tal objetivo, e aceitar a hipótese 3 (as espécies fitoplanctônicas e zooplanctônicas foram impactadas mesmo em concentrações inferiores à faixa sensibilidade estabelecida em laboratório).

O *design* experimental adotado nos modelos ecossistêmicos, representado pelos mesocosmos, permitiram avaliar os efeitos diretos e indiretos da contaminação nas comunidades aquáticas avaliadas, possibilitando observar efeitos diretos sobre a comunidade zooplanctônica e indiretos sobre a comunidade fitoplanctônica, assim como a recuperação da comunidade zooplanctônica e o novo patamar de equilíbrio da comunidade fitoplanctônica após o distúrbio, evidenciando os efeitos em longo prazo da contaminação de ambientes aquáticos pelo agrotóxico e a recuperação do sistema após o distúrbio,

confirmando as hipóteses 2 (o estudo em mesocosmo, um modelo ecossistêmico, permite avaliar os efeitos diretos e indiretos sobre as comunidades fitoplanctônicas e zooplanctônicas), hipótese 4 (comunidades aquáticas apresentam respostas à contaminação (efeitos indiretos), mesmo após a degradação total do contaminante, e a hipótese 5 (estudos de longo prazo permitem avaliar a capacidade de recuperação dos sistemas ambientais).

Além disso, a quantificação do pyrimethanil (Mythos®) nos experimentos em mesocosmos também permitiram confirmar que a persistência da formulação comercial foi superior às informações obtidas na literatura para o princípio ativo, sugerindo que a presença de outras substâncias nas formulações comerciais pode afetar drasticamente a persistência e bioDisponibilidade dos agrotóxicos nos ambientes aquáticos.

A partir das informações apresentadas e discutidas pode-se considerar que os modelos ecossistêmicos são importantes ferramentas para a avaliação de riscos dos agrotóxicos, pois constituem um modelo mais representativo do ambiente natural, permitindo uma avaliação mais realística dos diversos efeitos sobre as complexas relações entre os fatores bióticos e abióticos presentes nos ambientes naturais. Desse modo, conclui-se que a elaboração de estudos que compreendam de forma conjunta avaliações em laboratórios e em modelos ecossistêmicos devem ser realizados de forma complementar, visando garantir a proteção da biodiversidade de modo mais eficiente.

Além disso, no presente estudo evidenciou-se a importância na elaboração das pesquisas ecotoxicológicas de longa duração, avaliando de forma mais consistente as diferentes etapas decorrentes da contaminação ambiental. Desse modo, sugere-se que os futuros estudos avaliem detalhadamente o período pré-contaminação, determinando um cenário de estabilidade da comunidade a partir do qual serão realizadas as inferências dos efeitos do contaminante sobre os ecossistemas aquáticos. Deve-se ressaltar ainda que os efeitos da contaminação sobre as comunidades podem ir muito além do que o período em que é possível quantificar o contaminante na água, demonstrando a intensidade dos impactos sobre os ambientes naturais e a necessidade de monitoramentos mais duradouros para a avaliação da reestabilização do equilíbrio das comunidades aquáticas. Ainda nesse contexto, deve-se considerar o uso de diferentes metodologias e modelos de análises de dados, compreendendo análises uni e multivariadas, de maneira a promover uma melhor compreensão dos resultados obtidos das inúmeras variáveis bióticas e abióticas que são possíveis de se avaliar nos estudos em modelos ecossistêmicos.

Outro ponto a ser destacado é a importância de serem avaliadas, de forma comparativa, as diferenças na persistência, mobilidade e toxicidade das formulações comerciais e seus princípios ativos, visto que grande parte dos estudos que subsidiam o processo de regulamentação dos agrotóxicos avaliam os efeitos dos princípios ativos e não das formulações comerciais, desconsiderando os riscos associados aos diferentes compostos que as constituem, subestimando os efeitos sobre os ambientes naturais.

Desse modo, conclui-se que os modelos ecossistêmicos são importantes ferramentas na avaliação dos riscos ambientais dos agrotóxicos e devem ser incluídos dentro dos processos de regulamentação de agrotóxicos em nível nacional, buscando promover um processo de regulamentação mais eficiente, baseados em estudos realizados em condições típicas de regiões de clima tropical, que apresentem resultados concretos em relação ao estabelecimento de padrões e parâmetros que visem à preservação da qualidade ambiental e biodiversidade local.

10 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AGÊNCIA NACIONAL DE ÁGUAS (ANA) **Portal da Qualidade das águas**. Disponível em: <<http://portalpnqa.ana.gov.br/indicadores-estado-trofico.aspx>>. Acesso em 20 de maio de 2015.

AMERICAN PUBLIC HEALTH ASSOCIATION (APHA); AMERICAN WATER WORK ASSOCIATION; WATER CONTROL FEDERATION. **Standard methods for the examination of water and wastewater**. New York, 1995. 19 ed.1268p.

ARAÚJO, C. V. M. et al. Avoidance response of *Danio rerio* to a fungicide in a linear contamination gradient. **Science of the Total Environment**, v. 484, n. 1, p. 36–42, 2014.

ARMAS, E. D.; MONTEIRO, R. T. R.; ANTUNEZ, P. M. SANTOS, M. A. P. F.; CAMARGO, B. C. Diagnóstico espaço-temporal da ocorrência de herbicidas nas águas superficiais e sedimentos do Rio Corumbataí e principais afluentes. **Química nova**, 30 (5), p. 1119-1127. 2007.

ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS (ABNT). **Análise granulométrica de solos**. Rio de Janeiro, 1968. 32p.

ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS (ABNT). NBR 12648. **Ecotoxicologia aquática – toxicidade crônica – Métodos de ensaio com algas (Chlorophyceae)**. Rio de Janeiro. 28p. 2011a.

ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS (ABNT). NBR 12713. **Ecotoxicologia aquática - Toxicidade aguda - Método de ensaio com *Daphnia spp* (Crustacea, Cladocera)**. Rio de Janeiro. 23p. 2009.

ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS (ABNT). NBR 13373. **Ecotoxicologia aquática - Toxicidade crônica - Método de ensaio com *Ceriodaphnia spp* (Crustacea, Cladocera)**. Rio de Janeiro. 18p. 2010.

ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS (ABNT). NBR 15088. **Ecotoxicologia aquática - Toxicidade aguda - Método de ensaio com peixes**. Rio de Janeiro. 22p. 2011b.

ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS (ABNT). NBR 15499. **Ecotoxicologia aquática: toxicidade crônica de curta duração – método de ensaio com peixes**. 25p. 2007.

ATTRILL, M. J.; DEPLEDGE, M. H. Community and population indicator of ecological health: targeting links between levels of biological organization. **Aquatic Toxicology**, 38, 183-197, 1997.

BANDOW, C. et al. Interactive effects of lambda-cyhalothrin, soil moisture, and temperature on *Folsomia candida* and *Sinella curviseta* (Collembola). **Environmental Toxicology and Chemistry**, v. 33, n. 3, p. 654–661, 2014.

BANDOW, C.; COORS, A.; RÖMBKE, J. *Enchytraeus bigeminus* (Enchytraeidae, Oligochaeta) as a new candidate for ecotoxicological laboratory tests. **Soil organisms**. v. 85, n. August, p. 103–112, 2013.

BARREIRO LOZANO, R.; PRATT, J. R. Interaction of toxicants and communities: The role of nutrients. **Environmental Toxicology and Chemistry**, v. 13, n. 3, p. 361–368, 1994.

BARRY, M. J.; LOGAN, D. C. The use of temporary pond microcosms for aquatic toxicity testing: direct and indirect effects of endosulfan on community structure. **Aquat. Toxicol.**, 41, p. 101–124, 1998.

BEGGEL, S.; WERNER, I.; CONNON, R. E.; GEIST, J. P. Sublethal toxicity of commercial insecticide formulations and their active ingredients to larval fathead minnow (*Pimephales promelas*). **Science of the Total Environment**, 408, p. 3169–3175. 2010.

BICUDO, C. E. M.; BICUDO, D. C. **Amostragem em Limnologia**. 2ed. São Carlos: RiMa. 256p. 2007.

BICUDO, C. E. M; MENEZES, M. **Gêneros de algas de águas continentais do Brasil**. 2ed. São Carlos: RiMa. 489p., 2006.

BLANCK, H.; WALLIN, G.; WÄNGBERG, S. A. Species-dependent variation in algal sensitivity to chemical compounds. **Ecotoxicology and environmental safety**, v. 8, n. 4, p. 339–351, 1984.

BOONE, M. D.; SEMLITSCH, R. D. Interactions of an insecticide with competition and pond drying in amphibian communities. **Ecol. Appl.** 12, p. 307–316, 2012.

BOONE, M.D.; SEMLITSCH, R. D. Interactions of an insecticide with larval density and predation in experimental amphibian communities. **Conserv. Biol.** 15 (1), p. 228–238, 2001.

BOYLE, T. P.; FAIRCHILD, J. F.; ROBINSON-WILSON, E. F.; HAVERLAND, P. S.; LEBO, J. A. Ecological restructuring in experimental aquatic mesocosms due to the application of diflubenzuron. **Environmental Toxicology and Chemistry**, v. 15, n. 10, p. 1806-1814, 1996.

BOYLE, T. P; FAIRCHILD, J. The role of mesocosm studies in ecological risk analysis. **Ecological Application**, 7(4), p. 1099-1102, 1997.

BRAZNER, J. C.; KLINE, E. R. Effects of chlorpyrifos on the diet and growth of larval fathead minnow, *Pimephales promelas*, in littoral enclosures. **Can. J. Fish Aquat. Sci.**, 47, p. 1157 – 1165, 1990.

BRIGANTE, J. ESPÍNDOLA, E. L. G. (Eds.) **Limnologia fluvial: um estudo no rio Mogi-Guaçu**. São Carlos: RiMa Editora, 255 p., 2003.

BRINK, P. J. VAN DEN; BRAAK, C. J. F. TER. Principal Response Curves : Analysis of Time-Dependent Multivariate Responses of Biological Community To Stress. **Environmental Toxicology and Chemistry**, v. 18, n. 2, p. 138–148, 1999.

BROCK, T. C. M.; HAMMERS-WIRTZ, M.; HOMMEN, U.; PREUSS, T. G.; RATTE, H-T.; ROESSINK, I.; STRAUSS, T.; VAN DEN BRINK, P. J. The minimum detectable difference (MDD) and the interpretation of treatment-related effects of pesticides in experimental ecosystems. **Environmental Science and Pollution Research**, v. 22, p. 1160-1174, 2015.

BROCK, T. C. M.; VAN WIJNGAARDEN, R. P. A; VAN GEEST, G. J. Ecological risks of pesticides in freshwater ecosystems Part 2 : Insecticides. **Alterra-rapport**, 089, p. 128, 2000.

BURATINI, S. B; BRANDELLI, A. **Bioacumulação**. In: ZAGATTO, P. A.; BERTOLETTI, E. (EDS), Ecotoxicologia aquática: princípios e aplicações. São Carlos: RiMa Editora, p. 55-88, Cap. 4. 2006.

CAIRNS JR, J.; NIEDERLEHNER, B. R.; BIDWELL, J. R. **Ecological toxicity testing**. In: MEYERS R. A. (eds). Encyclopedia of Environmental Analysis and Remediation. Meyers, R. A. (ed). John Wiley & Sons, Inc. 1995.

CAIRNS, J. Are single species toxicity tests alone adequate for estimating environmental hazards? **Hydrobiologia**, 100, p. 47–57, 1983.

CALDAS, E. D.; SOUZA, L. C. K. R. DE. Avaliação de risco crônico da ingestão de resíduos de pesticidas na dieta brasileira. **Revista de Saúde Pública**, v. 34, n. 5, p. 529–537, 2000.

CALIJURI, M.C.; ALVES, M.S.A.; SANTOS, A.C.A. **Cianobactérias e cianotoxinas em águas continentais**. São Carlos: RiMa, 109p., 2006.

CALOW, P.; V. E. FORBES. Science and subjectivity in the practice of ecological risk assessment. **Environmental Management**, 21(6), p.805-812, 2003.

CALOW, P.; V. E. FORBES. Science and subjectivity in the practice of ecological risk assessment. **Environmental Management**, 21(6), p.805-812, 2003.

CAQUET, T. et al. Variability of physicochemical and biological parameters between replicated outdoor freshwater lentic mesocosms. **Ecotoxicology**, v. 10, n. 1, p. 51–66, 2001.

CAQUET, T.; LAGADIC, L.; STEVEN, R. S. Mesocosm in ecotoxicology: Outdoors aquatic system. **Review of environmental contamination and toxicology**, 165, p. 1-38. 1989.

CARLSON, R. E. A trophic state index for lakes. **Limnology and Oceanography**, v. 22, n. 2, p. 361–369, 1977.

CLEAVER, H. M. Some contradictions of capitalism. The contradictions of the green revolution. **The american economic review**, 62(1/2), p. 177-186, 1972.

CLEMENTS, W. H. 2000. Integrating effects of contaminants across levels of biological organization. **Journal of aquatic ecosystem stress and recovery**, 7, p.113-116, 1997.

CLEMENTS, W. H.; ROHR, J. R. Community responses to contaminants: using basic ecological principles to predict ecotoxicological effects. **Environmental toxicology and chemistry / SETAC**, v. 28, n. 9, p. 1789–1800, 2009.

COMAS, A. **Las Chlorococcales dulceacuícolas de Cuba**. Bibl. Phycol, 229p., 1996.

COX, C.; SURGAN, M. Unidentified inert ingredients in pesticides: Implications for human and environmental health. **Environmental Health Perspectives**, v. 114, n. 12, p. 1803–1806, 2006.

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, n. 1, p. 24–37, 2010.

DAJOZ, R. **Ecologia geral**. 4 Ed. Petrópolis: Vozes, 472p., 1983.

DORES, E. F. G. C.; DE-LAMONICA-FREIRA, E. M. Contaminação do ambiente aquático por pesticidas: vias de contaminação e dinâmica dos pesticidas no ambiente. **Pesticidas. Ecotoxicologia e Meio Ambiente**, 9, p.1-18. 1999.

DOSNON-OLETTE, R. et al. Fungicides and herbicide removal in *Scenedesmus* cell suspensions. **Chemosphere**, v. 79, n. 2, p. 117–123, 2010.

DOSNON-OLETTE, R.; COUDERCHET, M.; EULLAFFROY, P. Phytoremediation of fungicides by aquatic macrophytes: Toxicity and removal rate. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 72, n. 8, p. 2096–2101, 2009.

EBENMAN, B.; LAW, R.; BORRVALL, C. Community viability analysis: the response of ecological communities to species loss. **Ecology**, 85(9), p. 2591-2600, 2004.

EFSA. Conclusion regarding the peer review of the pesticide risk assessment of the active substance pyrimethanil finalised : 13 January 2006. **Regulation**, n. January, p. 1–70, 2006.

EFSA. Guidance on tiered risk assessment for plant protection products for aquatic organisms in edge-of-field surface waters. **EFSA Journal**, v. 11, n. 7, p. 267, 2013.

ELMOOR-LOUREIRO, L. M. A. **Manual de Identificação de cladóceros límnicos do Brasil**. Editora da Universidade Católica de Brasília, 155p., 1997.

EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA (EMBRAPA). **Monitoramento do risco ambiental de agrotóxico: princípios e recomendações**. Jaguariúna: Embrapa meio ambiente, 29p., 2004.

ETTL, H. Chlorophyta, 1: **Phytomonadina**. In: Ettl, H.; Gerloff, J.; Heynig, H.; Mollenhauer, D. Süßwasserflora von Mitteleuropa. v. 9. Stuttgart: Gustav Fischer. 807p., 1983.

EUROPEAN COMMISSION (EC). **Pesticides**. Disponível em <http://ec.europa.eu/food/plant/pesticides/index_en.htm>. Acesso em 10/07/2015.

EVANS-WHITE, M. A.; LAMBERTI, G. A. Direct and indirect effects of a potential aquatic contaminant on grazer-algae interactions. **Environmental toxicology and chemistry / SETAC**, v. 28, n. 2, p. 418–426, 2009.

EVERETT, K. D. E.; DICKERSON, H. W. Ichthyophthirius multifiliis and Tetrahymena thermophila tolerate glyphosate but not a commercial herbicidal formulation. **Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology**, v. 70, n. 4, p. 731–738, 2003.

FLEEGER, J. W.; CARMAN, K. R.; NISBET, R. M. Indirect effects of contaminants in aquatic ecosystems. **Science of the Total Environment**, v. 317, n. 1-3, p. 207–233, 2003.

FLOYD, E. Y.; GEIST, J. P.; WERNER, I. Acute, sublethal exposure to a pyrethroid insecticide alters behavior, growth, and predation risk in larvae of the fathead minnow (*Pimephales promelas*). **Environmental toxicology and chemistry / SETAC**, v. 27, n. 8, p. 1780–1787, 2008.

FRACÁCIO, R. **Estudos limnológicos e cotoxicológicos (laboratoriais e in situ), com ênfase na avaliação da toxicidade de metais e de pesticidas organoclorados em peixes (Danio rerio e Poecilia reticulata) – Sub-bacia do rio Monjolinho**. Tese (doutorado em Ecologia e Recursos Naturais). Universidade Federal de São Carlos, São Carlos, 209p., 2006.

FROST, P.C.; BENSTEAD, J.P.; CROSS, W.F.; HILLEBRAND, H.; LARSON, J.H.; et al. Threshold elemental ratios of carbon and phosphorus in aquatic consumers. **Ecol. Lett.** 9., p.774-779, 2006.

GAVRILESCU, M. Fate of pesticide in the environment and its bioremediation. **Engineering in life sciences**, 5 (6), p. 497-526, 2005.

GEORGE MICHAEL, R.; SHARMA, B. K. **Fauna of indica and adjacent countries: Indian Cladocera** (Crustacea: Branchiopoda: Cladocera). Kolkata, Zoological Survey of India. Calcuta, 262 p., 1988.

GIDDINGS, J. M.; EDDLEMON, G. K. Some ecological and experimental properties of complex aquatic microcosms. **International Journal of Environmental Studies**, v. 13, n. 2, p. 119–123, 1979.

GOLTERMAN, H. L.; CLYMO, R. S.; OHNSTAD, M.A.M.: **Methods for physical and chemical analysis of fresh water**. 2 ed. Oxford: Blackweel scientific publications. 213p., 1978.

GRANEY, R. L.; GIESY, J. P.; CLARK, J. R. **Field studies**. In: RAND, G. M. Fundamentals of aquatic toxicology. Effects, environmental fate and risk assessment. Taylor & Francis, Washington, USA., p.257-305, 1995.

GUSMÃO, L. F. M. **Efeitos do cobre e cromo na comunidade zooplanctônica: um estudo experimental em mesocosmos**. Dissertação (Mestrado em Ciências da Engenharia Ambiental). Escola de Engenharia de São Carlos, Universidade de São Paulo, São Carlos, 268p., 2004.

HANAZATO, T.; YASUNO, M. Influence of time of application of an insecticide on recovery patterns of a zooplankton community in experimental ponds. **Arch. Environ. Contam. Toxicol.**, v. 19, p. 77–83, 1990.

HAVENS, K. E. An experimental comparison of the effects of two chemical stressors on a freshwater zooplankton assemblage. **Environmental Pollution**, 84, p. 245-251, 1994.

HAVENS, K. E. Insecticide (carbaryl, 1-naphtyl-n-methylcarbamate) effects on a freshwater plankton community: zooplankton size, biomass, and algal abundance. **Water, Air and Soil Pollution**, 84, p. 1-10, 1995.

HOFFMAN, D. J.; RATTNER, B. A.; BURTON, G. L.; CAIRNS, J.: **Introduction**. In: HOFFMAN, D. J.; RATTNER, B. A.; BURTON, G. L.; CAIRNS, J. Handbook of ecotoxicology. Boca Raton, Lewis Publishers, p. 1-15, Cap 1, 2003.

HUBER-PESTALOZZI, G. **Das Phytoplankton des Süßwassers. Systematik und Biologie. 4. Teil: Euglenophyceen**. E. Schweizerbart'sche Verlagsbuchhandlung (Nägele u. Obermiller), Stuttgart, Germany. 606 p. 1955.

HURLBERT, S. H. Pseudoreplication and the design of ecological field experiments. **Ecological Monographs**, v. 54, n. 2, p. 187–211, 2015.

HURLBERT, S. H.; MULLA, M. S.; KEITH, J. O.; WESTLAKE, W. E.; DÜSH, M. E. Biological effects and persistence of Dursban in freshwater ponds. **J. Econ. Entomol.** 1, p.43–52, 1970.

INSTITUTO BRASILEIRO DE MEIO AMBIENTE E DOS RECURSOS NATURAIS RENOVÁVEIS (IBAMA). **Avaliação do Potencial de Periculosidade Ambiental (PPA) de Agrotóxicos e Afins**. Disponível em: <<http://www.ibama.gov.br/qualidade-ambiental/avaliacao-do-potencial-de-periculosidade-ambiental-ppa/tudo>>. Acesso em: 02 de julho de 2015.

ISENSEE, A. R. Variability of aquatic model ecosystem-derived data. **International Journal of Environmental Studies**, v. 10, n. 1, p. 35–41, 1976.

JAK, R. G.; MAAS, J. L.; SCHOLTEN, M. C. T. H. Ecotoxicity of 3,4-dichloroaniline in enclosed freshwater plankton communities at different nutrient levels. **Ecotoxicology**, 7, p. 49–60. 1998.

JOHNSON, K. H. Trophic-dynamic considerations in relating species diversity to ecosystem resilience. **Biological reviews of the Cambridge Philosophical Society**, v. 75, n. 3, p. 347–376, 2000.

KEMP, W. M.; PETERSEN, J. E.; GARDNER, R. H. **Scale dependence and the problem of extrapolation**. In: Gardner, R. H.; Kemp, W. M.; Kennedy, V. S.; PETERSEN, J. E. (eds) *Scaling relations in experimental ecology*. Columbia University Press, New York. p.3-57, 2001.

KIMBALL, K. D., LEVIN, S. A. Limitations of laboratory bioassays: the need for ecosystem-level testing. **Bioscience**, 35, p. 165–171, 1985.

KOLAR, L. et al. Toxicity of abamectin and doramectin to soil invertebrates. **Environmental Pollution**, v. 151, n. 1, p. 182–189, 2008.

KOMÁREK, J.; ANAGNOSTIDIS, K. **Cyanoprocaryota, 1: Chroococcales**. In: Huber-Pestalozzi, G. (ed.). *Das phytoplankton des sysswasser: Systematik und Biologie*, Band 7. Schwarzerbart'sche Verlarsbuchhandlung, Stuttgart, 545p., 1999.

KOMÁREK, J.; ANAGNOSTIDIS, K. **Cyanoprokaryota, 2: Oscillatoriales**. In: Bündel, B. et al. *Süßwasserflora von Mitteleuropa*. München: Elsevier. 758p., 2005.

KOMÁREK, J.; FOTT, B. **Chlorophyceae (Grünalgen), Ordnung Chlorococcales**. In: Huber-Pestalozzi, G. *Das Phytoplankton des Süßwassers*. E. Schweizerbart'sche Verlagsbuchhandlung (Nägele und Obermiller). V. 7. Stuttgart. 1044 p., 1983.

KOSTE, W. **Rotatoria**. Die Radertiere Mitteleuropas. Bestimmungswerk begründet von Max Voit, Überordnung Monogononta, vol 1-2, 234 p., 1978,

KOSTE, W.; TERLUTTER, H. **Die Rotatorienfauna einiger Gewässer des Naturschutzgebietes "Heiliges Meer" im Kreisn Steinfurt**. Osnabrucker Naturwissenschaftliche Mitteilungen 27, p. 113–177, 2001.

KRAUFVELIN, P. Model ecosystem replicability challenged by the “soft” reality of a hard bottom mesocosm. **Journal of Experimental Marine Biology and Ecology**, v. 222, n. 1-2, p. 247–267, 1998.

KWOK, K. W. H.; LEUNG, K. M. Y. LUI, G. S. G.; CHU, V. K. H.; LAM, P. K. S. MORRIT, D. MALTBY, L.; BROCK, T. C. M. VAN DEN BRINK, P. J. WARNE, M. J.; CRANE, M. Comparison of tropical and temperate freshwater species sensitivities to chemicals: implications for deriving safe extrapolation factors. **Integr. Environ. Assess. Manage.** 3, 49-67, 2007.

LA POINT, T. W., FAIRCHILD, J. F.; LITTLE, E. E.; FINGER, S. E. **Laboratory and field techniques in ecotoxicological research: strengths and limitations**. In: BODOU, A.; IBEYRE, F. Aquatic toxicology: fundamentals, concepts and methodologies. v2. CRC Press, Boca Raton, USA. p. 239-255, 1989.

LAABS, V. et al. Pesticide fate in tropical wetlands of Brazil: An aquatic microcosm study under semi-field conditions. **Chemosphere**, v. 67, n. 5, p.975–989, 2007.

LALLI, C. M. **Enclosed experimental ecosystems: a review and recommendations**. Springer verlag, New York, 218p., 1990.

LAMPARELLI, M. **Graus de trofia em corpos d ’ água do Estado de São Paulo: Avaliação dos métodos de monitoramento**. p. 235, 2004.

LIPOK, J.; STUDNIK, H.; GRUYAERT, S. The toxicity of Roundup?? 360 SL formulation and its main constituents: Glyphosate and isopropylamine towards non-target water photoautotrophs. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 73, n. 7, p. 1681–1688, 2010.

LOBO, E.; LEIGHTON, G. Estructuras comunitarias de las fitocenosis planctonicas de los sistemas de desembocaduras de rios y esteros de la zona central de Chile. **Revista de Biologia Marina**, v. 22, n. 1, p. 1-29, 1986.

MACKERETH, F. J. H.; HERON, J.; TALLING, J. F.: **Water analysis: some revised methods for limnologists**. Freshwater biological association scientific publication. Kendall: Titus Wilson and Sons Ltd., 1978. n.36, 117p

MAGURRAN, A. E. **Measuring biological diversity**. Blackwell Publishing. 256p. 2004.

MARGALEF, R. **Limnologia**. Ed. Omega. 1010p. 1983.

MATSUMURA-TUNDISI, T. Latitudinal distribution of Calanoida copepods in freshwater aquatic systems of Brazil. **Rev. Bras. Biol.**, 46 (3), p.527-553, 1986.

MENDES, L. B. **Análise dos efeitos do agrotóxico Vertimec® 18CE em Danio rerio (Cypriniformes, Cyprinidae) por meio de estudos experimentais**. Dissertação (Mestrado

em Ciências da Engenharia Ambiental). Escola de Engenharia de São Carlos, Universidade de São Paulo, São Carlos, SP, 2011.

MITCHELL, D. G.; CHAPMAN, P. M.; LONG, T. J. Acute toxicity of Roundup® and Rodeo® herbicides to rainbow trout, chinook, and coho salmon. **Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology**, v. 39, n. 6, p.1028–1035, 1987.

MONTEMURRO, N. et al. Chlorpyrifos decline curves and residue levels from different commercial formulations applied to oranges. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 50, n. 21, p. 5975–5980, 2002.

MONTÚ, M. A.; GLOEDEN, I. M. Atlas dos Cladocera e Copepoda (Crustacea) do estuário da Lagoa dos Patos (Rio Grande, Brasil). **Neritica**, 1 (2), 1-134, 1986.

MORALES, E. S., REID, J. K.; LLIFFE, T. M.; FIERS, F. **Catálogo de los Copepodos (Crustacea) continentals de la península de Yucatán, México**. CONABIO – ECOSUR, México, D. F., 296p, 1996.

MOREIRA, S. M. et al. Ecotoxicological tools for the tropics: Sublethal assays with fish to evaluate edge-of-field pesticide runoff toxicity. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 73, n. 5, p.893–899, 2010.

MOZETO, A. A.; ZAGATTO, P. A. **Introdução de agentes químicos no ambiente**. In: ZAGATTO, P. A.; BERTOLETTI, E. (EDS), *Ecotoxicologia aquática: princípios e aplicações*. São Carlos: RiMa Editora, 2006, p. 15-38, Cap. 2.

MÜLLER, R. et al. Simulated climate change conditions unveil the toxic potential of the fungicide pyrimethanil on the midge *Chironomus riparius*: a multigeneration experiment. **Ecology and evolution**, v. 2, n. 1, p. 196–210, 2012.

NIEMI, G. J. et al. Overview of case studies on recovery of aquatic systems from disturbance. **Environmental Management**, v. 14, n. 5, p. 571–587, 1990.

ODUM, E. P. **The mesocosms**. *BioScience*, 34 (9). 1984.

ONGLEY, E. D. **Control of water pollution from agriculture**. FAO irrigation and drainage paper, (55), p. 1-101. 1996.

OPAS/OMS. **Manual de vigilância da saúde de Populações Expostas à Agrotóxicos**. Organização Pan-Americana de Saúde. Brasília, 72p., 1997.

PABLO, F. et al. Comparison of the fate and toxicity of chlorpyrifos-Laboratory versus a coastal mesocosm system. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 71, n. 1, p. 219–229, 2008.

PACHECO, P. **Brasil lidera uso mundial de agrotóxicos**. Estado de São Paulo, São Paulo. 07 ag. 2009. Caderno economia e negócios. Disponível em: http://www.estadao.com.br/estadaodehoje/20090807/not_imp414820,0.php. Acesso em: 17 out 2009.

PADISÁK, J.; CROSSETTI, L. O.; NASELLI-FLORES, L. Use and misuse in the application of the phytoplankton functional classification: A critical review with updates. **Hydrobiologia**, v. 621, n. 1, p. 1–19, 2009.

PAINE, R. T. The University of Chicago Food Web Complexity and Species Diversity. **The American naturalist**, v. 100, n. 910, p. 65–75, 1966.

PAPINI, S.; ANDRÉA, M. M. Ação de minhocas *Eisenia foetida* sobre a dissipação dos herbicidas simazina e paraquat aplicados no solo. **Revista Brasileira de Ciencia do Solo**, v. 28, n. 1, p. 67–73, 2004.

PAPST, M.H.; BOYER, M. G. Effects of two organophosphorus insecticides on the chlorophyll a and pheopigment concentrations of standing ponds. **Hydrobiologia**, 69, p. 245–250, 1980.

PARRA, O. O. et al. **Manual taxonomico del fitoplancton de aguas continentales, com referencia al plancton de Chile. II. Chrysophyceae e Xantophyceae**. Concepción: Ed. Universidad de Concepción. 82p., 1982a.

PARRA, O. O. et al. **Manual taxonomico del fitoplancton de aguas continentales, com referencia al plancton de Chile. III. Cryptophyceae, Dinophyceae, Euglenophyceae**. Concepción: Ed. Universidad de Concepción. 99p., 1982b.

PARRA, O. O. et al. **Manual taxonomico del fitoplancton de aguas continentales, com referencia al plancton de Chile. IV. Bacillariophyceae**. Concepción: Ed. Universidad de Concepción. 97p., 1982c.

PARRA, O. O. et al. **Manual taxonomico del fitoplancton de aguas continentales, com referencia al plancton de Chile. V. Chlorophyceae**. Concepción: Ed. Universidad de Concepción. 353p., 1983.

PEET, R.K. The measurement of species diversity. **Annual Review of Ecology and Systematics**, v. 5, p. 285-307, 1974.

PENNAK, R. W. **Fresh-water invertebrates of the United States: protozoa to mollusca**. 3° ed. John Wiley & Sons, Inc. New York. 1989.

PEREIRA, T.; CEREJEIRA, M. J.; ESPÍRITO-SANTO, J. Use of microbiotests to compare the toxicity of water samples fortified with active ingredients and formulated pesticides. **Environmental Toxicology**, v. 15, n. 5, p.401–405, 2000.

PETERS, E. C., GASMAN, N. J. , FIRMAN, J. C., RICHMOND, R.H., POWER, E. A. Ecotoxicology of tropical marine ecosystems. **Environm Toxicol Chem**, 16, p.12–40, 1997.

PETERSEN, J.E.; CORNWELL, J.C.; KEMP, W.M. Implicit scaling in the design of experimental aquatic ecosystems. **Oikos**, 85, 3-18, 1999.

PIELOU, E.C. **Population and community ecology.-principles and methods**. Gordon and Breach, 1983. 432p.

PIMENTEL, D.; LEVITAN, L. Amounts Applied and Pesticides : Amounts Reaching Pests reaches target pests. **Bioscience**, v. 36, n. 2, p. 86–91, 1986.

POWER, M. E.; TILMAN, D. Challenges in the quest for keystones. **BioScience**, v. 46, n. September, p. 609-620, 1996.

PRESCOTT, G.W.; BICUDO, C.E.M.; VINYARD, W.C. **A synopsis of North American desmids. Part II. Desmidiaceae: Placodermae**. Section 4. University of Nebraska Press. 1982. 700p.

PRESTON, B. L. Indirect effects in aquatic ecotoxicology: Implications for ecological risk assessment. **Environmental Management**, v. 29, n. 3, p. 311–323, 2002.

RACKE, K. D. What Do We Know about the Fate of Pesticides in Tropical Ecosystems? **Environmental Fate and Effects of Pesticides**, v. 853, p. 96–123, 2003.

RAND, G. M.; WELLS, P. G. MCCARTY, S. L. **Introduction to aquatic toxicology**. In: RAND, G.M., PETROCELLI, S.R. **Fundamentals of aquatic toxicology: methods and application**. London, Hemisphere Publishing Corporation. p. 01-69, 1995.

REID, J. W. Chave de identificação e lista de referências bibliográficas para as espécies continentais de vida livre da ordem Ciclopoida (Crustacea-Copepoda). **Bol. Zool.** 9, 17-143, 1985.

RELYEA, R. A. The effects of pesticides, pH, and predatory stress on amphibians under mesocosm conditions. **Ecotoxicology**, v. 15, n. 6, p. 503–511, 2006.

RELYEA, R. A.; DIECKS, N., An unforeseen chain of events: lethal effects of pesticides on frogs at sublethal concentrations. **Ecological Applications**, 18, 1728–1742, 2008.

RELYEA, R.; HOVERMAN, J. Assessing the ecology in ecotoxicology: A review and synthesis in freshwater systems. **Ecology Letters**, v. 9, n. 10, p. 1157–1171, 2006.

REYNOLDS, C. S. et al. Towards a functional classification of the freshwater phytoplankton. **Journal of Plankton Research**, v. 24, n. 5, p. 417–428, 2002.

ROCHA, O.; MATSUMURA – TUNDISI, T. **Atlas do zooplâncton** (Represa do Broa, São Carlos) Vol. 1- Copepoda. Editora da Universidade Federal de São Carlos, 68 p. São Carlos. 1976.

ROHR, J. R.; KERBY, J. L.; SIH, A. Community ecology as a framework for predicting contaminant effects. **Trends in Ecology and Evolution**, v. 21, n. 11, p. 606–613, 2006.

ROJÍČKOVÁ-PADRTOVÁ, R.; MARŠÁLEK, B. Selection and sensitivity comparisons of algal species for toxicity testing. **Chemosphere**, 38 (14), p.3329-3338, 1999.

RÖMBKE, J.; GARCÍA, M. Assessment of Ecotoxicological effects of pesticides on the soil fauna and soil processes under tropical conditions. **Proceeding of German-Brazilian Workshop on Neotropical Ecosystems – Achievements and Prospects of Cooperative Research**, p. 543–549, 2000.

ROSENZWEIG, A. M. L.; MACARTHUR, R. H. The University of Chicago Graphical Representation and Stability Conditions of Predator-Prey Interactions. **The American Naturalist**, v. 97, n. 895, p. 209–223, 1963.

ROUND, F.E. **The biology of the algae**. London: Edward Arnold. 269p., 1965.

ROUND, F.E. **The taxonomy oh the Chlorophyta**, 2. European Journal of Phycology, 6(2), p.235-264, 1971.

RUBACH, M. N.; CRUM, S. J. H.; VAN DEN BRINK, P. J. Variability in the dynamics of mortality and immobility responses of freshwater arthropods exposed to chlorpyrifos. **Archives of Environmental Contamination and Toxicology**, v. 60, n. 4, p. 708–721, 2011.

SANDERSON, H. Pesticide studies: replicability of micro/mesocosms. **Environmental science and pollution research international**, v. 9, n. 6, p. 429–435, 2002.

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

SCHERER, C. et al. Interactive effects of xenobiotic, abiotic and biotic stressors on *Daphnia pulex*-Results from a multiple stressor experiment with a fractional multifactorial design. **Aquatic Toxicology**, v. 138-139, p. 105–115, 2013.

SCHMITT-JANSEN, M. et al. An ecological perspective in aquatic ecotoxicology: Approaches and challenges. **Basic and Applied Ecology**, v. 9, n. 4, p. 337–345, 2008.

SEELAND, A. et al. Life stage-specific effects of the fungicide pyrimethanil and temperature on the snail *Physella acuta* (Draparnaud, 1805) disclose the pitfalls for the

aquatic risk assessment under global climate change. **Environmental Pollution**, v. 174, p. 1–9, 2013.

SEELAND, A.; OEHLMANN, J.; MÜLLER, R. Aquatic ecotoxicity of the fungicide pyrimethanil: Effect profile under optimal and thermal stress conditions. **Environmental Pollution**, v. 168, p. 161–169, 2012.

SEGERS, H. **Rotifera** Volume 2: the Lecanidae (Monogononta). Guides to the identification of the microinvertebrates of the continental waters of the world, vol 6. SPB Academic Publishing, 223p., 1995.

SEGERS, H.; DUMONT, H. J. 102 + rotifer species (Rotifera: Monogononta) in Broa reservoir (SP, Brazil) on 26 August 1994, with description of three new species. **Hydrobiologia**, 316: 183-197, 1995

SERVIZI, J. A; GORDON, R. W.; MARTENS, D. W. Acute toxicity of Garlon 4 and Roundup herbicides to salmon, Daphnia, and trout. **Bulletin of environmental contamination and toxicology**, v. 39, n. 1, p. 15–22, 1987.

SILVA, J. M.; SANTOS, J. R. Toxicologia de agrotóxicos em ambientes aquáticos. **Oecologia Brasiliensis**, v. 11, n. 04, p. 565–573, 2007.

SOLOMON, K. R. et al. ECOLOGICAL RISK ASSESSMENT FOR AQUATIC ORGANISMS FROM OVER-WATER USES OF GLYPHOSATE The herbicide glyphosate is widely used in agriculture for the control of terrestrial weeds in agricultural , landscape , and household settings (Aspelin & Grube , 1999). **Journal of Toxicology and Environmental Health, part B.**, v. 6, n. January 2013, p. 289–324, 2003.

SPADOTTO, C. A.; GOMES, M. A. S.; **Impactos ambientais de agrotóxicos: Monitoramento e Avaliação.** In: ROMERO, A. R. (Org) Avaliação e contabilização de impactos ambientais, São Paulo: Editora Unicamp, p.112-122, Cap 6., 2004.

SPRAGUE, J.B. **Factors that modify toxicity.** In: RAND, G. M.; PETROCELLI, S. R. PETROCELLI, (eds.), *Fundamentals of aquatic toxicology: methods and applications.* Hemisphere, New York. 68p., 1985.

STERNER, R. W. On the phosphorus limitation paradigm for lakes. **International Review of Hydrobiology**, v. 93, n. 4-5, p. 433–445, 2008.

TAUB, F. B. Unique information contributed by multispecies systems: examples from the standardized aquatic microcosm. **Ecological Applications**, 7, p. 1103–1110. 1997.

TEIXEIRA, C., TUNDISI, J. G., KUTNER, M. B. Plankton studies in mangrove environmental. II. The standings stock and some ecological factors. **Boletim do instituto oceanográfico**, 24, p.23-41. 1965.

TER BRAAK, C. J. F.; ŠMILAURE, P. **Canoco Reference Manual and User's Guide: Software for Ordination** (version 5.0). 2012.

TIDOU, A. S., MORETEAU, J. C.; RAMADE, F. Effects of lindane and deltamethrin on zooplankton communities of experimental ponds. **Hydrobiologia**, 232, p. 157–168. 1992.

TILMAN, D.; KILHAM, S. S.; KILHAM, P. Phytoplankton Community Ecology: The Role of Limiting Nutrients. **Annual Review of Ecology and Systematics**, v. 13, n. 1, p. 349–372, 1982.

TOTH, S. J. **Federal Pesticide Laws and Regulations**. Southern Region Pesticide Impact Assessment Program. 4p. 1996.

TUROLLO JR., R. **Governo contraria a lei e libera agrotóxico mais nocivo à saúde**. Disponível em: < <http://www1.folha.uol.com.br/equilibrioesaude/2015/07/1650470-governo-contraria-a-lei-e-libera-agrotoxico-mais-nocivo-a-saude.shtml?cmpid=compfb>>. Acesso em: 05/09/2015.

UNITED STATES ENVIRONMENTAL PROTECTION AGENCY (US EPA). **Pesticides**. Disponível em: < <http://www.epa.gov/pesticides/>>. Acesso em: 10/07/2015.

UNITED STATES GEOLOGICAL SURVEY (USGS). **Annual Pesticide Use Maps**. Disponível em: <<http://water.usgs.gov/nawqa/pnsp/usage/maps/>>. Acesso em 10/07/2015.

UTERMÖHL, H. Zur vervollkommung der quatitativen phytoplankton: methodik. Mitteilungen **Internationale Vereinigung fur Theoretische und Angewandte Limnologie**, v. 9, p. 1-38, 1958.

VALARINI, P. J.; DE NARDO, E. A. B.; GOMES, M. A. F.; FERREIRA, C. J. A.; CASTRO, V. L. S. S. **Dinâmica e efeitos de agrotóxicos no meio ambiente**. In: FREIRE, F. C. O.; CARDOSO, J. E.; VIANA, F. M. P. (Ed.). Doenças em fruteiras tropicais de interesse agroindustrial. Brasília: Embrapa Informação Tecnológica, 2003. p. 625-687.

VAN DEN BRINK, P. J. et al. Effects of the insecticide Dursban® 4E (active ingredient chlorpyrifos) in outdoor experimental ditches: II. Invertebrate community responses and recovery. **Environmental Toxicology and Chemistry**, v. 15, n. 7, p. 1143–1153, 1996.

VAN DEN BRINK, P. J. HATTINK, J.; BRANSEN, F.; VAN DONK, E. BROCK, T. C. M. Impact of the fungicide carbendazim in freshwater microcosms. II. Zooplankton, primary producers and final conclusions. **Aquatic Toxicology**, v. 48, n. 2-3, p. 251–264, 2000.

VAN DEN BRINK, P. J. VAN DEN; BRAAK, C. J. F. TER. Principal Response Curves : Analysis of Time-Dependent Multivariate Responses of Biological Community To Stress. **Environmental Toxicology and Chemistry**, v. 18, n. 2, p. 138–148, 1999.

VAN GESTEL, C. A. M.; VAN STRAALEN N. M.; **Ecotoxicological test systems for terrestrial invertebrates**. In: DONKER, M. H.; EIJSACKERS, H.; HEIMBACH, F. *Ecotoxicology of soil organisms*. Lewis Publishers London Boca Raton., p.3-33, Cap 1. 1994.

VAN VLAARDINGEN, P. L. A.; TRAAS, T. P.; WINTERSEN, A. M.; ALDENBERG, T. A Program to Calculate Hazardous Concentrations and Fraction Affected, Based on Normally Distributed Toxicity Data. **RIVM report** 601501028. 68P. 2004.

VAN VLAARDINGEN, P.; TRAAS, T. P.; ALDENBERG, T. ETX2.0 - **Normal distribution based hazardous concentration and fraction affected**. RVIM, Bilthoven, The Netherlands, 2004.

VAN WIJNGAARDEN, R. P. A et al. Ordination techniques for analysing response of biological communities to toxic stress in experimental ecosystems. **Ecotoxicology**, v. 4, n. 1, p. 61–77, 1995.

VAN WIJNGAARDEN, R. P. A; BROCK, T. C. M.; DOUGLAS, M. T. Effects of chlorpyrifos in freshwater model ecosystems: The influence of experimental conditions on ecotoxicological thresholds. **Pest Management Science**, v. 61, n. 10, p. 923–935, 2005.

VAN WINJGAARDEN; R. P. A.; VAN DEN BRINK, P. J.; OUDE VOSHAAR, J. H.; LEEUWANGH, P. Ordination techniques for analysing response of biological communities to toxic stress in experimental ecosystems. **Ecotoxicology**, 4, p. 61-77, 1995.

VERDISSON, S.; COUDERCHET, M.; VERNET, G. E Effects of procymidone, fludioxonil and pyrimethanil on two non-target aquatic plants. **Growth (Lakeland)**, v. 44, p. 467–474, 2001.

WEBER, C.I. Plankton. *In*: National environmental research center ffice of research and development U.S. Environmental Protection Agency Cincinnati. **Biological field and laboratory methods for measuring the quality of surface water and effluents**. P. 1- 17, 1973.

WOIN, P. Short- and long-term effects of the pyrethroid insecticide fenvalerate on an invertebrate pond community. **Ecotoxicol. Environ. Saf.**, 41, p. 137–156, 1998.

ZAGATTO, P. A.; BERTOLETTI, E. (EDS). *Ecotoxicologia aquática: princípios e aplicações*. São Carlos: RiMa Editora, 2006.

APÊNDICE A

Tabela 1: Valores médios de pH e oxigênio dissolvido (mg.L^{-1}) obtidos nos tratamentos controle (C1, C2 e C3) e contaminados com pyrimethanil (P1, P2 e P3) nos experimentos em mesocosmos de acordo com a data de amostragem e o número de dias a partir da contaminação.

Data	Dias	pH						Oxigênio dissolvido (mg.L^{-1})					
		C1	C2	C3	P1	P2	P3	C1	C2	C3	P1	P2	P3
17/10/2012	1	4,24	5,02	5,19	5,16	5,45	5,27	7,35	8,60	7,82	7,57	7,71	7,57
18/10/2012	2	6,23	7,38	6,83	6,27	5,71	5,76	6,83	9,33	7,49	6,74	7,79	7,32
19/10/2012	3	4,58	4,40	4,73	4,83	4,65	4,87	7,51	8,85	8,16	8,23	8,38	8,15
20/10/2012	4	5,10	4,79	4,79	4,84	4,80	4,90	9,08	10,07	9,54	9,49	9,64	9,51
23/10/2012	7	7,22	6,44	6,26	6,94	6,79	7,18	8,13	9,05	8,77	8,74	9,02	8,82
26/10/2012	10	5,52	7,29	5,96	4,97	5,36	5,12	7,75	8,26	7,72	7,79	7,89	7,71
29/10/2012	13	5,15	6,87	5,78	5,38	5,07	4,93	8,20	8,57	8,08	7,88	8,28	8,11
01/11/2012	16	5,48	5,48	5,26	5,04	4,91	4,90	7,93	8,43	8,08	8,18	8,24	8,15
06/11/2012	21	5,89	5,85	5,89	5,66	5,29	5,36	8,61	9,12	8,72	8,95	8,93	8,91
12/11/2012	27	4,91	4,66	4,93	4,51	4,83	4,99	7,95	8,13	8,02	7,89	8,07	7,98
26/11/2012	41	5,08	4,69	5,65	4,97	4,71	4,78	7,27	7,41	7,24	7,28	7,17	7,25
10/12/2012	56	5,42	5,44	5,56	5,08	5,06	5,05	6,11	6,33	6,07	6,14	6,08	6,07
11/01/2013	88	4,80	4,69	5,00	4,62	4,57	4,63	7,34	7,44	7,24	7,13	6,76	7,22
15/02/2013	123	4,51	4,41	4,92	4,66	4,56	5,01	6,54	6,57	6,55	6,48	6,42	6,56
15/03/2013	152	6,12	5,40	4,97	4,87	5,92	5,09	6,64	6,55	6,52	6,58	6,65	6,48
18/04/2013	186	5,00	5,86	5,59	5,78	7,06	6,17	8,28	8,37	8,28	8,59	8,55	8,38
15/05/2013	213	5,41	5,45	5,76	5,70	7,94	7,30	6,99	6,91	6,69	6,64	6,89	6,62
17/06/2013	246	5,62	5,65	5,30	5,51	6,12	5,67	7,31	7,41	7,08	7,24	7,38	7,23
16/07/2013	275	4,85	6,54	5,11	5,10	6,25	5,37	7,60	7,93	7,60	7,76	8,10	7,86
12/08/2013	302	5,08	6,53	4,95	4,86	6,33	5,83	7,90	8,29	7,95	7,97	8,29	8,09
16/09/2013	337	4,55	6,26	4,87	4,96	6,75	5,42	6,84	7,16	6,85	6,91	7,08	6,77
15/10/2013	366	4,19	6,83	4,48	5,27	4,22	5,78	6,60	7,18	6,71	6,99	6,80	6,76

Tabela 2: Valores médios da condutividade (mS/cm²) e temperatura (°C) obtidos nos tratamentos controle (C1, C2 e C3) e contaminados com pyrimethanil (P1, P2 e P3) nos experimentos em mesocosmos de acordo com a data de amostragem e o número de dias a partir da contaminação.

Data	Dias	Condutividade (mS/cm ²)						Temperatura (°C)					
		C1	C2	C3	P1	P2	P3	C1	C2	C3	P1	P2	P3
17/10/2012	1	0,022	0,020	0,026	0,020	0,023	0,022	22,00	21,13	21,90	21,90	21,83	22,00
18/10/2012	2	0,021	0,022	0,026	0,021	0,023	0,023	22,93	21,70	22,63	22,60	22,33	22,83
19/10/2012	3	0,015	0,023	0,020	0,015	0,018	0,017	26,70	24,93	26,67	26,53	25,63	26,73
20/10/2012	4	0,017	0,018	0,020	0,015	0,018	0,017	23,13	22,10	23,07	23,10	22,90	23,30
23/10/2012	7	0,019	0,016	0,020	0,015	0,018	0,018	25,50	23,70	24,90	24,97	24,50	25,10
26/10/2012	10	0,017	0,024	0,023	0,017	0,020	0,020	26,10	24,90	26,13	26,10	25,80	26,23
29/10/2012	13	0,016	0,020	0,024	0,017	0,021	0,019	25,07	24,03	25,30	25,00	24,87	25,30
01/11/2012	16	0,017	0,021	0,025	0,015	0,021	0,019	25,23	24,23	25,30	25,10	25,00	25,30
06/11/2012	21	0,016	0,022	0,024	0,014	0,022	0,018	23,30	22,30	23,60	23,17	23,30	23,40
12/11/2012	27	0,011	0,014	0,018	0,012	0,014	0,014	26,00	24,70	25,90	25,77	25,83	26,07
26/11/2012	41	0,012	0,015	0,020	0,014	0,014	0,016	22,30	21,80	22,30	22,20	22,50	22,30
10/12/2012	56	0,013	0,014	0,020	0,016	0,015	0,015	26,90	26,03	26,97	27,00	26,97	27,10
11/01/2013	88	0,013	0,010	0,018	0,013	0,015	0,012	22,30	22,03	22,70	22,53	23,00	22,43
15/02/2013	123	0,010	0,009	0,015	0,011	0,007	0,013	25,23	24,93	24,90	25,10	25,53	25,93
15/03/2013	152	0,010	0,008	0,011	0,010	0,010	0,006	24,40	24,57	24,73	24,60	24,43	25,07
18/04/2013	186	0,010	0,010	0,006	0,008	0,010	0,006	19,53	19,47	19,80	18,63	19,30	19,80
15/05/2013	213	0,012	0,014	0,007	0,009	0,013	0,009	22,70	22,53	23,00	22,63	22,57	23,17
17/06/2013	246	0,009	0,010	0,006	0,006	0,007	0,007	19,17	19,07	19,30	19,40	18,80	19,43
16/07/2013	275	0,009	0,010	0,008	0,005	0,007	0,007	17,40	17,10	17,60	17,50	16,93	17,70
12/08/2013	302	0,011	0,012	0,010	0,007	0,009	0,008	15,70	15,63	15,83	16,03	15,57	15,90
16/09/2013	337	0,015	0,018	0,014	0,013	0,013	0,011	21,37	21,00	21,70	21,37	21,00	21,83
15/10/2013	366	0,013	0,019	0,014	0,012	0,016	0,010	23,77	23,27	24,07	23,57	23,17	24,23

Tabela 3: Valores médios da turbidez (NTU) obtidos nos tratamentos controle (C1, C2 e C3) e contaminados com pyrimethanil (P1, P2 e P3) nos experimentos em mesocosmos de acordo com a data de amostragem e o número de dias a partir da contaminação.

Data	Dias	Turbidez (NTU)					
		C1	C2	C3	P1	P2	P3
17/10/2012	1	8	69	9	14	33	12
18/10/2012	2	5	68	8	11	34	11
19/10/2012	3	7	77	10	10	36	12
20/10/2012	4	7	81	10	12	37	14
23/10/2012	7	5	84	9	12	42	9
26/10/2012	10	5	80	10	10	43	9
29/10/2012	13	7	80	9	11	56	23
01/11/2012	16	7	81	9	11	44	12
06/11/2012	21	7	76	7	9	30	10
12/11/2012	27	10	76	10	14	20	11
26/11/2012	41	12	79	13	15	17	9
10/12/2012	56	15	81	15	17	16	8
11/01/2013	88	9	77	26	15	24	11
15/02/2013	123	9	32	34	14	30	5
15/03/2013	152	27	17	6	14	8	48
18/04/2013	186	19	24	4	29	52	6
15/05/2013	213	14	22	3	21	50	4
17/06/2013	246	18	32	10	17	61	7
16/07/2013	275	14	32	7	14	58	5
12/08/2013	302	12	33	2	11	52	3
16/09/2013	337	12	64	3	21	102	3
15/10/2013	366	24	48	8	27	60	10

Tabela 4: Valores médios do nitrogênio total (mg.L^{-1}) e nitrito (NO_2) em $\mu\text{g.L}^{-1}$, obtidos nos tratamentos controle (C1, C2 e C3) e contaminados com pyrimethanil (P1, P2 e P3) nos experimentos em mesocosmos de acordo com a data de amostragem e o número de dias a partir da contaminação.

Data	Dias	Nitrogênio Total (mg.L^{-1})						Nitrito (NO_2) $\mu\text{g.L}^{-1}$					
		C1	C2	C3	P1	P2	P3	C1	C2	C3	P1	P2	P3
01/10/2012	-14	0,33	0,42	0,37	0,33	0,33	0,42	5,17	7,82	3,21	7,57	5,57	4,44
04/10/2012	-11	0,42	0,47	0,47	0,28	0,42	0,93	4,70	7,00	2,82	4,62	2,57	3,11
08/10/2012	-7	0,51	0,93	0,33	0,37	0,33	0,37	3,96	5,90	4,53	6,01	4,34	2,91
11/10/2012	-4	0,37	0,47	0,47	0,84	0,56	0,85	2,81	6,36	2,70	3,40	5,28	2,71
15/10/2012	0	0,23	0,33	0,33	0,23	0,33	0,33	1,97	7,07	2,68	3,55	6,37	2,37
17/10/2012	1	0,23	0,84	0,23	0,23	0,33	0,33	2,51	6,87	2,24	3,10	6,23	1,98
19/10/2012	3	0,37	0,75	0,37	0,33	0,75	0,37	1,50	6,97	2,20	2,76	6,88	1,59
20/10/2012	4	0,23	0,33	0,23	0,28	0,23	0,23	2,14	5,15	2,54	4,48	6,59	1,71
23/10/2012	7	0,14	1,03	0,37	0,42	0,75	0,14	8,42	5,08	2,23	3,07	7,03	1,71
26/10/2012	10	0,37	0,42	0,33	0,28	0,42	0,37	1,31	3,74	1,60	2,53	5,59	1,90
29/10/2012	13	0,51	0,47	0,37	0,19	0,37	0,37	1,78	5,64	2,06	3,40	5,66	2,12
01/11/2012	16	0,51	1,45	0,33	0,51	0,98	0,51	1,49	5,14	1,71	3,54	3,68	1,93
06/11/2012	21	0,37	0,51	0,23	0,37	0,93	0,61	1,17	7,89	1,91	3,10	4,33	1,56
12/11/2012	27	0,09	1,45	0,18	0,46	0,32	0,42	2,45	7,22	2,22	3,32	2,75	1,84
26/11/2012	41	0,65	0,89	0,47	0,37	0,47	0,56	1,49	3,72	1,73	3,03	3,12	1,88
10/12/2012	56	0,51	0,93	0,42	0,47	1,12	0,79	3,04	4,59	1,98	2,91	3,47	1,82
11/01/2013	88	0,09	2,00	0,61	0,23	0,93	0,33	1,73	2,39	13,03	1,26	1,98	2,86
15/02/2013	123	0,33	0,65	0,70	0,61	0,33	0,33	1,39	2,21	2,91	2,31	4,08	2,04
15/03/2013	152	0,70	1,31	0,70	0,42	0,51	0,84	4,45	2,10	2,37	3,64	7,16	3,23
18/04/2013	186	0,47	0,93	0,42	0,28	0,70	0,28	2,34	2,89	1,97	4,06	24,17	1,98
15/05/2013	213	0,70	0,98	0,42	0,70	1,17	0,28	4,86	4,80	1,87	4,63	5,25	2,42
17/06/2013	246	0,56	0,93	0,37	1,03	1,17	0,28	2,00	4,12	1,06	3,65	11,47	1,51
16/07/2013	275	0,37	0,37	0,42	0,33	1,21	0,23	1,41	4,48	0,98	2,45	14,03	1,45
12/08/2013	302	0,47	0,98	0,84	0,79	1,12	0,23	6,28	16,27	2,17	4,12	3,38	3,24
16/09/2013	337	0,37	1,07	0,23	0,51	1,63	0,79	2,22	12,20	1,63	3,36	6,93	1,06
15/10/2013	366	0,28	1,21	0,47	0,56	0,47	0,47	7,77	5,30	4,13	9,10	3,46	2,46

Tabela 5: Valores médios do nitrato (NO_3) íon amônio (NH_4^+) em $\mu\text{g.L}^{-1}$, obtidos nos tratamentos controle (C1, C2 e C3) e contaminados com pyrimethanil (P1, P2 e P3) nos experimentos em mesocosmos de acordo com a data de amostragem e o número de dias a partir da contaminação.

Data	Dias	Nitrato (NO_3) $\mu\text{g.L}^{-1}$						Íon amônio (NH_4^+) $\mu\text{g.L}^{-1}$					
		C1	C2	C3	P1	P2	P3	C1	C2	C3	P1	P2	P3
01/10/2012	-14	167,73	129,76	194,26	1161,60	180,79	205,05	84,99	52,22	82,89	535,76	58,98	74,47
04/10/2012	-11	42,50	157,21	55,61	88,68	72,16	55,75	95,62	106,57	111,20	134,98	78,29	106,85
08/10/2012	-7	51,34	54,84	54,43	114,95	64,90	51,84	48,80	39,56	64,48	238,56	34,77	41,40
11/10/2012	-4	9,44	128,36	106,52	125,95	21,56	55,71	109,21	157,14	105,00	134,57	76,00	95,48
15/10/2012	0	20,06	52,97	176,22	113,96	59,88	110,95	46,90	38,41	43,05	53,04	38,95	36,99
17/10/2012	1	52,89	26,00	20,56	20,73	42,68	30,89	44,84	40,02	23,96	38,38	45,15	45,28
19/10/2012	3	432,30	161,45	104,90	119,80	126,96	120,90	12,42	8,37	2,28	3,93	3,56	2,77
20/10/2012	4	62,67	19,68	193,04	107,94	85,33	105,86	35,81	44,58	69,12	36,63	33,21	21,33
23/10/2012	7	110,57	63,03	52,29	156,07	104,71	64,34	7,17	42,48	3,09	6,19	7,64	33,68
26/10/2012	10	130,21	58,19	52,72	64,18	52,64	59,10	11,02	5,32	3,10	3,22	4,25	4,94
29/10/2012	13	132,78	27,22	40,77	31,43	22,02	28,21	45,90	25,93	22,29	18,19	20,19	43,87
01/11/2012	16	175,24	105,38	364,69	2583,50	261,80	1508,30	14,77	4,78	45,44	3,32	7,67	2,12
06/11/2012	21	218,59	197,49	802,98	312,17	123,03	158,19	33,47	7,43	20,21	10,97	10,33	3,09
12/11/2012	27	1734,00	2367,90	2049,80	1025,70	1664,40	2049,80	2,75	13,72	7,92	1,82	3,01	2,65
26/11/2012	41	394,25	123,61	161,66	208,27	215,49	518,85	26,02	45,28	87,52	30,12	24,56	165,09
10/12/2012	56	1358,00	319,53	155,71	1260,10	45,27	261,30	438,06	23,96	27,24	27,15	10,38	9,91
11/01/2013	88	74,41	107,70	156,44	626,87	175,01	89,93	140,45	34,77	63,41	402,88	112,88	67,94
15/02/2013	123	833,78	145,59	364,53	41,79	143,94	103,74	574,38	106,28	153,18	31,96	42,18	41,84
15/03/2013	152	336,18	106,00	127,99	50,27	469,33	452,50	81,10	62,68	48,88	62,13	70,72	66,66
18/04/2013	186	1329,00	1158,50	698,69	74,72	728,91	240,72	1242,00	297,69	138,74	977,89	414,76	49,43
15/05/2013	213	10860,00	10432,00	7983,00	10570,00	10644,00	11245,00	35,42	42,31	39,96	58,81	33,06	41,80
17/06/2013	246	1013,50	735,90	1000,70	711,56	3186,70	10616,00	2314,50	87,50	36,52	47,08	406,83	71,83
16/07/2013	275	421,96	206,35	62,50	47,02	235,79	21,06	214,78	62,31	30,96	27,86	38,23	21,23
12/08/2013	302	5,30	911,97	4,07	3,85	58,78	5,38	35,63	188,10	183,49	44,44	49,32	183,75
16/09/2013	337	300,16	1375,70	135,47	313,34	2075,70	58,49	61,92	46,90	38,91	35,27	231,97	25,11
15/10/2013	366	1413,70	146,63	1103,40	1100,10	1930,50	243,17	27,32	65,16	26,49	41,69	430,01	38,34

Tabela 6: Valores médios do fósforo total (mg.L^{-1}) e fosfato inorgânico ($\mu\text{g.L}^{-1}$), obtidos nos tratamentos controle (C1, C2 e C3) e contaminados com pyrimethanil (P1, P2 e P3) nos experimentos em mesocosmos de acordo com a data de amostragem e o número de dias a partir da contaminação.

Data	Dias	Fósforo total (mg.L^{-1})						Fosfato inorgânico ($\mu\text{g.L}^{-1}$)					
		C1	C2	C3	P1	P2	P3	C1	C2	C3	P1	P2	P3
01/10/2012	-14	89,38	74,80	49,13	53,21	93,85	47,19	10,97	16,13	5,11	16,11	11,88	6,51
04/10/2012	-11	79,98	118,02	74,20	65,83	75,59	64,08	6,56	8,81	3,69	5,93	3,60	6,70
08/10/2012	-7	74,99	112,13	27,55	89,19	109,21	68,19	4,55	14,74	9,12	15,91	8,68	2,55
11/10/2012	-4	82,95	116,18	62,92	67,73	91,94	60,88	5,28	10,72	2,89	4,90	10,15	11,97
15/10/2012	0	85,18	85,89	152,53	99,80	149,38	74,11	0,90	10,54	4,26	4,87	1,56	3,84
17/10/2012	1	122,59	170,21	189,79	99,92	152,20	188,81	6,50	11,03	4,39	5,76	9,42	5,85
19/10/2012	3	146,49	231,48	210,69	146,29	189,48	167,08	7,19	13,57	6,40	8,33	12,46	3,37
20/10/2012	4	33,16	112,20	47,73	40,82	54,56	76,72	8,48	18,42	11,13	11,38	14,53	7,24
23/10/2012	7	101,24	298,62	103,96	166,89	168,27	102,99	2,38	6,67	5,47	5,50	11,98	4,44
26/10/2012	10	174,90	199,23	203,15	164,05	202,24	145,70	4,23	5,37	2,11	1,56	6,79	4,98
29/10/2012	13	38,53	-	48,59	41,17	90,43	73,10	10,63	17,15	5,61	10,05	15,18	7,13
01/11/2012	16	138,02	249,93	180,71	205,25	198,66	143,09	2,14	11,39	5,55	3,01	6,02	2,10
06/11/2012	21	429,46	230,74	115,63	61,57	244,16	33,96	3,37	9,78	4,32	5,33	11,39	1,84
12/11/2012	27	336,95	679,32	852,57	77,32	504,32	60,80	3,40	10,96	4,16	4,93	3,44	5,89
26/11/2012	41	92,72	92,88	51,48	51,39	72,85	52,44	4,49	7,61	3,80	6,45	5,70	3,84
10/12/2012	56	64,54	111,55	45,10	45,20	64,32	51,39	5,41	4,84	3,27	5,97	5,48	1,28
11/01/2013	88	44,65	101,40	73,22	49,22	76,01	42,84	9,66	5,25	16,67	7,83	14,62	9,21
15/02/2013	123	64,17	78,32	80,22	38,95	106,21	62,69	3,03	4,61	4,47	5,71	8,46	5,54
15/03/2013	152	81,11	76,95	50,31	66,13	118,52	62,95	5,45	3,35	1,75	6,24	6,47	4,85
18/04/2013	186	65,07	73,63	37,07	85,69	124,38	51,46	2,75	4,32	1,26	3,11	2,52	4,32
15/05/2013	213	59,82	92,30	34,74	64,49	144,60	40,96	12,42	6,42	2,57	7,31	9,01	2,87
17/06/2013	246	64,88	80,24	34,35	66,05	79,27	35,13	1,51	4,69	1,50	1,81	2,36	2,06
16/07/2013	275	92,62	92,74	38,83	73,42	174,66	71,65	3,60	2,04	2,38	5,06	4,87	3,68
12/08/2013	302	93,27	111,28	74,97	97,10	167,12	59,48	9,64	6,29	3,88	6,14	4,78	6,79
16/09/2013	337	86,45	141,96	55,51	74,26	200,44	95,29	6,47	41,47	5,84	16,99	10,07	3,13
15/10/2013	366	105,71	114,85	44,07	107,66	185,63	59,24	4,69	2,50	3,76	2,60	11,65	7,32

Tabela 7: Valores médios do fosfato total dissolvido ($\mu\text{g.L}^{-1}$) e silicato reativo (SiO_2) em $\mu\text{g.L}^{-1}$, obtidos nos tratamentos controle (C1, C2 e C3) e contaminados com pyrimethanil (P1, P2 e P3) nos experimentos em mesocosmos de acordo com a data de amostragem e o número de dias a partir da contaminação.

Data	Dias	Fosfato total dissolvido ($\mu\text{g.L}^{-1}$)						Silicato reativo (SiO_2) mg.L^{-1}					
		C1	C2	C3	P1	P2	P3	C1	C2	C3	P1	P2	P3
01/10/2012	-14	23,03	29,36	16,25	24,32	24,05	16,25	0,67	0,80	0,50	0,61	0,65	0,62
04/10/2012	-11	16,01	20,90	15,51	14,52	12,85	14,54	0,43	0,54	0,34	0,39	0,32	0,32
08/10/2012	-7	19,71	32,40	18,70	28,42	19,51	18,59	0,60	0,92	0,69	0,61	0,72	0,58
11/10/2012	-4	16,40	22,35	15,16	15,80	17,87	25,93	0,35	0,59	0,33	0,37	0,50	0,31
15/10/2012	0	15,77	20,94	13,57	12,81	15,69	11,91	0,97	2,86	1,33	1,25	1,35	1,06
17/10/2012	1	19,40	21,33	16,42	20,49	21,18	23,32	1,17	2,75	1,39	1,36	1,55	1,24
19/10/2012	3	15,49	19,08	15,27	18,91	21,61	13,56	0,99	2,89	1,19	1,52	1,45	1,03
20/10/2012	4	14,57	21,24	18,76	18,54	21,53	14,90	0,58	1,35	0,59	0,59	0,72	0,59
23/10/2012	7	13,01	15,79	18,14	16,46	18,52	13,57	1,44	2,93	1,14	1,20	1,63	1,14
26/10/2012	10	9,61	14,27	12,21	15,21	15,34	17,94	1,28	2,77	1,06	1,17	1,46	1,06
29/10/2012	13	18,54	14,00	12,60	15,16	15,50	14,86	0,58	1,47	0,59	0,73	0,74	0,59
01/11/2012	16	14,81	18,84	16,25	21,35	19,11	16,78	0,88	2,79	1,02	1,00	1,44	0,97
06/11/2012	21	9,94	16,79	13,50	13,22	21,89	12,22	0,65	2,72	0,62	1,13	1,29	1,00
12/11/2012	27	14,74	21,15	14,37	19,53	16,64	15,69	0,55	1,06	0,53	1,01	0,76	0,65
26/11/2012	41	8,40	9,86	9,12	9,64	9,21	8,80	0,26	0,33	0,23	0,38	0,37	0,26
10/12/2012	56	8,97	8,86	8,48	9,35	9,32	10,23	0,26	0,35	0,24	0,30	0,38	0,30
11/01/2013	88	15,92	11,58	21,02	19,94	31,76	17,89	1,65	2,17	2,27	1,07	1,71	1,41
15/02/2013	123	15,82	19,81	14,20	16,24	19,25	18,56	1,81	2,11	2,31	2,49	3,80	1,53
15/03/2013	152	14,00	17,37	13,86	18,44	15,53	14,89	2,97	2,89	2,37	2,96	2,77	1,08
18/04/2013	186	15,30	20,56	15,39	14,07	17,36	17,14	1,14	1,51	1,32	3,07	4,47	2,00
15/05/2013	213	28,44	23,38	20,33	20,82	22,38	12,67	0,15	0,62	0,03	0,16	0,15	0,14
17/06/2013	246	17,18	21,74	15,08	20,03	16,35	16,61	2,38	3,06	0,16	3,36	0,52	0,15
16/07/2013	275	11,58	14,12	14,12	13,30	14,57	13,26	0,79	0,82	0,77	0,87	0,93	0,82
12/08/2013	302	17,26	19,67	13,91	17,85	20,12	16,50	0,61	0,56	0,54	0,64	0,55	0,59
16/09/2013	337	23,43	69,14	14,63	38,27	28,53	17,03	0,98	0,71	0,81	0,83	0,56	0,96
15/10/2013	366	15,49	16,36	11,22	13,22	35,71	25,43	0,53	0,72	0,44	0,53	0,46	0,66

Tabela 8: Valores referentes ao monitoramento das variáveis climáticas: temperaturas do ar máximas, mínimas e médias (°C), evaporação (mm), precipitação (mm) e radiação solar (cal/cm²/dia) para o período de estudo.

Data	Dias	Temperatura do Ar (°C)			Evaporação (mm)	Precipitação (mm)	Rad.Solar cal/cm ² /dia
		Máxima	Minima	Media			
01/10/2012	-14	32,80	15,50	24,15	3,78	0,00	471,62
04/10/2012	-11	33,93	16,43	25,18	3,91	0,00	445,00
08/10/2012	-7	33,23	18,03	25,63	4,54	1,08	409,54
11/10/2012	-4	32,73	18,27	25,50	5,36	0,00	440,73
15/10/2012	0	23,83	15,35	19,59	5,40	3,08	290,90
17/10/2012	1	29,30	16,40	22,85	4,08	0,00	410,41
18/10/2012	2	27,00	16,20	21,60	3,11	25,80	310,72
19/10/2012	3	31,30	16,70	24,00	4,00	0,00	469,88
20/10/2012	4	30,30	19,40	24,85	4,03	0,00	387,68
23/10/2012	7	32,60	18,60	25,60	3,19	0,70	437,42
26/10/2012	10	31,60	19,80	25,70	4,21	15,17	341,23
29/10/2012	13	34,73	19,40	27,07	4,30	5,73	389,43
01/11/2012	16	34,67	19,27	26,97	4,48	3,73	409,44
06/11/2012	21	30,38	17,22	23,80	5,47	4,60	416,36
12/11/2012	27	29,00	19,08	24,04	4,13	6,37	375,88
26/11/2012	41	29,30	16,10	22,70	5,38	1,81	416,99
10/12/2012	56	32,65	19,69	26,17	5,08	3,31	480,72
11/01/2013	88	30,70	19,88	25,29	4,48	9,46	398,35
15/02/2013	123	28,57	18,42	23,49	3,73	9,09	358,60
15/03/2013	152	31,37	18,45	24,91	4,27	6,07	398,34
18/04/2013	186	27,26	17,45	22,35	3,62	4,05	313,07
15/05/2013	213	27,67	12,41	20,04	3,58	0,00	327,54
17/06/2013	246	25,20	13,43	19,31	2,93	5,28	221,09
16/07/2013	275	24,94	12,75	18,84	2,17	1,87	214,42
12/08/2013	302	25,50	10,65	18,07	2,78	0,42	272,52
16/09/2013	337	27,61	11,55	19,58	3,72	0,29	342,01
15/10/2013	366	27,19	15,32	21,26	3,98	5,89	316,13

Tabela 9: Classificação do Índice de estado trófico em função da concentração de fósforo total e suas características principais comparadas às condições saudáveis (Modificado de ANA, 2015).

Valor do IET	Classes de Estado Trófico	Características
47	Ultraoligotrófico	Corpos d'água limpos, de produtividade muito baixa e concentrações insignificantes de nutrientes que não acarretam em prejuízos aos usos da água.
47 < IET = 52	Oligotrófico	Corpos d'água limpos, de baixa produtividade, em que não ocorrem interferências indesejáveis sobre os usos da água, decorrentes da presença de nutrientes.
52 < IET = 59	Mesotrófico	Corpos d'água com produtividade intermediária, com possíveis implicações sobre a qualidade da água, mas em níveis aceitáveis, na maioria dos casos.
59 < IET = 63	Eutrófico	Corpos d'água com alta produtividade em relação às condições naturais.
63 < IET = 67	Supereutrófico	Corpos d'água com alta produtividade em relação às condições naturais, de baixa transparência.
> 67	Hipereutrófico	Corpos d'água afetados significativamente pelas elevadas concentrações de matéria orgânica e nutrientes, com comprometimento acentuado.

APÊNDICE B

Tabela 1: Resultados dos seis testes de toxicidade aguda (48h) com *Ceriodaphnia silvestrii* expressa mg.L⁻¹ de pyrimethanil.

Tratamento	Variáveis iniciais				Imobilidade					Efeito	Variáveis finais	
	pH	OD (mg.L ⁻¹)	Condutividade (µS/cm)	Dureza (mg CaCO ₃ .L ⁻¹)	1	2	3	4	Total	%	pH	OD (mg.L ⁻¹)
Controle	7,47	6,92	169,6	44	0	0	0	0	0/20	0	7,71	7,24
0,5 mg.L ⁻¹	7,51	7,06	191,1	44	0	0	0	0	0/20	0	7,69	7,32
1	7,57	7,09	150,2	44	0	0	0	0	0/20	0	7,68	7,24
2	7,49	7,04	149,6	44	0	0	0	1	1/20	5	7,64	7,24
3	7,51	7,05	149,8	44	1	2	3	1	7/20	35	7,66	7,26
4	7,53	7,03	149,3	44	5	5	5	5	20/20	100	7,64	7,28
8	7,51	7,03	149,6	44	5	5	5	5	20/20	100	7,67	7,28
16	7,5	7	150,1	44	5	5	5	5	20/20	100	7,67	7,24
Resultados (mg.L ⁻¹)												
CL 50:48h: 3,151				Intervalo de confiança 95%: 2,977-3,092								

Tratamento	Variáveis iniciais				Imobilidade					Efeito	Variáveis finais	
	pH	OD (mg.L ⁻¹)	Condutividade (µS/cm)	Dureza (mg CaCO ₃ .L ⁻¹)	1	2	3	4	Total	%	pH	OD (mg.L ⁻¹)
Controle	7,6	7,47	328	44	0	0	0	0	0/20	0	7,68	7,3
1 mg.L ⁻¹	7,58	7,42	150	44	0	0	0	0	0/20	0	7,66	7,25
2	7,52	7,44	152,5	44	0	0	0	0	0/20	0	7,62	7,28
3	7,53	7,48	151,9	44	2	1	1	2	6/20	30	7,63	7,24
4	7,54	7,48	150,7	44	4	5	5	4	18/20	70	7,63	7,24
5	7,54	7,5	150,9	44	5	5	5	5	20/20	90	7,68	7,25
6	7,54	7,49	150,9	44	5	5	5	5	20/20	100	7,65	7,22
Resultados (mg.L ⁻¹)												
CL 50:48h: 3,247				Intervalo de confiança 95%: 3,019-3,492								

Tratamento	Variáveis iniciais				Imobilidade					Efeito	Variáveis finais	
	pH	OD (mg.L ⁻¹)	Condutividade (µS/cm)	Dureza (mg CaCO ₃ .L ⁻¹)	1	2	3	4	Total	%	pH	OD (mg.L ⁻¹)
Controle	7,55	7,3	265	44	0	0	1	0	1/20	5	7,69	7,34
1 mg.L ⁻¹	7,5	7,32	150,6	44	0	0	0	1	1/20	5	7,66	7,35
2	7,49	7,36	150,8	44	1	0	0	0	1/20	5	7,6	7,37
3	7,51	7,33	149,8	44	1	2	2	2	7/20	35	7,61	7,38
4	7,5	7,33	149,9	44	5	4	4	4	17/20	85	7,59	7,37
6	7,48	7,36	149,6	44	4	5	5	5	19/20	95	7,59	7,36
8	7,47	7,34	148,6	44	5	5	5	5	20/20	100	7,61	7,39
10	7,48	7,37	149,4	44	5	5	5	5	20/20	100	7,6	7,39
12	7,46	7,36	148,1	44	5	5	5	5	20/20	100	7,54	7,35
Resultados (mg.L ⁻¹)												
CL 50:48h: 3,31				Intervalo de confiança 95%: 2,947-3,717								

Tratamento	Variáveis iniciais				Imobilidade					Efeito	Variáveis finais	
	pH	OD (mg.L ⁻¹)	Condutividade (µS/cm)	Dureza (mg CaCO ₃ .L ⁻¹)	1	2	3	4	Total	%	pH	OD (mg.L ⁻¹)
Controle	7,73	6,92	382	44	0	0	0	0	0/20	0	7,7	7,03
1 mg.L ⁻¹	7,76	6,91	159,7	44	0	0	1	0	1/20	5	7,71	7,01
2	7,75	6,92	150,8	44	0	0	1	0	1/20	5	7,69	7,01
3	7,73	6,93	149,8	44	2	2	1	2	7/20	35	7,66	7,02
4	7,71	6,98	151,1	44	3	5	5	4	17/20	85	7,68	7
6	7,72	6,96	151,7	44	5	5	5	5	20/20	100	7,7	6,94
8	7,73	7,02	151,1	44	5	5	5	5	20/20	100	7,69	6,95
10	7,71	7,03	149,4	44							7,69	6,94
Resultados (mg.L ⁻¹)												
CL 50:48h: 3,256				Intervalo de confiança 95%: 2,959-3,582								

Tratamento	Variáveis iniciais				Imobilidade					Efeito	Variáveis finais	
	pH	OD (mg.L ⁻¹)	Condutividade (µS/cm)	Dureza (mg CaCO ₃ .L ⁻¹)	1	2	3	4	Total	%	pH	OD (mg.L ⁻¹)
Controle	7,73	6,92	382	44	0	0	0	0	0/20	0	7,7	7,03
1 mg.L ⁻¹	7,76	6,91	159,7	44	0	0	0	0	0/20	0	7,71	7,01
2	7,75	6,92	150,8	44	0	0	0	0	0/20	0	7,69	7,01
3	7,72	6,94	150,4	44	2	1	2	2	7/20	35	7,69	7,01
4	7,71	6,98	151,1	44	4	3	3	4	14/20	70	7,68	7
6	7,72	6,96	151,7	44	5	5	5	5	20/20	100	7,7	6,94
8	7,73	7,02	151,1	44	5	5	5	5	20/20	100	7,69	6,95
10	7,71	7,03	149,4	44	5	5	5	5	20/20	100	7,69	6,94
Resultados (mg.L ⁻¹)												
CL 50:48h: 3,406			Intervalo de confiança 95%: 3,103-3,739									

Tratamento	Variáveis iniciais				Imobilidade					Efeito	Variáveis finais	
	pH	OD (mg.L ⁻¹)	Cond. (µScm)	Dureza (mg CaCO ₃ .L ⁻¹)	1	2	3	4	Total	%	pH	OD (mg.L ⁻¹)
Controle	7,73	6,92	382	44	0	0	0	1	1/20	5	7,7	7,03
1 mg.L ⁻¹	7,76	6,91	159,7	44	0	0	0	0	0/20	0	7,71	7,01
2	7,75	6,92	150,8	44	0	0	0	1	1/20	5	7,69	7,01
3	7,73	6,93	149,8	44	2	1	2	2	7/20	35	7,66	7,02
4	7,71	6,98	151,1	44	5	4	3	4	16/20	80	7,68	7
6	7,72	6,96	151,7	44	4	5	5	5	19/20	95	7,7	6,94
8	7,73	7,02	151,1	44	5	5	5	5	20/20	100	7,69	6,95
10	7,71	7,03	149,4	44	5	5	5	5	20/20	100	7,69	6,94
Resultados (mg.L ⁻¹)												
CL 50:48h: 3,332			Intervalo de confiança 95%: 2,967-3,742									

Tabela 2: Resultados dos dois testes de toxicidade crônica com *Ceriodaphnia silvestrii* expressa mg.L⁻¹ de pyrimethanil.

	Renovações	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	Variáveis Finais		
												pH	OD (mg.L ⁻¹)	Condutividade (µS/cm)
Controle	1 ^a	0	1	0	2	3	0	1	2	3	2	7,62	7,29	151
	2 ^a	6	6	11	5	7	10	13	10	5	12	7,71	7,16	172,4
	3 ^a	6	3	1	6	3	4	1	4	8	3	7,66	7,22	171,8
	Soma	12	10	12	13	13	14	15	16	16	17	7,39	7,11	166
0,25 mg.L ⁻¹	1 ^a	0	2	3	0	0	0	7	0	1	3	7,63	7,19	151,4
	2 ^a	3	6	4	4	3	5	2	10	7	9	7,71	7,2	171,4
	3 ^a	4	0	2	5	6	4	1	1	5	3	7,6	7,23	172
	Soma	7	8	9	9	9	9	10	11	13	15	7,36	7,11	164,7
0,5 mg.L ⁻¹	1 ^a	0	0	0	3	0	0	0	0	0	0	7,62	7,22	150,2
	2 ^a	3	3	3	8	6	5	1	7	8	7	7,67	7,21	164,8
	3 ^a	2	3	4	1	1	3	7	2	3	5	7,58	7,2	163,4
	Soma	5	6	7	12	7	8	8	9	11	12	7,37	7,15	159,4
1 mg.L ⁻¹	1 ^a	0	0	2	0	2	0	2	0	0	0	7,6	7,18	151,2
	2 ^a	1	2	2	7	3	4	0	7	3	3	7,62	7,18	164
	3 ^a	1	1	-	1	0	2	4	3	4	4	7,62	7,07	162,1
	Soma	2	3	4	8	5	6	6	10	7	7	7,39	7,08	156,8
2 mg.L ⁻¹	1 ^a	0	0	-	0	0	0	0	0	0	0	7,62	7,22	150,1
	2 ^a	0	0	-	1	0	0	0	1	1	0	7,62	7,15	159,1
	3 ^a	0	0	-	0	0	0	0	0	0	1	7,62	7,07	158,7
	Soma	0	0	0	1	0	0	0	1	1	1	7,35	7,05	155,4
3 mg.L ⁻¹	1 ^a	0	0	0	0	-	0	0	0	0	0	7,61	7,23	149,1
	2 ^a	0	-	0	0	0	0	0	-	0	0	7,62	7,19	159,4
	3 ^a	0	-	0	-	0	0	0	-	0	0	7,63	7,04	160,2
	Soma	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	7,36	7	157,2
4 mg.L ⁻¹	1 ^a	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	7,6	7,23	149,9
	2 ^a	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	7,62	7,2	162,1
	3 ^a	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-			
	Soma	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-			
Resultado (mg.L ⁻¹)														
CE ₅₀ : 0,675							Intervalo de confiança 95%: 0,54-0,842							

	Renovações	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	Variáveis Finais		
												pH	OD (mg.L ⁻¹)	Condutividade (µS/cm)
Controle	1ª	3	0	3	3	4	0	1	0	0	0	7,6	7,49	151,3
	2ª	5	7	10	10	7	10	7	11	8	7	7,64	7,14	166
	3ª	4	3	3	0	6	4	3	0	4	5	7,52	7,05	166,3
	Soma	12	10	16	13	17	14	11	11	12	12	7,56	7,03	171,2
0,25 mg.L ⁻¹	1ª	0	0	0	0	0	0	0	2	2	0	7,66	7,47	152,6
	2ª	7	10	6	9	7	7	6	5	11	7	7,64	7,08	165,1
	3ª	2	0	3	0	2	2	1	3	3	4	7,46	7,07	166,2
	Soma	9	10	9	9	9	9	7	10	16	11	7,5	7,03	160,7
0,5 mg.L ⁻¹	1ª	0	0	0	0	0	0	0	0	0	4	7,66	7,47	150,8
	2ª	6	4	7	5	8	6	7	5	8	5	7,63	7,14	164,9
	3ª	1	2	0	-	0	1	1	0	3	3	7,45	7,12	164,4
	Soma	7	6	7	5	8	7	8	5	11	12	7,51	7,01	160,4
1 mg.L ⁻¹	1ª	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	7,56	7,5	151,6
	2ª	4	6	4	9	5	3	2	6	7	4	7,64	7,1	164,2
	3ª	-	0	0	-	0	3	0	1	0	0	7,45	7,13	168,4
	Soma	4	6	4	9	5	6	2	7	8	4	7,45	6,88	161,9
2 mg.L ⁻¹	1ª	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	7,6	7,48	152,4
	2ª	0	0	0	0	1	0	0	1	0	0	7,63	7,09	160,8
	3ª	0	0	0	0	0	0	0	0	-	1	7,43	7,04	160,7
	Soma	0	0	0	0	1	0	0	1	0	1	7,42	6,89	164,2
3 mg.L ⁻¹	1ª	0	0	0	0	0	-	0	0	0	0	7,67	7,47	154,3
	2ª	0	0	-	0	0	-	0	0	0	0	7,62	7,07	161,9
	3ª	0	0	-	0	0	-	0	0	0	0	7,42	7,02	165,7
	Soma	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	7,4	6,85	162,5
4 mg.L ⁻¹	1ª	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	7,65	7,49	150,8
	2ª	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-			
	3ª	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-			
	Soma	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-			
Resultado (mg.L ⁻¹)														
CE ₅₀ : 0,674							Intervalo de confiança 95%: 0,543-0,838							

Tabela 3: Resultados dos quatro testes de toxicidade aguda (48h) *Daphnia similis* expressa mg.L⁻¹ de pyrimethanil.

Tratamento	pH	OD (mg.L ⁻¹)	Condutividade (µS/cm)	Dureza (mg CaCO ₃ .L ⁻¹)	Imobilidade					Efeito	Variáveis finais	
					1	2	3	4	Total	%	pH	OD (mg.L ⁻¹)
Controle	7,47	6,92	169,6	44	1	0	0	0	1/20	5	7,6	7,78
0,5 mg.L ⁻¹	7,51	7,06	191,1	44	0	0	0	0	0/20	0	7,57	7,78
1	7,57	7,09	150,2	44	0	0	0	0	0/20	0	7,54	7,73
2	7,49	7,04	149,6	44	1	1	0	1	3/20	15	7,56	7,74
4	7,53	7,03	149,3	44	4	4	5	4	17/20	85	7,55	7,7
8	7,51	7,03	149,6	44	4	5	5	4	18/20	90	7,56	7,68
16	7,5	7,02	148,7	44	5	5	5	5	20/20	100	7,55	7,6
Resultados (mg.L ⁻¹)												
CL 50:48h: 3,07			Intervalo de confiança 95%: 2,458-3,834									

Tratamento	pH	OD (mg.L ⁻¹)	Condutividade (µS/cm)	Dureza (mg CaCO ₃ .L ⁻¹)	Imobilidade					Efeito	Variáveis finais	
					1	2	3	4	Total	%	pH	OD (mg.L ⁻¹)
Controle	7,73	6,92	382	44	1	0	0	0	1/20	5	7,6	7,37
1 mg.L ⁻¹	7,76	6,91	159,7	44	0	1	0	0	1/20	5	7,63	7,37
3	7,68	7	149,1	44	1	2	1	2	6/20	30	7,6	7,36
6	7,72	6,96	151,7	44	5	3	4	5	17/20	85	7,6	7,36
9	7,66	7,08	149,7	44	5	5	4	5	19/20	95	7,6	7,25
12	7,73	7	150,1	44	4	5	5	5	19/20	95	7,61	7,25
15	7,65	7,1	147,3	44	4	5	5	5	19/20	95	7,59	7,28
18	7,65	7,14	144,7	44	5	5	5	5	20/20	100	7,59	7,29
Resultados (mg.L ⁻¹)												
CL 50:48h: 3,929			Intervalo de confiança 95%: 3,0-5,146									

Tratamento	pH	OD (mg.L ⁻¹)	Condutividade (µS/cm)	Dureza (mg CaCO ₃ .L ⁻¹)	Imobilidade					Efeito	Variáveis finais	
					1	2	3	4	Total	%	pH	OD (mg.L ⁻¹)
Controle	7,73	6,92	382	44	0	0	0	0	0/20	0	7,6	7,37
1 mg.L ⁻¹	7,76	6,91	159,7	44	0	1	0	0	1/20	5	7,63	7,37
3	7,68	7	149,1	44	2	2	0	3	7/20	35	7,6	7,36
6	7,72	6,96	151,7	44	4	3	5	4	16/20	80	7,6	7,36
9	7,66	7,08	149,7	44	5	4	5	5	19/20	95	7,6	7,25
12	7,73	7	150,1	44	5	5	4	4	18/20	90	7,61	7,25
15	7,65	7,1	147,3	44	5	4	5	5	19/20	95	7,59	7,28
18	7,65	7,14	144,7	44	5	5	5	5	20/20	100	7,59	7,29
Resultados (mg.L ⁻¹)												
CL 50:48h: 3,629			Intervalo de confiança 95%: 2,766-4,76									

Tratamento	pH	OD (mg.L ⁻¹)	Condutividade (µS/cm)	Dureza (mg CaCO ₃ .L ⁻¹)	Imobilidade					Efeito %	Variáveis finais	
					1	2	3	4	Total		pH	OD (mg.L ⁻¹)
Controle	7,73	6,92	382	44	1	0	0	0	1/20	5	7,6	7,37
1 mg.L ⁻¹	7,76	6,91	159,7	44	1	0	0	0	1/20	5	7,63	7,37
3	7,68	7	149,1	44	1	1	2	2	6/20	30	7,6	7,36
6	7,72	6,96	151,7	44	4	5	4	5	18/20	90	7,6	7,36
9	7,66	7,08	149,7	44	4	3	5	5	17/20	85	7,6	7,25
12	7,73	7	150,1	44	5	5	4	5	19/20	95	7,61	7,25
15	7,65	7,1	147,3	44	5	4	5	5	19/20	95	7,59	7,28
18	7,65	7,14	144,7	44	5	5	5	5	20/20	100	7,59	7,29
Resultados (mg.L ⁻¹)												
CL 50:48h: 3,975			Intervalo de confiança 95%: 2,934-5,386									

Tabela 4: Resultados dos testes de toxicidade com *Pseudokirchneriella subcapitata*.em mg.L⁻¹ de pyrimethanil.

Número de células nos campos							pH						
Controle	1 mg. L ⁻¹	4	8	16	32	64	Controle	1	4	8	16	32	64
543	454	505	387	159	8	0	10,4	8,95	9,01	9,12	8,51	7,33	7,21
658	386	363	342	219	7	2	10,4	9,26	9,04	8,82	8,4	7,29	7,22
641	512	415	250	160	5	4	10,3	10,4	10,2	9,62	9,21	7,29	7,17
Média por tratamento							Resultado						
614	451	428	326	179	6,67	2	EC ₅₀		Limite inferior		Limite superior		
							9,563		7,17		12,753		

Número de células nos campos							pH						
Controle	4 mg. L ⁻¹	8	12	16	24	32	Controle	1	4	8	16	32	64
563	457	333	282	150	70	3	10,4	8,93	8,98	9,27	8,61	7,66	7,42
563	427	329	229	211	72	8	10,4	8,75	8,68	8,96	8,89	7,8	7,33
602	423	369	219	129	59	4	10,5	10,4	9,04	9,18	8,48	7,7	7,38
Média por tratamento							Resultado						
576	436	344	243	163	7	2,6	EC ₅₀		Limite inferior		Limite superior		
							9,753		8,581		11,085		

Tabela 5: Resultados dos seis testes de toxicidade aguda estática (48h) com *Danio rerio* incluindo a avaliação dos *endpoints* de imobilidade e mortalidade, expressa mg.L⁻¹ de pyrimethanil.

Tratamento	pH	OD (mg.L ⁻¹)	Condutividade (µS/cm)	Dureza (mg CaCO ₃ .L ⁻¹)	Imobilidade		Letalidade		Variáveis finais	
					1	2	1	2	pH	OD (mg.L ⁻¹)
Controle	7,01	7,24	159,7	42	0	0	0	0	7,45	6,54
1 mg.L ⁻¹	7,12	7,24	159,9	42	0	0	0	0	7,4	6,34
7,5	7,14	7,26	159,9	42	0	0	0	0	7,41	6,28
15	7,18	7,25	157,8	42	3	3	0	0	7,36	6,27
22,5	7,19	7,26	157,5	42	4	5	0	0	7,31	5,99
30	7,2	7,25	158,7	42	5	5	1	0	7,3	5,93
37,5	7,23	7,3	158,6	42	5	5	2	3	7,31	5,92
45	7,21	7,26	158,9	42	5	5	5	5	7,03	3,56
Resultados (mg.L⁻¹)										
CL 50:48h: 36,54			Intervalo de confiança 95%: 33,80 - 39,51							
CE 50:48h: 14,52			Intervalo de confiança 95%: 11,96 - 17,61							

Tratamento	pH	OD (mg.L ⁻¹)	Condutividade (µS/cm)	Dureza (mg CaCO ₃ .L ⁻¹)	Imobilidade		Letalidade		Variáveis finais	
					1	2	1	2	pH	OD (mg.L ⁻¹)
Controle	7,23	7,2	161,4	44	0	0	0	0	7,35	6,24
1 mg.L ⁻¹	7,33	7,22	159,1	44	0	0	0	0	7,32	6,22
7,5	7,35	7,25	158,1	44	0	0	0	0	7,31	6,1
15	7,34	7,27	157,5	44	3	4	0	0	7,18	5,63
22,5	7,33	7,27	156,8	44	4	5	0	0	7,2	5,89
30	7,35	7,29	155,5	44	5	5	2	0	7,22	5,92
37,5	7,31	7,26	155,5	44	5	5	5	5	7,08	4,58
45	7,34	7,27	155,2	44	5	5	5	5	6,97	3,53
Resultados (mg.L⁻¹)										
CL 50:48h: 32,67			Intervalo de confiança 95%: 30,13 - 35,42							
CE 50:48h: 13,76			Intervalo de confiança 95%: 11,03 - 17,16							

Tratamento	pH	OD (mg.L ⁻¹)	Condutividade (µS/cm)	Dureza (mg CaCO ₃ .L ⁻¹)	Imobilidade		Letalidade		Variáveis finais	
					1	2	1	2	pH	OD (mg.L ⁻¹)
Controle	7,12	7,06	147,7	42	0	0	0	0	7	5,12
1 mg.L ⁻¹	7,16	7,03	146,8	42	0	0	0	0	6,94	4,82
7,5	7,18	7,05	146,1	42	0	0	0	0	6,83	4,79
15	7,15	7,06	145,6	42	4	2	0	0	6,81	4,47
22,5	7,14	7,03	144,9	42	4	5	0	0	6,86	5,12
30	7,12	7,03	146	42	5	5	0	0	6,75	4,31
37,5	7,03	6,99	144,3	42	5	5	5	5	6,73	4,14
45	7,09	6,99	146,3	42	5	5	5	5	6,74	4,79
Resultados (mg.L⁻¹)										
CL 50:48h: 33,80				Intervalo de confiança 95%: -						
CE 50:48h: 14,52				Intervalo de confiança 95%: 11,93 - 17,66						

Tratamento	pH	OD (mg.L ⁻¹)	Condutividade (µS/cm)	Dureza (mg CaCO ₃ .L ⁻¹)	Imobilidade		Letalidade		Variáveis finais	
					1	2	1	2	pH	OD (mg.L ⁻¹)
Controle	7,12	7,06	147,7	42	0	0	0	0	6,99	5,06
1 mg.L ⁻¹	7,17	7,03	146,2	42	0	0	0	0	6,93	4,85
7,5	7,18	7,05	146,1	42	0	1	0	0	6,85	4,14
15	7,15	7,06	145,6	42	4	3	0	0	6,81	4,04
22,5	7,14	7,03	144,9	42	4	4	0	0	6,77	4,05
30	7,12	7,03	146	42	5	5	2	3	6,84	4,11
37,5	7,03	6,99	144,3	42	5	5	5	5	6,72	5,19
45	7,09	6,99	146,3	42	5	5	5	5	7,28	6,23
Resultados (mg.L⁻¹)										
CL 50:48h: 30,0				Intervalo de confiança 95%: 29,57 - 30,44						
CE 50:48h: 12,91				Intervalo de confiança 95%: 9,98 - 16,69						

Tratamento	pH	OD (mg.L ⁻¹)	Condutividade (µS/cm)	Dureza (mg CaCO ₃ .L ⁻¹)	Imobilidade		Letalidade		Variáveis finais	
					1	2	1	2	pH	OD (mg.L ⁻¹)
Controle	7,12	7,06	147,7	42	0	0	0	0	6,88	5,9
1 mg.L ⁻¹	7,17	7,03	146,2	42	0	0	0	0	6,98	5,04
7,5	7,18	7,05	146,1	42	0	0	0	0	6,91	5,14
15	7,15	7,06	145,6	42	4	3	0	0	6,83	5,12
22,5	7,14	7,03	144,9	42	4	5	0	0	6,8	5,05
30	7,12	7,03	146	42	5	5	2	3	6,87	5,06
37,5	7,03	6,99	144,3	42	5	5	5	5	6,92	5,23
45	7,09	6,99	146,3	42	5	5	5	5	6,99	5,65
Resultados (mg.L⁻¹)										
CL 50:48h: 30,0				Intervalo de confiança 95%: 29,57 - 30,44						
CE 50:48h: 13,76				Intervalo de confiança 95%: 11,03 - 17,16						

Tratamento	pH	OD (mg.L ⁻¹)	Condutividade (µS/cm)	Dureza (mg CaCO ₃ .L ⁻¹)	Imobilidade		Letalidade		Variáveis finais	
					1	2	1	2	pH	OD (mg.L ⁻¹)
Controle	7,12	7,06	147,7	42	0	0	0	0	7,02	5,67
1 mg.L ⁻¹	7,14	7,03	145,8	42	0	0	0	0	6,92	5,9
7,5	7,18	7,05	146,1	42	0	1	0	0	6,88	4,8
15	7,15	7,06	145,6	42	3	3	0	0	6,85	5,9
22,5	7,14	7,03	144,9	42	4	5	0	0	6,8	5,98
30	7,12	7,03	146	42	5	5	2	3	6,82	5,11
37,5	7,03	6,99	144,3	42	5	5	5	5	6,79	5,19
45	7,09	6,99	146,3	42	5	5	5	5	7,03	6,23
Resultados (mg.L⁻¹)										
CL 50:48h: 30,0				Intervalo de confiança 95%: 29,57 - 30,44						
CE 50:48h: 13,17				Intervalo de confiança 95%: 10,38 - 16,71						

Tabela 6: Resultados dos seis testes de toxicidade aguda semi-estática (96h) com *Danio rerio* incluindo a avaliação dos *endpoints* de imobilidade e mortalidade, expressa mg.L⁻¹ de pyrimethanil.

Tratamento	pH	OD (mg.L ⁻¹)	Condutividade (µS/cm)	Dureza (mg CaCO ₃ .L ⁻¹)	Imobilidade		Letalidade		Variáveis finais	
					1	2	1	2	pH	OD (mg.L ⁻¹)
Controle	7,23	7,2	161,4	44	0	0	0	0	7,35	6,24
1 mg.L ⁻¹	7,33	7,24	158	44	0	0	0	0	7,32	6,13
7,5	7,35	7,25	158,1	44	1	0	0	0	7,31	6,1
15	7,34	7,27	157,5	44	4	4	0	0	7,18	5,63
22,5	7,33	7,27	156,8	44	5	5	1	0	7,2	5,89
30	7,35	7,29	155,5	44	5	5	2	3	7,22	5,92
37,5	7,31	7,26	155,5	44	5	5	5	5	7,08	4,58
45	7,34	7,27	155,2	44	5	5	5	5	6,97	3,53
Resultados (mg.L⁻¹)										
CL 50:96h: 28,94				Intervalo de confiança 95%: -						
CE 50:96h: 11,30				Intervalo de confiança 95%: 8,92 - 14,32						

Tratamento	pH	OD (mg.L ⁻¹)	Condutividade (µS/cm)	Dureza (mg CaCO ₃ .L ⁻¹)	Imobilidade		Letalidade		Variáveis finais	
					1	2	1	2	pH	OD (mg.L ⁻¹)
Controle	7,23	7,2	161,4	44	0	0	0	0	7,16	5,71
1 mg.L ⁻¹	7,33	7,24	158	44	0	0	0	0	7,32	6,13
7,5	7,35	7,25	158,1	44	0	1	0	0	7,09	5,35
15	7,34	7,27	157,5	44	4	3	0	0	7,11	5,42
22,5	7,33	7,27	156,8	44	5	5	1	1	7,01	4,9
30	7,35	7,29	155,5	44	5	5	2	4	7,06	5,28
37,5	7,31	7,26	155,5	44	5	5	5	5	7,24	6,13
45	7,34	7,27	155,2	44	5	5	5	5	7,01	4,53
Resultados (mg.L⁻¹)										
CL 50:96h: 27,56				Intervalo de confiança 95%: 24,42 - 30,43						
CE 50:96h: 12,02				Intervalo de confiança 95%: 9,52 - 15,17						

Tratamento	pH	OD (mg.L ⁻¹)	Condutividade (µS/cm)	Dureza (mg CaCO ₃ .L ⁻¹)	Imobilidade		Letalidade		Variáveis finais	
					1	2	1	2	pH	OD (mg.L ⁻¹)
Controle	7,12	7,06	147,7	42	0	0	0	0	6,99	5,06
1 mg.L ⁻¹	7,17	7,02	146,5	42	0	0	0	0	6,89	5,18
7,5	7,18	7,05	146,1	42	1	1	0	0	6,85	4,14
15	7,15	7,06	145,6	42	4	4	0	0	6,81	4,04
22,5	7,14	7,03	144,9	42	5	5	1	1	6,77	4,05
30	7,12	7,03	146	42	5	5	3	3	6,84	4,11
37,5	7,03	6,99	144,3	42	5	5	5	5	6,72	5,19
45	7,09	6,99	146,3	42	5	5	5	5	7,28	6,23
Resultados (mg.L⁻¹)										
CL 50:96h: 27,26			Intervalo de confiança 95%: 24,44 - 30,40							
CE 50:96h: 10,34			Intervalo de confiança 95%: 8,12 - 13,18							

Tratamento	pH	OD (mg.L ⁻¹)	Condutividade (µS/cm)	Dureza (mg CaCO ₃ .L ⁻¹)	Imobilidade		Letalidade		Variáveis finais	
					1	2	1	2	pH	OD (mg.L ⁻¹)
Controle	7,12	7,06	147,7	42	0	0	0	0	7	5,12
1 mg.L ⁻¹	7,17	7,02	146,5	42	0	0	0	0	6,89	5,18
7,5	7,18	7,05	146,1	42	0	1	0	0	6,83	4,79
15	7,15	7,06	145,6	42	5	4	0	0	6,81	4,47
22,5	7,14	7,03	144,9	42	5	5	1	0	6,86	5,12
30	7,12	7,03	146	42	5	5	3	3	6,75	4,31
37,5	7,03	6,99	144,3	42	5	5	5	5	6,73	4,14
45	7,09	6,99	146,3	42	5	5	5	5	6,74	4,79
Resultados (mg.L⁻¹)										
CL 50:96h: 28,22			Intervalo de confiança 95%: 25,58 - 31,12							
CE 50:96h: 10,53			Intervalo de confiança 95%: 8,27 - 13,44							

Tratamento	pH	OD (mg.L ⁻¹)	Condutividade (µS/cm)	Dureza (mg CaCO ₃ .L ⁻¹)	Imobilidade		Letalidade		Variáveis finais	
					1	2	1	2	pH	OD (mg.L ⁻¹)
Controle	7,12	7,06	147,7	42	0	0	0	0	7	5,12
1 mg.L ⁻¹	7,19	7,06	147	42	0	0	0	0	6,87	5,05
7,5	7,18	7,05	146,1	42	2	0	0	0	6,83	4,79
15	7,15	7,06	145,6	42	5	5	0	0	6,81	4,47
22,5	7,14	7,03	144,9	42	5	5	1	0	6,86	5,12
30	7,12	7,03	146	42	5	5	3	3	6,75	4,31
37,5	7,03	6,99	144,3	42	5	5	5	5	6,73	4,14
45	7,09	6,99	146,3	42	5	5	5	5	6,74	4,79
Resultados (mg.L⁻¹)										
CL 50:96h: 28,22			Intervalo de confiança 95%: 25,58 - 31,12							
CE 50:96h: 7,99			Intervalo de confiança 95%: 7,37 - 8,67							

Tratamento	pH	OD (mg.L ⁻¹)	Condutividade (µS/cm)	Dureza (mg CaCO ₃ .L ⁻¹)	Imobilidade		Letalidade		Variáveis finais	
					1	2	1	2	pH	OD (mg.L ⁻¹)
Controle	7,12	7,06	147,7	42	0	0	0	0	6,99	5,06
1 mg.L ⁻¹	7,14	7,02	146,8	42	0	0	0	0	6,88	4,99
7,5	7,18	7,05	146,1	42	0	1	0	0	6,85	4,14
15	7,15	7,06	145,6	42	4	5	0	0	6,81	4,04
22,5	7,14	7,03	144,9	42	5	5	1	0	6,77	4,05
30	7,12	7,03	146	42	5	5	4	3	6,84	4,11
37,5	7,03	6,99	144,3	42	5	5	5	5	6,72	5,19
45	7,09	6,99	146,3	42	5	5	5	5	7,28	6,23
Resultados (mg.L⁻¹)										
CL 50:96h: 24,86			Intervalo de confiança 95%: 21,90 - 28,20							
CE 50:96h: 10,53			Intervalo de confiança 95%: 8,26 - 13,44							

Tabela 7: Resultado do teste de toxicidade aguda estática (48h) com *Danio rerio* em laboratório com as amostras de água provenientes dos mesocosmos.

Tratamento	pH	OD (mg.L ⁻¹)	Condutividade (µS/cm)	Dureza (mg CaCO ₃ .L ⁻¹)	Imobilidade		Letalidade		Variáveis finais	
					1	2	1	2	pH	OD (mg.L ⁻¹)
C1	6,55	7,5	17,0	14	0/10	0/10	0/10	0/10	6,86	5,86
C2	6,88	7,28	17,9	14	0/10	0/10	0/10	0/10	6,89	6,16
C3	6,84	7,88	20,6	14	0/10	0/10	0/10	0/10	6,94	5,72
P1	6,56	7,42	17,2	14	0/10	0/10	0/10	0/10	6,76	5,34
P2	6,74	7,66	18,2	14	0/10	0/10	0/10	0/10	6,73	4,88
P3	6,62	7,28	18,4	14	0/10	0/10	0/10	0/10	6,83	5,47

Obs: Não foi observada diferença significativa entre os tratamentos

Tabela 8: Resultado do teste de toxicidade aguda estática (96h) com *Danio rerio* em laboratório com as amostras de água provenientes dos mesocosmos

Tratamento	pH	OD (mg.L ⁻¹)	Condutividade (µS/cm)	Dureza (mg CaCO ₃ .L ⁻¹)	Imobilidade		Letalidade		Variáveis finais	
					1	2	1	2	pH	OD (mg.L ⁻¹)
C1	6,55	7,5	17,0	14	0/10	0/10	0/10	0/10	6,94	5,72
C2	6,88	7,28	17,9	14	0/10	0/10	0/10	0/10	6,75	5,1
C3	6,84	7,88	20,6	14	0/10	0/10	0/10	0/10	6,90	4,80
P1	6,56	7,42	17,2	14	0/10	0/10	0/10	0/10	6,79	4,68
P2	6,74	7,66	18,2	14	0/10	0/10	0/10	0/10	6,85	4,40
P3	6,62	7,28	18,4	14	0/10	0/10	0/10	0/10	6,74	4,29

Obs: Não foi observada diferença significativa entre os tratamentos

Tabela 9: Resultado do teste de toxicidade crônico (168h) com *Danio rerio* em laboratório com as amostras de água provenientes dos mesocosmos

Tratamento	pH	OD (mg.L ⁻¹)	Condutividade (µS/cm)	Dureza (mg CaCO ₃ .L ⁻¹)	Imobilidade		Letalidade		Variáveis finais	
					1	2	1	2	pH	OD (mg.L ⁻¹)
C1	6,55	7,5	17,0	14	0/10	0/10	0/10	0/10	6,68	5,01
C2	6,88	7,28	17,9	14	0/10	1/10	0/10	1/10	6,65	4,96
C3	6,84	7,88	20,6	14	0/10	0/10	0/10	0/10	6,91	4,48
P1	6,56	7,42	17,2	14	1/10	0/10	1/10	0/10	6,81	4,43
P2	6,74	7,66	18,2	14	0/10	0/10	0/10	0/10	6,88	4,24
P3	6,62	7,28	18,4	14	0/10	0/10	0/10	0/10	6,87	4,19

Obs: Não foi observada diferença significativa entre os tratamentos

Tabela 10: Resultado do teste de toxicidade aguda estática (48h) *in situ* com *Danio rerio*.

Tratamento	pH	OD (mg.L ⁻¹)	Condutividade (µS/cm)	Dureza (mg CaCO ₃ .L ⁻¹)	Imobilidade		Letalidade		Variáveis finais	
					1	2	1	2	pH	OD (mg.L ⁻¹)
C1	6,55	7,5	17,0	14	0/15	1/15	0/15	1/15	4,26	7,32
C2	6,88	7,28	17,9	14	0/15	0/15	0/15	0/15	5,24	8,68
C3	6,84	7,88	20,6	14	0/15	0/15	0/15	0/15	5,68	7,6
P1	6,56	7,42	17,2	14	0/15	0/15	0/15	0/15	6,14	7,74
P2	6,74	7,66	18,2	14	0/15	0/15	0/15	0/15	6,06	7,75
P3	6,62	7,28	18,4	14	0/15	0/15	0/15	0/15	6,08	7,62

Obs: Não foi observada diferença significativa entre os tratamentos

Tabela 11: Resultado do teste de toxicidade aguda estática (96h) *in situ* com *Danio rerio*.

Tratamento	pH	OD (mg.L ⁻¹)	Condutividade (µS/cm)	Dureza (mg CaCO ₃ .L ⁻¹)	Imobilidade		Letalidade		Variáveis finais	
					1	2	1	2	pH	OD (mg.L ⁻¹)
C1	6,55	7,5	17,0	14	0/15	1/15	0/15	1/15	5,19	7,01
C2	6,88	7,28	17,9	14	0/15	1/15	0/15	1/15	5,3	7,86
C3	6,84	7,88	20,6	14	1/15	0/15	1/15	0/15	5,13	7,89
P1	6,56	7,42	17,2	14	0/15	0/15	0/15	0/15	5,17	7,97
P2	6,74	7,66	18,2	14	0/15	1/15	0/15	1/15	5,37	7,78
P3	6,62	7,28	18,4	14	2/15	0/15	2/15	0/15	5,24	7,9

Obs: Não foi observada diferença significativa entre os tratamentos

Tabela 12: Resultado do teste de toxicidade crônico (168h) *in situ* com *Danio rerio*.

Tratamento	pH	OD (mg.L ⁻¹)	Condutividade (µS/cm)	Dureza (mg CaCO ₃ .L ⁻¹)	Imobilidade		Letalidade		Variáveis finais	
					1	2	1	2	pH	OD (mg.L ⁻¹)
C1	6,55	7,5	17,0	14	0/15	1/15	0/15	1/15	7,69	8,17
C2	6,88	7,28	17,9	14	0/15	1/15	0/15	1/15	6,97	8,85
C3	6,84	7,88	20,6	14	1/15	0/15	1/15	0/15	6,27	8,78
P1	6,56	7,42	17,2	14	0/15	0/15	0/15	0/15	7,45	8,76
P2	6,74	7,66	18,2	14	0/15	1/15	0/15	1/15	7,52	8,92
P3	6,62	7,28	18,4	14	2/15	0/15	2/15	0/15	7,59	8,86

Obs: Não foi observada diferença significativa entre os tratamentos