UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
ESCOLA DE ENGENHARIA DE SÃO CARLOS

BRUNA HORVATH VIEIRA

Efeitos do agrotóxico Vertimec® no fitoplâncton: um estudo laboratorial e "*in situ*"

São Carlos – SP

2010

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

Ficha catalográfica preparada pela Seção de Tratamento
da Informação do Serviço de Biblioteca – EESC/USP

V658e

Vieira, Bruna Horvath
Efeitos do agrotóxico Vertimec® no fitoplâncton : um estudo laboratorial e "*in situ*" / Bruna Horvath Vieira ; orientador Evaldo L. G. Espíndola. -- São Carlos, 2010.

Dissertação (Mestrado-Programa de Pós-Graduação e Área de Concentração em Ciências da Engenharia Ambiental) -- Escola de Engenharia de São Carlos da Universidade de São Paulo, 2010.

1. Pesticidas. 2. Vertimec®. 3. *P. subcapitata*. 4. Mesocosmos. 5. Toxicidade. I. Título.

BRUNA HORVATH VIEIRA

Efeitos do agrotóxico Vertimec® no fitoplâncton: um estudo laboratorial e "*in situ*"

Dissertação apresentada à Escola de Engenharia de São Carlos, da Universidade de São Paulo, como parte dos requisitos para a obtenção do título de Mestre em Ciências da Engenharia Ambiental.

Orientador: Prof. Dr. Evaldo L. G. Espíndola

São Carlos – SP

2010

FOLHA DE JULGAMENTO

Candidato(a): Licenciada **BRUNA HORVATH VIEIRA**

Dissertação defendida e julgada em 22/02/2010 perante a Comissão Julgadora:

Aprovado

Prof. Associado **EVALDO LUIZ GAETA ESPÍNDOLA (Orientador)**
(Escola de Engenharia de São Carlos/USP)

Aprovada

Drª. **MARIA JOSÉ DELLAMANO DE OLIVEIRA**
(Universidade Federal de São Carlos/UFSCar)

Aprovada

Drª. **PATRICIA FRANKLIN MAYRINK NOGUEIRA**
(Pesquisadora FAPESP/UFSCar)

Prof. Associado **EVALDO LUIZ GAETA ESPINDOLA**
Coordenador do Programa de Pós-Graduação em
Ciências da Engenharia Ambiental

Prof. Titular **GERALDO ROBERTO MARTINS DA COSTA**
Presidente da Comissão da Pós-Graduação da EESC

AGRADECIMENTOS

Ao Prof. Evaldo pela confiança e absolto apoio ao trabalho.

À CAPES pela bolsa concedida.

À Maria José Dellamano pela contribuição na identificação do material fitoplânctonico e nos procedimentos de laboratório.

À a Prof. Odete pela contribuição ao trabalho.

As amigas Andréa Novelli, Andréa Braun, Anna Maria Vasconcelos, Maria Edna Nunes e Patrícia Giloni pelo trabalho em equipe que permitiu a realização deste trabalho e pela amizade.

As colegas Natália F. Negreiros e Renata M. dos Santos pela ajuda no laboratório.

Aos técnicos Marcelo Menezes Nogueira e Amândio Menezes Nogueira que contribuíram intensamente para a realização deste trabalho.

Aos funcionários do CRHEA.

À minha mãe e aos meus irmãos, que são a minha base e o meu alento.

Ao Marco Aurélio pelo carinho, incentivo e alegria.

Aos professores Alice Derbócio e Ricardo Gentil pelo incentivo e apoio.

RESUMO

VIEIRA, B. H. Efeitos do agrotóxico Vertimec® no fitoplâncton: um estudo laboratorial e "*in situ*". 2010. 181f. Dissertação (Mestrado), Escola de Engenharia de São Carlos, Universidade de São Paulo, São Carlos, SP, 2010.

Agrotóxicos são produtos químicos aplicados no ambiente para controlar as espécies que causam danos às culturas agrícolas. No entanto, podem atingir espécies não-alvo ao serem carreados para os ecossistemas aquáticos e ainda causar sérios danos a saúde humana. Dentre os diversos agrotóxicos destaca-se o Vertimec®, utilizado em várias culturas agrícolas, incluindo morango e batata, produtos que compõem a renda econômica de muitos produtores rurais. Porém, apesar de seu uso intenso, existe ainda uma carência de estudos sobre seus potenciais riscos a biota terrestre e aquática. Dentro desse contexto, procurou-se avaliar os efeitos da aplicação do Vertimec® sobre o fitoplâncton, por meio de estudos laboratoriais (bioensaio unialgal com *Pseudokirchneriella subcapitata*) e "*in situ*" (composição e densidade, em mesocosmos) a partir da simulação da contaminação do solo com Vertimec® e posterior carreamento ao corpo hídrico, utilizando a água do *runoff* em bioensaio unialgal; da adição da água do *runoff* em mesocosmos, em quatro tratamentos (controle, *runoff* contaminado, não contaminado e adição direta do contaminante), avaliando os efeitos na estrutura da comunidade e do bioensaio unialgal com Abamectina, principal princípio ativo do Vertimec®. Os resultados obtidos demonstram que os efeitos do *runoff* sobre a densidade celular de *P. subcapitata* não ocorreram em função do produto aplicado e sim pela elevada turbidez das amostras. Nos testes com a água dos mesocosmos, os tratamentos que receberam o *runoff* estimularam o crescimento de *P. subcapitata*, indicando o efeito do aporte de nutrientes ao meio de cultura, enquanto menores densidades ocorreram no tratamento com adição direta de Vertimec®, porém, ainda maiores em relação ao controle. Na análise da estrutura da comunidade de fitoplâncton nos mesocosmos, verificou-se alterações nas características físicas e químicas da água (pH, oxigênio dissolvido, turbidez, condutividade e nutrientes), caracterizando efeitos do *runoff* (com ou sem Vertimec®) ou da adição direta do contaminante, os quais implicaram em mudanças na densidade e composição do fitoplâncton (como a redução de Bacillariophyta, o aumento de Chlorophyceae e, entre estas, uma maior contribuição da espécie *Monoraphidium minutum*). Apesar do reconhecimento dos efeitos do Vertimec® no fitoplâncton, por meio dos estudos *in situ,* os resultados com a Abamectina não demonstram toxicidade a alga *P.subcapitata*, indicando a presença de outros contaminantes no produto comercial.

Palavras-chave: Pesticida, Vertimec®, *P. subcapitata*, mesocosmos, toxicidade

ABSTRACT

VIEIRA, B. H. Effects of pesticide Vertimec® on phytoplankton: a laboratorial and "*in situ*" study. 2010. 181f. Dissertation (Master's degree) School of engineering of São Carlos, University of São Paulo, São Carlos, SP, 2010.

Pesticides are chemical products applied to environment in order to control species which cause harm to agriculture. However, these chemicals can reach non-target species when flushed into aquatic ecosystems and even bring grave diseases to human health. Amongst many, Vertimec® stands out in a range of pesticides, being utilized in numerous agricultures, including potatoes and strawberries, which constitute the income of many farmers. Nevertheless, despite its intensive use, there is still lack of research and study on its potential risks on terrestrial and aquatic biota. In this context, we sought to evaluate the effects of the application of Vertimec® on phytoplankton, through laboratorial study (unialgal bioassay, with *Pseudokircheneriella subcapitata)* and "*in situ*" (composition and density, in mesocosms) starting from the simulation of soil contamination with Vertimec® and subsequent flushing into the body of water, making use of the runoff water in unialgal bioassay; the addition of runoff water from mesocosms in four treatments (control, contaminated runoff, non-contaminated and direct addition of contaminant), evaluating the effects on the community structure and unialgal bioassay with Abamectin, main Vertimec®'s active principle. The results obtained show that the runoff effects on the cellular density of *P. subcapitata* will not occur according the product used but due to the high turbidity of the samples. At the tests with water at the mesocosms, the treatments which received runoff motivated the growing of *P. subcapitata*, indicating the nutrient-contributing effect to the environment of the culture. At the analysis of the phytoplanktonic community at the mesocosms, alterations on the physical and chemical characteristics of the water were observed (pH, dissolved oxygen, turbidity, conductivity and nutrients) featuring effects of runoff (with or without Vertimec®) or the direct addition of the contaminant, which implicated chances in the density and composition of the phytoplankton (such as the reduction of Bacillariophyta, increase of Chlorophyceae and, along with these , a larger contribution to the species *Monoraphidium minutum*). Despite acknowledging the effects of Vertimec® on phytoplankton, though *in situ* studies, the results from Abamectin do not show toxicity to the algae *P.subcapitata*, demonstrating the presence of other contaminants in the marketable product.

Key words: pesticide, Vertimec®, *P. subcapitata*, mesocosms, toxicity

LISTA DE FIGURAS

Figura 1: Vias de entrada do pesticida no ambiente aquático (Fonte: Dores e De-Lamonica, 1999). 25

Figura 2: Dinâmica do pesticida no ambiente aquático (Modificado de Schnoor, 1992. Fonte: Dores e De-Lamonica, 1999). 28

Figura 3: Representação esquemática das metodologias usadas em ecotoxicologia (Adaptado de Caquet et al., 2000). 34

Figura 4: Fórmula química da Abamectina (Fonte: SIA, 2009). 36

Figura 5: A figura A ilustra o local onde o experimento foi realizado e a figura B ilustra a preparação das parcelas de solo. 45

Figura 6: As figuras A e B ilustram o solo já preparado e os sulcos revestidos por lona para armazenagem da água escoada superficialmente. 45

Figura 7: As figuras A e B representam a contaminação do solo com o pulverizador costal.. 46

Figura 8: A figura A ilustra a simulação da chuva torrencial nas parcelas do solo previamente contaminadas com o agrotóxico e a figura B ilustra a água escoando superficialmente. 46

Figura 9: A figura A ilustra o *runoff* armazenado nos sulcos após o escoamento superficial e a figura B ilustra e o recolhimento do *runoff* para a realização dos testes. 46

Figura 10: A figura A ilustra o barril de polietileno usado como mesocosmos, enquanto que a figura B ilustra a disposição dos mesocosmos no tanque de concreto localizado às margens da represa do Lobo. 52

Figura 11: Esquema da disposição dos tratamentos dos mesocosmos no tanque de concreto. 52

Figura 12: Mesocosmos experimentais após a contaminação. 54

Figura 13: Mangueira utilizada para coletar amostras dos mesocosmos integrando a coluna d'água dos tanques. 56

Figura 14. Sensibilidade de *P. subcapitata* ao cloreto de sódio após 96h de exposição 65

Figura 15. Valores obtidos para turbidez, dureza, pH, condutividade elétrica, oxigênio dissolvido e material em suspensão nas diferentes concentrações do *runoff* não contaminado (RNC) e contaminado (RC). 67

Figura 16. Curvas de crescimento de *Pseudokirchneriella subcapitata* durante teste de toxicidade crônica ao *runoff* não contaminado (RNC) e contaminado (RC). 69

Figura 17. Resultados dos testes de toxicidade (96h) com *P. subcapitata* analisando as diferenças entre o controle de laboratório com a água do *runoff* não contaminado (RNC) e

contaminado (RC) através do teste de Dunnett, relacionando com as medidas de turbidez. *Indica diferença estatisticamente significativa em relação ao controle (p<0,05) 69

Figura 18. Concentração de clorofila *a* de *P. subcapitata* após 96h de exposição ao *runoff* não contaminado (RNC) e contaminado (RC), sendo CL o controle laboratorial. 70

Figura 19. Biovolume e conteúdo de carbono orgânico de *P. subcapitata* após 96h de exposição ao *runoff* não contaminado (RNC) e contaminado (RC), sendo CL o controle de laboratório. *Indica diferença estatisticamente significativa em relação ao controle (Teste de Dunnett; p<0,05)..... 71

Figura 20. Valores obtidos para temperatura da água, pH, oxigênio dissolvido e condutividade durante o período amostral, nos diferentes tratamentos dos mesocosmos (C: controle, RNC: *runoff* não contaminado, RC: *runoff* contaminado, V: Vertimec® e A: aleatório) 72

Figura 21. Valores obtidos para nitrogênio total, nitrito, nitrato e amônio durante o período amostral, nos diferentes tratamentos dos mesocosmos (C: controle, RNC: *runoff* não contaminado, RC: *runoff* contaminado, V: Vertimec e A: aleatório)..... 74

Figura 22. Valores obtidos para fósforo total, fosfato total dissolvido, fosfato inorgânico e silicato no período amostral, nos diferentes tratamentos dos mesocosmos (C: controle, RNC: *runoff* não contaminado, RC: *runoff* contaminado, V: Vertimec® e A: aleatório). 76

Figura 23. Valores obtidos para material em suspensão total, inorgânico e orgânico durante o período amostral, nos diferentes tratamentos dos mesocosmos (C: controle, RNC: *runoff* não contaminado, RC: *runoff* contaminado, V: Vertimec® e A: aleatório)..... 78

Figura 24. Valores obtidos para clorofila *a* e feofitina durante o período amostral, nos diferentes tratamentos dos mesocosmos (C: controle, RNC: *runoff* não contaminado, RC: *runoff* contaminado, V: Vertimec® e A: aleatório)..... 79

Figura 25. Variação temporal da densidade de fitoplâncton nos diferentes tratamentos, sendo C: controle, RNC: *runoff* não contaminado, RC: *runoff* contaminado, V: Vertimec® e A: aleatório 83

Figura 26. Abundância relativa (%) das diferentes classes fitoplanctônicas durante o período amostral, nos diferentes tratamentos dos mesocosmos. 85

Figura 27. Índices ecológicos calculados para a comunidade fitoplanctônica nos diferentes tratamentos durante o período amostral, sendo C: controle, RNC: *runoff* não contaminado, RC: *runoff* contaminado, V: Vertimec® e A: aleatório..... 94

Figura 28. Densidade celular e concentração de clorofila *a* de *P. subcapitata* para os diferentes tratamentos testados, sendo C: controle, RNC: *runoff* não contaminado, RC: *runoff* contaminado e V: Vertimec® 96

Figura 29. Comparação do crescimento algáceo entre o controle (C) e o controle com solvente (CS). Diferença estatisticamente não significativa (Teste de Dunnett; p<0,05). 97

Figura 30. Densidade (ind.m^3) para Rotifera, Copepoda e Cladocera nos tempos 0h e 240h. 118

LISTA DE TABELAS

Tabela 1: Classificação toxicológica dos agrotóxicos em função da DL_{50} (Fonte: Embrapa, 2003) 21

Tabela 2: Classificação toxicológica dos agrotóxicos em função do modo de ação (Fonte: Gavrislecu, 2005). 21

Tabela 3 - Valores das concentrações-teste, água de *runoff* e meio L.C.Oligo utilizados nos experimentos laboratoriais de toxicidade. 49

Tabela 4 - Metodologia de análise das variáveis físicas e químicas da água do *runoff*. 51

Tabela 5 - Metodologia de análise das principais variáveis físicas, químicas e biológicas da água do experimento em mesocosmo. 56

Tabela 6 - Índices ecológicos utilizados neste estudo, com fórmulas e descrições 59

Tabela 7 - Cronograma de coleta de amostras de água nos mesocosmos para as diferentes análises. 60

Tabela 8 - Volume do solvente (acetona) presente nos testes. 62

Tabela 9 - Resultados da análise granulométrica, conteúdo de matéria orgânica na amostra de solo da área experimental 65

Tabela 10 - Composição taxonômica do fitoplâncton registrada durante o período de estudo, em todos os tratamentos. 80

Tabela 11 - Abundância relativa (%) do fitoplâncton no tratamento controle (C), durante período de coleta (em negrito, os taxa abundantes) 88

Tabela 12 - Abundância relativa (%) do fitoplâncton no tratamento com *runoff* não contaminado (RNC), durante período de coleta (em negrito, os taxa abundantes; sombreados, os taxa dominantes) 89

Tabela 13 - Abundância relativa (%) do fitoplâncton no tratamento com *runoff* contaminado (RC) durante período de coleta (em negrito, os taxa abundantes) 90

Tabela 14 - Abundância relativa (%) do fitoplâncton no tratamento com Vertimec® (V) durante período de coleta (em negrito, os taxa abundantes; sombreado, os taxa dominantes) 91

Tabela 15 - Abundância relativa (%) do fitoplâncton no ponto aleatório (A), durante período de coleta (em negrito, os taxa abundantes) 92

Tabela 16 - Valores de CI50; 96h obtidos nos testes de toxicidade com Abamectina com *P. subcapitata* 97

Tabela 17 - Concentração real de abamectina nas amostras-teste no início dos ensaios crônicos com *P. subcapitata* e após 96h de exposição (LD: limite de detecção; LQ: Limite de quantificação)..... 98

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO 17

2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA 20

2.1. Agrotóxicos: definições e usos 20

2.2. Contaminação de ambientes aquáticos por agrotóxico 23

2.3. Comportamento do agrotóxico no ambiente aquático 25

2.4. Ecotoxicologia 28

2.5. Experimentos em Mesocosmos 31

2.8. Vertimec® 18 CE 35

3. JUSTIFICATIVAS 39

4. OBJETIVOS 42

4.1. OBJETIVO GERAL 42

4.2. OBJETIVOS ESPECIFICOS 42

5. MATERIAIS E MÉTODOS 43

5.1. Delineamento experimental do *runoff* 44

PARTE I: EXPERIMENTOS LABORATORIAIS A PARTIR DO *RUNOFF* 47

5.1.1. Estudos ecotoxicológicos laboratoriais 47

a) Cultivo dos organismos-teste 47

c) Testes de toxicidade com *Pseudokirchneriella subcapitata* com o *runoff* 49

PARTE II: EXPERIMENTOS *IN SITU* A PARTIR DO *RUNOFF* 51

5.1.2. Estudos ecotoxicológicos *in situ* 51

a) *Design* e instalação dos experimentos em mesocosmos 51

b) Coleta de água para as análises físicas, químicas e biológicas 55

c) Coleta, preservação e análise do fitoplâncton 56

5.1.3. Estudos ecotoxicológicos laboratoriais, utilizando *Pseudokirchneriella subcapitata* e água dos mesocosmos 60

PARTE III: ESTUDOS LABORATORIAIS COM ABAMECTINA 61

5.1.4. Ensaios ecotoxicológicos com abamectina, utilizando *Pseudokirchneriella subcapitata* como organismo- teste 61

6. RESULTADOS 64

6.1. Testes de sensibilidade da alga *Pseudokirchneriella subcapitata* 64

6.2. Estudos ecotoxicológicos laboratoriais a partir do *runoff* 65

6.2.1. Análise granulométrica, nitrogênio, fósforo e metais no solo 65

6.2.2. Caracterização física e química da água do *runoff* 66

6.2.3. Testes de toxicidade com *P. subcapitata* 68

6.3. Estudos ecotoxicológicos *in situ* (mesocosmos) e laboratoriais a partir do *runoff* 71

6.3.1. Variáveis limnológicas obtidas durante período experimental *in situ* 72

6.3.1.1. Temperatura, pH, oxigênio dissolvido e condutividade elétrica da água 72

6.3.1.2. Formas nitrogenadas, fosfatadas e silicato reativo 73

6.3.1.3. Material em suspensão total, orgânico e inorgânico 77

6.3.1.4. Clorofila *a* e feofitina 78

6.3.2. Composição e estrutura da comunidade fitoplanctônica 79

6.3.2.1. Composição da comunidade fitoplanctônica 79

6.3.2.2. Densidade e abundância relativa do fitoplâncton 82

6.3.2.3. Índices ecológicos 92

6.3.3. Testes de toxicidade com *Pseudokirchneriella subcapitata* com a água dos mesocosmos 95

6.4. Testes de toxicidade com abamectina 96

7. DISCUSSÃO 99

7.1. Avaliação dos efeitos do Vertimec® sobre o crescimento, volume celular e conteúdo de carbono de *Pseudokirchneriella subcapitata* a partir dos experimentos do *runoff* 99

7.2. Avaliação dos efeitos diretos e indiretos do Vertimec® sobre o crescimento de *Pseudokirchneriella subcapitata* a partir dos experimentos em mesocosmos 104

7.3. Avaliação dos efeitos diretos e indiretos do Vertimec® sobre a estrutura da comunidade de fitoplâncton 106

7.4. Avaliação dos efeitos tóxicos da abamectina sobre *P. subcapitata* 121

8. CONCLUSÕES 127

9. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS 129

1. INTRODUÇÃO

No decorrer do processo de evolução da humanidade, muitas foram as interferências do homem nos recursos naturais (ESPÍNDOLA et al., 2000), verificando-se a influência antropogênica nos diferentes compartimentos da biosfera (terra, água ou atmosfera), com profundas modificações que ocorrem na composição química e biológica dos mesmos devido a introdução de compostos químicos (ROCHA, 2000).

Dentre estes compostos, os agrotóxicos têm recebido especial atenção, já que estes produtos são intencionalmente despejados no meio ambiente. Por não serem completamente seletivos, os pesticidas afetam também espécies não-alvo que estão presentes no ambiente, podendo causar profundas alterações nos diferentes níveis da organização biológica (DORES; DE-LAMONICA, 1999), com implicações também a saúde humana (SANTOS, 2007). Quando aplicados no solo, e dependendo da persistência do químico no ambiente, os agrotóxicos passam por uma série de processos como fotodecomposição, volatização e degradação biológica, sendo que os recursos hídricos acabam representando o destino final de muitos agrotóxicos em decorrência de certos fenômenos de transporte como lixiviação e escoamento superficial (BURATINI; BRANDELI, 2006; RIEDER, 2005).

No ambiente aquático, os agrotóxicos podem causar diversos efeitos adversos na comunidade biológica, como redução do número de espécies, alteração na reprodução, alteração comportamental, susceptibilização a doenças e magnificação biológica (DORES; DE-LAMONICA, 1999), sugerindo, portanto, estudos que possibilitem a avaliação de risco. A avaliação dos riscos da contaminação por agrotóxicos se faz em função da natureza das substâncias (toxicidade e propriedades), da exposição (quantidade e freqüência de duração) e do organismo (SANTOS, 2007), a qual pode ser feita por meio de estudos ecotoxicológicos. A ecotoxicologia, segundo Zagatto (2006), pode ser definida como a ciência que estuda os

efeitos nocivos causados por substâncias químicas sobre organismos vivos e como esses interagem com seus habitats.

Para se adquirir conhecimentos sobre os efeitos dos agentes químicos sobre a biota aquática têm sido utilizados testes com organismos de diferentes níveis tróficos sob condições de campo e de laboratório. Os testes de toxicidade laboratoriais são concebidos para proporcionar resultados consistentes e que possam ser reproduzidos. Contudo, eles não são projetados para prever os efeitos na espécie testada ao químico sob condições naturais, uma vez que o regime de exposição não representa as condições de exposição do sistema real (GRANEY et al., 1995).

Assim, a principal razão para realizar testes de campo ao ar livre, é fornecer um regime de exposição mais realista do que a informação gerada nos testes laboratoriais. Nesse sentido, os mesocosmos aquáticos representam uma tentativa de melhor simular e prever os efeitos ambientais dos estressores, especialmente contaminantes, sobre a estrutura e função dos ambientes aquáticos (BEJARANO et al., 2005). Desta forma, os experimentos em mesocosmos permitem o estudo dos efeitos de contaminantes sobre os organismos e comunidades sob condições semi naturais, simuladas e controladas. Ou seja, mesocosmos fazem a ligação entre a reprodutibilidade experimental e o realismo ecológico (MASUTTI, 2004).

Dentre os organismos mais recomendados para ensaios de avaliação da toxicidade aquática estão as algas, pois como produtores primários são a base da cadeia alimentar e qualquer alteração na dinâmica de suas populações pode afetar os níveis tróficos superiores do ecossistema (KLAINE et al., 2003). Estes organismos apresentam grande sensibilidade às alterações ocorridas no meio ambiente e o seu ciclo de vida relativamente curto possibilita a observação de efeitos tóxicos em várias gerações.

Dos diversos agrotóxicos utilizados, destaca-se atualmente o Vertimec®, cujo ingrediente ativo é a abamectina, um produto amplamente utilizado na medicina veterinária, além de ser um importante ingrediente ativo de inseticidas, acaricidas e nematicidas usados em várias culturas agrícolas. Atualmente, as informações a respeito dessa substância não são suficientes para comprovar se seus efeitos são inofensivos a organismos não-alvos. Diante do pouco conhecimento sobre a toxicidade deste produto, é necessário um maior entendimento dos efeitos ambientais deste composto, o que caracteriza a abordagem desta pesquisa.

2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1. Agrotóxicos: definições e usos

Agrotóxicos são os produtos e os agentes de processos físicos, químicos ou biológicos, destinados ao uso nos setores de produção, no armazenamento e beneficiamento dos produtos agrícolas, nas pastagens, na proteção de florestas, nativas ou implantadas, e de outros ecossistemas e também de ambientes urbanos, hídricos e industriais, cuja finalidade seja alterar a composição da flora ou da fauna, a fim de preservá-las da ação danosa de seres vivos considerados nocivos (BRASIL, 1989).

O termo “agrotóxico”, ao invés de “defensivo agrícola”, passou a ser utilizado no Brasil para denominar os venenos agrícolas após grande mobilização da sociedade civil organizada. Mais do que uma simples mudança da terminologia, esse termo coloca em evidência a toxicidade desses produtos para o meio ambiente e a saúde humana. Embora a terminologia seja amplamente aceita, os agrotóxicos ainda são genericamente denominados de praguicidas ou pesticidas (OPAS, 1996).

Considerando seus diversos efeitos nocivos, os agrotóxicos são classificados segundo seu poder tóxico (tabela 1) e modo de ação (tabela 2). A toxicidade da maioria deles é expressa em termos do valor da dose média letal (DL_{50}), por via oral, representada por miligramas do produto tóxico por quilo de peso vivo que são necessários para matar 50% de um organismo-teste. Assim, para fins de prescrição das medidas de segurança contra riscos para a saúde humana, os produtos são enquadrados em função da DL_{50}, inerente a cada um deles.

Tabela 1- Classificação toxicológica dos agrotóxicos em função da DL_{50} (Fonte: Embrapa, 2003)

Classe toxicológica	Descrição	Faixa indicativa de cor
I	Extremamente tóxico (DL50 < 50 mg/kg de peso vivo)	Vermelho vivo
II	Muito tóxico (DL_{50} – 50 a 500 mg/kg de peso vivo)	Amarelo intenso
III	Moderadamente tóxico (DL_{50} – 500 a 5000 mg/kg de peso vivo)	Azul intenso
IV	Pouco tóxico (DL_{50} > 5000 mg/kg de peso vivo)	Verde intenso

Tabela 2 - Classificação toxicológica dos agrotóxicos em função do modo de ação (Fonte: Gavrislecu, 2005).

Tipo	Ação
Algicidas	Controle de algas em corpos d'água e piscinas
Antimicrobiano	Controle de microorganismos patogênicos
Atrativos	Atraem pragas específicas usando ferormônios naturais que confundem o comportamento de acasalamento de insetos
Biopesticida	Substâncias naturais com propriedades pesticidas
Desfolhante	Causa a queda da folhagem, normalmente para auxiliar no processo de colheita
Dessecante	Auxilia no processo de secagem de plantas ou insetos
Fungicida	Controle de fungos
Herbicida	Controle de ervas daninhas
Inseticida	Controle de insetos
Moluscicida	Controle de moluscos
Nematicida	Controle de nematóides e organismos do solo
Ovicida	Controle de ovos de insetos
Piscicida	Controle de peixes
Regulador de crescimento	Acelera ou retarda o crescimento vegetal
Repelente	Repele mosquitos, carrapatos e outros animais
Rodenticida	Controle de roedores

Quanto à origem, os agrotóxicos podem ser inorgânicos (produzidos com compostos de mercúrio, bário, enxofre e cobre), orgânicos (apresentam átomos de carbono em sua estrutura) ou de origem vegetal, bacteriana e fúngica (piretrinos, antibióticos e fitocidas) (SANCHES, 2003).

A utilização dos agrotóxicos na agricultura iniciou-se na década de 1920, época em que eram pouco conhecidos do ponto de vista toxicológico. Durante a Segunda Guerra Mundial foram utilizados como arma química, tendo seu uso expandido enormemente a partir de então, chegando a produção industrial mundial a atingir dois milhões de toneladas de agrotóxicos por ano (OPAS, 1996).

No Brasil, foram primeiramente utilizados em programas de saúde pública, no combate de vetores e parasitas, com uso mais intensivo na agricultura a partir da década de 1960. Em 1975, o Plano Nacional de Desenvolvimento (PND), responsável pela abertura do Brasil ao comércio de agrotóxicos, condicionou o agricultor a comprar o produto com recursos do crédito rural, ao instituir a inclusão de uma cota definida de agrotóxico para cada financiamento requerido (OPAS, 1996). Nos últimos anos o Brasil se tornou um dos três maiores consumidores mundiais destes produtos e o oitavo em uso por área cultivada. Entre 2002 e 2008, por exemplo, o faturamento líquido do setor passou de 1,9 bilhão de dólares para 7,2 bilhões de dólares (SINDAG, 2009; ARMAS et al., 2007), sendo que até dezembro de 2008, aproximadamente 313.000 toneladas de ingredientes ativos tiveram uso agrícola no País. Neste mesmo ano a venda de defensivos agrícolas, os quais incluem inseticidas, fungicidas, herbicidas, acaricidas, reguladores de crescimento, ferormônios, moluscicidas e protetores de sementes, aproximou-se de 674.000 toneladas.

Verifica-se, portanto, que o uso de pesticidas ainda é, atualmente, a principal estratégia utilizada no campo para o combate e a prevenção de pragas agrícolas, aumento na produção de carne e leite na pecuária, diminuição na perda de alimentos armazenados e erradicação dos vetores de doença, garantindo alimento para a população (CALDAS; SOUZA, 2000; DORES; DE-LAMONICA, 1999). Desta forma, não se pode negar que esses produtos possibilitaram o aumento da produtividade agrícola, auxiliando no controle de vetores de diversas doenças.

Entretanto, seu uso desordenado e excessivo vem provocando diversos impactos sobre o meio ambiente. Dentre os efeitos nocivos ao ambiente, pode ser citada a presença de resíduos no solo, na água, no ar, nas plantas e animais. Além da contaminação do meio ambiente, estes resíduos podem chegar ao homem através da cadeia alimentar, ocasionando danos à saúde (EDWARDS apud SILVA; SANTOS, 2007). Além disso, tem-se verificado que os agrotóxicos afetam também as espécies não-alvo que estão presentes no ambiente, uma vez que não são completamente seletivos, implicando em perda da diversidade biológica. Adicionalmente, a aplicação não garante total assimilação do produto e, com isso, parte do agrotóxico poderá atingir organismos não-alvo, como por exemplo, vida selvagem, insetos, microorganismos do solo e organismos aquáticos, podendo causar diversos efeitos adversos como redução do número de espécies, alteração na reprodução, alteração comportamental, susceptibilização a doenças e magnificação biológica, dentre outros (DORES; DE-LAMONICA, 1999).

2.2. Contaminação de ambientes aquáticos por agrotóxico

Os agrotóxicos representam os produtos mais amplamente encontrados em corpos hídricos superficiais e subterrâneos do mundo todo, em função do amplo uso em áreas agrícolas e urbanas. Eles compreendem uma variedade de moléculas com distintas propriedades que lhes conferem diferentes graus de persistência ambiental, mobilidade e potenciais tóxico, carcinogênico, mutagênico e teratogênico ou algum efeito endócrino a diversos organismos não-alvos, inclusive o ser humano. Os extensos e dispendiosos programas de monitoramento dos EUA têm demonstrado resultados alarmantes, constatando a presença de mais de 70 diferentes agrotóxicos em águas subterrâneas de 38 estados, estando acima dos limites aceitáveis em 17 deles (ARMAS et al., 2007).

Os agrotóxicos podem alcançar os ambientes aquáticos através da aplicação intencional, deriva e escoamento superficial a partir de áreas onde ocorreram aplicações, lançamento de esgoto municipal e industrial, por ocorrência de acidentes em depósito ou durante o transporte de pesticidas, ou ainda por descarte inadequado de embalagens usadas (SILVA; SANTOS, 2007; DORES; DE-LAMONICA, 1999; BROCK et al., 2006).

A entrada dos pesticidas no meio aquático a partir do uso agropecuário depende, em grande parte, da dinâmica destes compostos no solo. Se o pesticida é muito solúvel em água, o mesmo é facilmente carreado pela água da chuva, através do escorrimento superficial ou para dentro do perfil do solo, vindo a contaminar águas subterrâneas por lixiviação. Se for insolúvel em água, o mesmo tende a ficar aderido ao solo e também aderidos aos materiais orgânicos e inorgânicos que são arrastados pelo *runoff* (RIEDER, 2005).

A movimentação do pesticida do solo para a atmosfera, que pode ocorrer por volatização direta, co-vaporização com a água e associação com o material particulado carregado pelo vento, é também importante para a distribuição destes produtos no ambiente e sua entrada nos sistemas aquáticos. Uma vez na atmosfera o pesticida pode entrar no ambiente aquático por deposição da poeira ou precipitação, o que, em geral, ocorre em local distante do ponto de emissão (DORES; DE-LAMONICA, 1999).

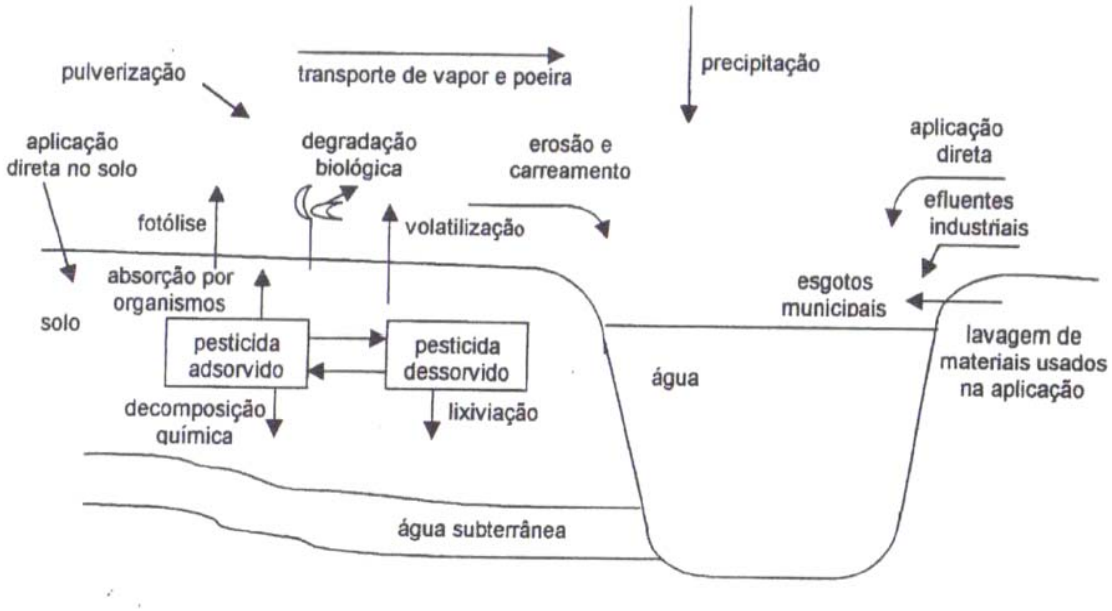


Figura 1: Vias de entrada do pesticida no ambiente aquático (Fonte: Dores e De-Lamonica, 1999).

2.3. Comportamento do agrotóxico no ambiente aquático

As propriedades físicas e químicas dos ecossistemas aquáticos podem afetar a atividade biológica e o impacto dos agentes químicos e outros xenobióticos. A vulnerabilidade do ambiente aquático às substâncias químicas depende das propriedades físicas e químicas dos contaminantes e dos produtos resultantes de sua transformação; da concentração dos contaminantes no ecossistema; da duração e do tipo de descarga dos contaminantes (descarga intermitente ou contínua); das propriedades do ecossistema que lhe permitem resistir às alterações resultantes da presença dos contaminantes, como a capacidade tamponante das águas e a concentração de matéria orgânica dissolvida nelas (RAND apud COSTA et al, 2008).

A concentração, transporte, transformação e disposição final de um contaminante introduzido no ambiente aquático dependem, principalmente, das propriedades do ambiente e

das características do contaminante. Uma vez no ambiente, os contaminantes podem estar sujeitos a uma combinação de processos que podem afetar o seu destino e comportamento. Destas interações, pode resultar inclusive maior tempo de exposição dos organismos aquáticos aos compostos tóxicos (SILVA; SANTOS, 2007).

Das diversas interações do agrotóxico no meio aquático, as mais importantes envolvem a matéria em suspensão e o sedimento. A natureza destas interações dependerá da solubilidade do pesticida em água e das características do sedimento (matéria orgânica, teor de argila e pH). Ao se ligar ao material particulado em suspensão, o pesticida eventualmente se depositará com o sedimento. Uma vez no sedimento, o pesticida pode ser novamente liberado na água e ser absorvido por organismos, podendo então ser detoxificado ou acumulado, ser alterado ou degradado por microorganismo ou ficar imobilizado (SILVA; SANTOS, 2007; DORES; DE-LAMONICA, 1999; RIEDER, 2005).

Além destas interações, os agrotóxicos podem ser envolvidos em processos de volatilização, hidrólise, fotólise e biodegradação. Esses processos são importantes porque determinam a persistência dos contaminantes no ambiente (BURATINI; BRANDELLI, 2006).

Com relação à volatização, os contaminantes que apresentam alta pressão de vapor e baixa solubilidade em água, tendem a volatilizar. Contaminantes com baixa pressão de vapor e baixa solubilidade em água tendem a se adsorver nos materiais particulados e nos sedimentos (BURATINI; BRANDELLI, 2006).

A hidrólise é uma reação importante porque os produtos resultantes dela são tipicamente mais solúveis em água e por isso são menos biodisponíveis e menos voláteis do que seus precursores (COSTA et al., 2008). A velocidade das reações de hidrólise depende de um grande número de variáveis ambientais como pH, temperatura, presença de catalisadores, sorção sobre sólidos e força iônica (BURATINI; BRANDELLI, 2006).

As reações fotoquímicas podem ser responsáveis por uma variedade de transformações, incluindo oxidação, hidroxilação e ciclização. A luz, principalmente a radiação UV, é capaz de provocar a quebra de ligações químicas e assim contribuir significativamente para degradar algumas substâncias (COSTA et al., 2008). A velocidade na qual uma substância é degradada por fotólise é determinada pelas propriedades da mesma (espectro de absorção) e do ambiente (transparência e profundidade da água) (BURATINI; BRANDELLI, 2006).

Com relação à degradação, ela pode ocorrer tanto por processos abióticos como bióticos. Apesar de muitos contaminantes serem susceptíveis aos processos de degradação abióticos, tais processos geralmente são muito lentos. Degradações mais rápidas dos contaminantes podem ocorrer por meio da ação de microorganismos. Os microorganismos, tais como bactérias e fungos, são capazes de degradar as substâncias orgânicas porque elas servem como fonte de carbono para seu crescimento e manutenção. Os fatores que influenciam a biodegradação desses contaminantes são: a disponibilidade de microorganismos apropriados, a susceptibilidade dos contaminantes à degradação biológica e as condições ambientais, tais como temperatura, pH, disponibilidade de nutrientes, nível de oxigênio, etc. Além desses, a disponibilidade das substâncias aos microorganismos pode desempenhar um papel importante. De forma geral, somente espécies dissolvidas são absorvidas pelos organismos e degradadas no interior das células. Transformações extracelulares por enzimas excretadas também são possíveis e podem afetar inclusive compostos adsorvidos nos materiais particulados e sedimentos (COSTA et al., 2008).

Os fatores ambientais definidos pelas características bióticas também podem interferir na toxicidade de compostos químicos no ambiente aquático. Os fatores bióticos incluem o grupo de organismo (alga, inseto ou peixe, etc.), estágio de desenvolvimento (larva, juvenil, adulto), tamanho, estado nutricional e de saúde, alterações sazonais no estado fisiológico,

dentre outros, sendo que estes fatores influenciam a resposta ao poluente de diferentes maneiras (SPRAGUE, 1985).

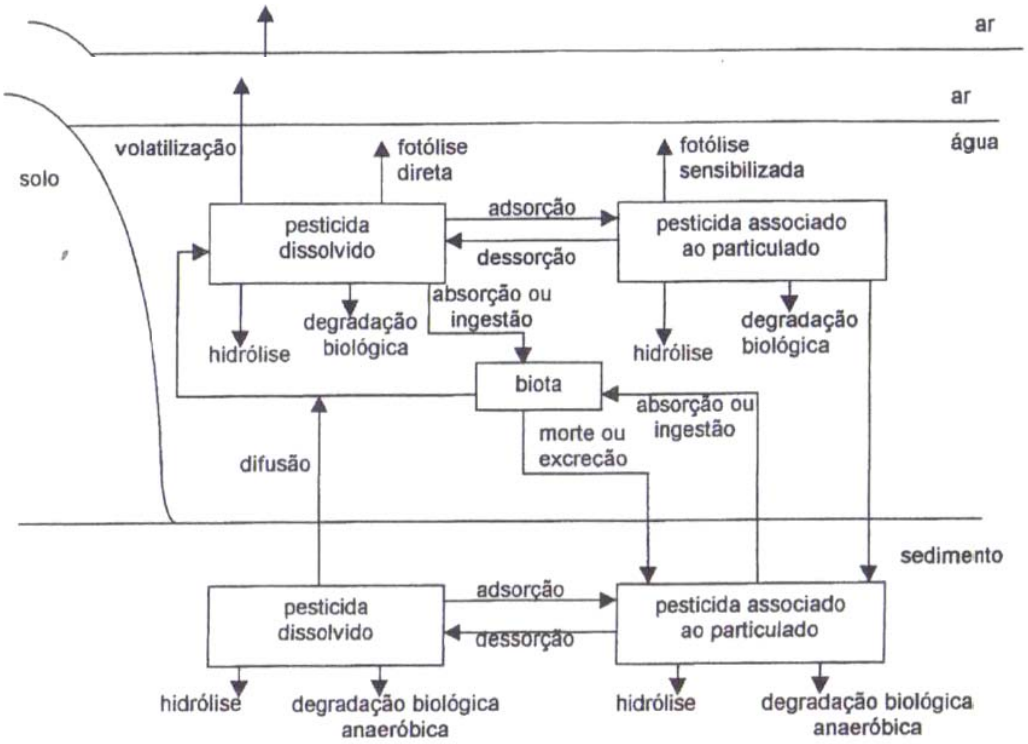


Figura 2: Dinâmica do pesticida no ambiente aquático (Modificado de Schnoor, 1992. Fonte: Dores e De-Lamonica, 1999).

2.4. Ecotoxicologia

O termo Ecotoxicologia é definido por Zagatto (2006) como sendo a ciência que estuda os efeitos dos poluentes aos organismos e como esses interagem com seus habitats. Para os autores os estudos ecotoxicológicos permitem avaliar os danos ocorridos nos diversos ecossistemas após a contaminação e também prever impactos futuros sobre a comercialização de produtos químicos e lançamentos de despejos num determinado ambiente.

Considerando essa definição, pode-se concluir que o princípio da Ecotoxicologia é a análise dos processos de transferência de contaminantes nos ecossistemas e nos efeitos sobre sua estrutura e funcionamento. Ecossistemas são estruturas unitárias, limitadas no tempo e no espaço, resultante da combinação do ambiente físico, biótopo, com a comunidade de organismos vivos, biocenose. Os fatores bióticos e abióticos caracterizam os ecossistemas e definem a base para qualquer abordagem ecotoxicológica. Os contaminantes incluem agentes físicos, químicos e biológicos que podem causar perturbações nos ecossistemas e em seus compartimentos (MASUTTI, 2004).

As propriedades inerentes dos agentes químicos, como transformação no ambiente, potencialidade de bioacumulação, persistência e concentração ambiental ou dose administrada, assim como os processos metabólicos dos organismos (absorção, distribuição, excreção e mecanismos de detoxificação), determinam o efeito específico num determinado alvo (órgão, indivíduo, população, comunidade). Esses efeitos adversos dos poluentes sobre os organismos vivos podem ser quantificados por uma variedade de critérios, como: números de organismos mortos ou vivos, taxa de reprodução, comprimento e massa corpórea, alterações fisiológicas e, até mesmo, a densidade e diversidade de espécies numa determinada comunidade biológica (ZAGATTO, 2006).

Como organismos-teste são utilizados algas e bactérias, invertebrados aquáticos zooplanctônicos e bentônicos, peixes, entre outros (FONSECA, 1997; MELETTI, 2003). Dentre os organismos mais recomendados para ensaios de avaliação da toxicidade aquática estão as algas, pois são produtores primários dominantes na cadeia alimentar no ambiente aquático (PFLEEGER et al., 1991). Além de serem a base da cadeia alimentar, as algas são importantes na ciclagem dos nutrientes, na produção de oxigênio e ainda desempenham papel no controle da qualidade física e química das águas naturais, pois podem afetar a intensidade

luminosa, a temperatura, pH, dureza e o oxigênio dissolvido da coluna d'água (LEWIS, 1995).

Assim, a utilização de microalgas em testes de toxicidade apresenta grande importância já que qualquer alteração da composição específica da comunidade fitoplanctônica pode afetar a estrutura e a função de todo o ecossistema (MASUTTI, 2004). Estudos com fitoplâncton, por exemplo, indicam que estes organismos apresentam uma rápida resposta fisiológica e, assim, os efeitos deletérios provocados por compostos tóxicos podem ser detectados em um curto período de tempo (SICKO-GOAD; STOERMER, 1988). Essas características permitem que as algas possam ser utilizadas como monitores biológicos de qualidade de água e como espécies indicadoras na avaliação de impacto ambiental de poluentes (HELLAWELL, 1986).

As algas, em geral, são mais sensíveis do que a espécie animal a uma variedade de potenciais contaminantes. Klaine et al. (2003), por exemplo, ao fazer uma revisão sobre dados de toxicidade da TSCA (Toxic Substances Control Act), demonstraram que as algas eram mais sensíveis do que as espécies animais em 50% das observações e menos sensíveis em 30%. Portanto, o uso de algas é importante para estimar o risco ambiental de produtos químicos. Para os autores, a avaliação da fitotoxicidade de um produto químico é um componente essencial da avaliação do risco ecológico desse composto, pois os produtores primários formam um nível trófico essencial de qualquer ecossistema.

Ensaios de toxicidade com algas têm sido utilizados para a avaliação de diversos produtos químicos, como efluentes de indústrias têxteis (DELLAMATRICE; MONTEIRO, 2006), metais (MASUTTI, 2004; PEÑA-CASTRO et al., 2004; TERRY; STONE, 2002; RODGHER, 2005; TUKAJ et al., 2007), substâncias de referência como sulfato de cobre e sulfato de zinco (RODRIGUES et al., 2003; SANTOS et al., 2007) e pesticidas (MA et al.,

2002; SABATER; CARRASCO, 2001; VAN DEN BRINK et al., 2009; CÁCERES et al., 2008).

Uma variedade de efeitos são monitorados em testes de toxicidade de algas, incluindo alterações morfológicas e fisiológicas. No entanto, a inibição e, em menor medida, os efeitos estimulatórios do tóxico na biomassa, são determinados na maioria dos casos. Os efeitos sobre a biomassa são determinados por contagem celular, peso seco e concentração de clorofila *a* (KLAINE et al., 2003).

2.5. Experimentos em Mesocosmos

Experimentos realizados em laboratório são essenciais na avaliação dos produtos químicos e de amostras ambientais, além de serem facilmente replicáveis. Porém, os testes de toxicidade *in vitro* ficam um pouco mais distantes dos resultados das condições naturais reais e, conseqüentemente, apresentam baixa representatividade ecológica (MASUTTI, 2004). Já os experimentos *in situ* permitem maior representatividade como dispositivo experimental, desde o mesocosmo até o ecossistema como um todo (GRADVOHL, 2006), embora também apresente algumas limitações.

Para Caquet et al. (2000), o uso de mesocosmos refina os métodos clássicos de avaliação de risco ecotoxicológico porque fornece condições para uma melhor compreensão dos efeitos ambientais de substâncias químicas. Eles tornam possível avaliar os efeitos de contaminantes, olhando para as partes (indivíduos, populações, comunidades) e para o todo (ecossistemas) simultaneamente.

Apesar dos estudos ecotoxicológicos em mesocosmos não substituírem completamente o uso de organismos em laboratório, eles permitem que os testes sejam realizados com espécies que não são de interesse social relevante, mas que desempenham papéis fundamentais na estrutura e função dos ecossistemas, permitindo prever mudanças nos níveis

mais elevados de organização (população, comunidade e ecossistema) a partir de medições em parâmetros individuais (CAQUET et al., 2000).

Assim, pode-se concluir que os mesocosmos aquáticos são uma tentativa de melhor simular e prever os efeitos ambientais dos estressores, especialmente contaminantes, sobre a estrutura e função dos ambientes aquáticos ou terrestres (BEJARANO et al., 2005). Neste sentido, os experimentos em mesocosmos permitem o estudo dos efeitos de contaminantes sobre os organismos e comunidades sob condições semi naturais, simuladas e controladas. Ou seja, mesocosmos fazem a ligação entre a reprodutibilidade experimental e o realismo ecológico (MASUTTI, 2004).

Apesar do reconhecimento de sua importância, poucos estudos são desenvolvidos utilizando essa ferramenta, até mesmo pelo fato de ainda não existir um consenso sobre a própria definição de mesocosmos. Para Odum (1984), por exemplo, o termo mesocosmos é apropriado para experimentos com o tamanho compreendido entre os microcosmos laboratoriais e os grandes e complexos macrocosmos do mundo real. Banse (1982) definiu mesocosmos como experimentais maiores que recipientes de bancada, porém menores e isolados de qualquer subunidade do ambiente natural. Para Graney et al. (1995), mesocosmos podem ser definidos como uma parte isolada do ambiente natural ou um modelo físico de um ecossistema nos quais os sistemas de teste são manualmente tratados com as substâncias tóxicas em concentrações teste pré-determinadas. Caquet et al., (1996) definem mesocosmos como ecossistemas artificiais situados em condições ambientais (climáticas) naturais, que apresentam suficiente complexidade e estabilidade para serem auto-sustentáveis.

Apesar de existir diferenças na terminologia de mesocosmos, na prática os ecotoxicologistas tem definido mesocosmos como ecossistemas semi-controlados e ao ar livre, tais como tanques experimentais, e fluxos de água cujas dimensões físicas são conhecidas e controladas. Estes sistemas experimentais estão sujeitos às vicissitudes do clima

regional, recolonização natural, interações interespecíficas, doenças e outros fatores (BOYLE; FAIRCHILD, 1997).

Diante destas condições, os ensaios em mesocosmos apresentam vantagens em relação aos estudos de laboratório, uma vez que experimentos que envolvem a manipulação de todo o sistema aquático atingem um maior grau de realismo, pois incorporam características ambientais que são determinantes dos processos ecológicos, como o tamanho do habitat, escala temporal, variabilidade espacial e integração entre habitats e ecossistemas adjacentes (CARNEIRO et al., 2005).

A maior vantagem na utilização destes testes é a possibilidade de se trabalhar com réplicas e com várias concentrações do contaminante ao mesmo tempo, além de apresentar a possibilidade de comparação das respostas com um controle. O sistema teste contém, assim, uma comunidade aquática naturalmente desenvolvida, usualmente contendo sedimentos, organismos como zooplâncton e fitoplâncton, macroinvertebrados pelágicos e bentônicos e macrófitas de origem natural (MASUTTI, 2004). Nesse sentido, verifica-se que os mesocosmos, apesar de menor replicabilidade, apresentam maior complexidade e representabilidade, possibilitando uma maior previsão das mudanças em níveis diferenciados de organização biológica e contribuindo, juntamente com os testes laboratoriais, para a elaboração de modelos e, conseqüentemente, para a tomada de decisões (Figura 3).

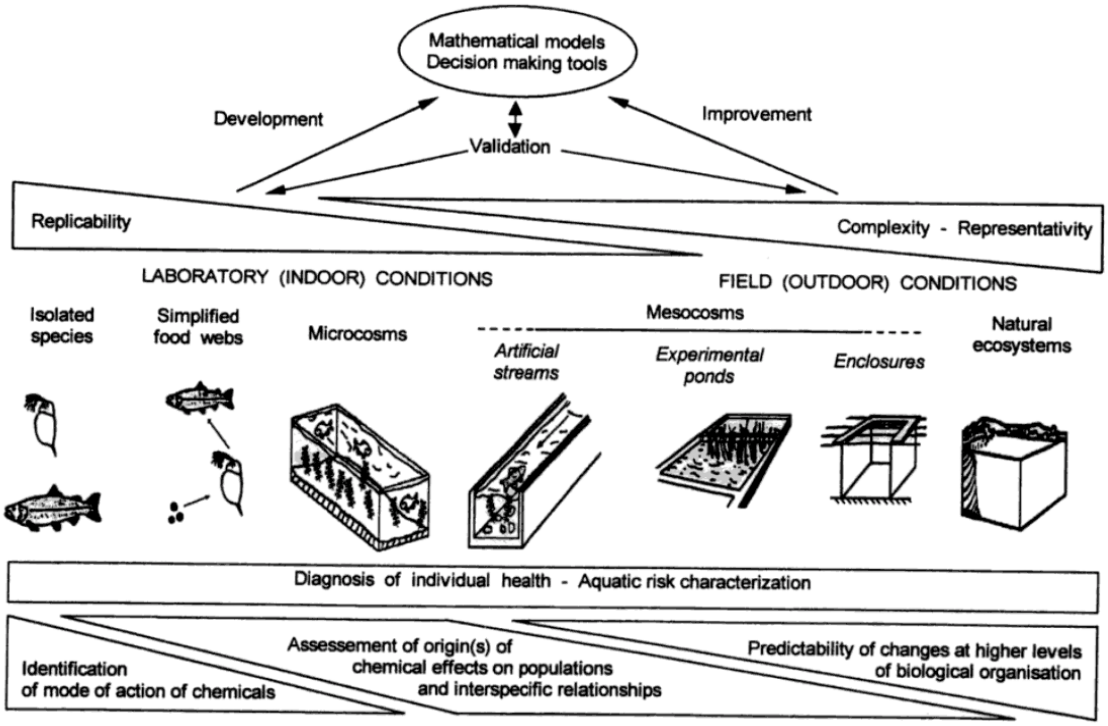


Figura 3: Representação esquemática das metodologias usadas em ecotoxicologia (Adaptado de Caquet et al., 2000).

Ensaios em mesocosmos atingem um grau de confiabilidade estatística satisfatória e acrescentam mais realismo à experimentação, simplesmente porque em geral, são conduzidos no campo sob condições naturais, permitindo fenômenos como migração vertical de organismos, incluindo estratificações físicas e químicas e trocas entre a coluna d'água e o sedimento. Além disso, experimentos em mesocosmos são controlados e replicáveis, permitindo a construção de desenhos experimentais capazes de testar múltiplas hipóteses com rigor estatístico (CARNEIRO et al., 2005).

Logicamente, muitas críticas podem ser feitas a experimentos em mesocosmos, como a restrição de processos biogeoquímicos pelo confinamento do sistema, grande efeito de borda das paredes da estrutura, reduzida heterogeneidade espacial e limitação temporal pela interrupção prolongada do contato entre compartimentos e por artefatos experimentais (CARNEIRO et al., 2005).

Apesar de apresentar algumas desvantagens, nos estudos em mesocosmos os efeitos toxicológicos diretos podem ser observados e quantificados, além disso, implicações ecológicas indiretas podem ser feitas. Estes estudos podem permitir que dados de toxicidade derivados de laboratório sejam extrapolados para o mundo real (JACK et al., 1996).

Outra importante razão para a condução destes estudos é a medida de efeitos dos químicos sob condições de exposição real, com a influência da partição do contaminante nos sedimentos e plantas, fotólise e outros processos que podem influenciar o destino do químico, além de incorporar condições abióticas naturais (temperatura, luz, pH, etc.), que podem influenciar as respostas de certos organismos (MASUTTI, 2004).

2.8. Vertimec® 18 CE

O aumento da população mundial e a demanda crescente de alimentos têm motivado o uso de grandes quantidades de pesticidas nas plantações e na criação de animais para prevenir ou combater pragas, visando assegurar maior produtividade (CALDAS; SOUZA, 2000; KOLAR et al., 2008). No entanto, este intenso uso de pesticidas, associados a algumas características ambientais, como intensidade de chuva e topografia, faz com que estes compostos sejam carreados para os corpos d'água, afetando assim a comunidade biológica e o funcionamento dos ecossistemas.

Entre os diversos produtos utilizados, destaca-se atualmente o Vertimec®, um exemplo de agrotóxico amplamente utilizado para controlar insetos, ácaros e nematóides em várias culturas agrícolas (CAMPBELL, 1989; KOLAR, et al. 2008). A classificação toxicológica do Vertimec®, de acordo com a bula do produto, é III (rótulo azul), ou seja, "medianamente tóxica". Porém, com relação ao potencial de periculosidade ambiental é considerado muito perigoso ao meio ambiente (classe II), altamente persistente e extremamente tóxico para microcrustáceos e peixes.

A abamectina (Figura 4), também conhecida com o nome comercial de Vertimec®, pertence ao grupo químico da Avermectina. Abamectina é uma mistura de avermectina contendo cerca de 80% de avermectina B1a ($C_{48}H_{72}O_{14}$) e 20% de avermectina B2b ($C_{47}H_{70}O_{14}$). (FISHER; MROZIK, 1989). Avermectinas (abamectina, ivermectina, doramectina) são um complexo de agentes quimicamente relacionados, pertencendo a um grupo de antibióticos macrocíclicos obtido a partir da fermentação do actinomiceto *Streptomyces avermitilis* (BURG et al., 1979; HALLEY et al, 1989; 1993; ERŽER et al., 2005; STEEL, 1993).

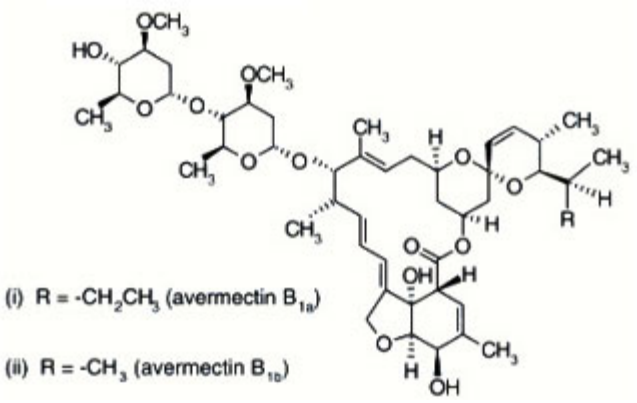


Figura 4: Fórmula química da abamectina (Fonte: SIA, 2009).

A abamectina é atualmente utilizada no mundo inteiro como um agente antiparasitário em animais de criação e de estimação, além do uso agrícola como ingrediente de inseticidas e nematicidas (KOLAR et al., 2008). Devido à sua utilização generalizada, é importante estabelecer os efeitos ambientais e de destino de abamectina tanto sob condições de laboratório quanto ao ar livre (HALLEY et al., 1989).

Estudos realizados por Halley et al. (1989), com um composto químico similar, a invermectina, indicam elevada toxicidade aguda para *Daphnia magna,* com LC_{50} 48h de 25 $ng.L^{-1}$. Garric et al. (2007), estudando os efeitos tóxicos do mesmo composto para *D. magna*, encontraram um valor de LC_{50} 48h superior, sendo 1,7 $ng.L^{-1}$. Os autores ainda observaram uma redução significativa na sobrevivência, reprodução e taxa de crescimento de *D. magna*, além de um aumento na percentagem de descendentes do sexo masculino.

Esta elevada toxicidade também foi observada por Tišler e Eržen (2006) em estudos ecotoxicológicos realizados em *Scenedemus subspicatus* e *Danio rerio* com abamectina, demonstrando que este composto é altamente tóxico para fitoplâncton e peixes em concentrações muito baixas, sendo os valores de CE_{50} 4,4 $mg.L^{-1}$ para *S. subspicatus* e 49,3 $\mu g.L^{-1}$ para *D. rerio*.

A Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA), de acordo com o decreto de lei 4074/02, promove a reavaliação de registro de agrotóxicos, seus componentes e afins quando surgem indícios da ocorrência de riscos que desaconselham o uso de produtos registrados ou quando o país é alertado nesse sentido, por organizações internacionais responsáveis pela saúde, alimentação ou meio ambiente, das quais o Brasil seja membro integrante ou signatário de acordos (BRASIL, 2002).

Ainda conforme este decreto, como resultado das reavaliações pode-se: manter o registro sem alterações; manter o registro, mediante a necessária adequação; propor a mudança da formulação, dose ou método de aplicação; restringir a comercialização; proibir, suspender ou restringir a produção ou importação; proibir, suspender ou restringir o uso; cancelar ou suspender o registro (BRASIL, 2002).

Dentre os ingredientes ativos propostos para reavaliação em 2008 pela ANVISA (Resolução da Diretoria Colegiada – RDC nº 10, de 22 de fevereiro de 2008) está a abamectina, princípio ativo do Vertimec®. Para a Agência Nacional de Vigilância Sanitária o

ingrediente ativo abamectina, segundo estudos realizados, apresenta resultados preocupantes relativos à toxicidade aguda e suspeita de toxicidade reprodutiva dessa substância e de seus metabólitos (BRASIL, 2008).

Os resultados da reavaliação ainda não estão disponíveis, sendo que até o presente momento a abamectina é classificada pela ANVISA na classe toxicológica I (extremamente tóxica) (BRASIL, 2008).

Em agosto de 2009 foi proposto na Assembléia Legislativa de São Paulo um Projeto de Lei (743/2009) que determina banir 14 princípios ativos utilizados na formulação de mais de 200 agrotóxicos. Entre os principais malefícios causados pelos pesticidas que integram a relação estão câncer, mutações e problemas no sistema nervoso. Dentre os ingredientes, a abamectina está citada (SÃO PAULO, 2009).

No entanto, apesar dos riscos alertados pela ANVISA, ainda existem poucas pesquisas sobre a toxicidade de abamectina nos ecossistemas aquáticos e, mais raros ainda, com a fórmula comercial, o Vertimec®, visto que não foi encontrado nenhum trabalho em literatura que envolva testes de toxicidade com a formulação comercial. Assim, pouco se sabe sobre as interações entre os compartimentos e os organismos.

3. JUSTIFICATIVAS

Como já mencionado, o Vertimec® é amplamente utilizado em várias culturas, inclusive morango e batata. O município de Bom Repouso, localizado no sul de Minas Gerais, é um exemplo de locais onde a sua utilização é freqüente e intensa. A principal atividade econômica do município é a agricultura, sendo os principais produtos cultivados a batata inglesa e o morango. As características físicas do município favorecem um maior impacto sobre os corpos d'água devido ao intenso uso de Vertimec® associados ao fato de ser uma região com topografia acidentada e de alta incidência de chuvas. Tais situações favorecem o aumento do escoamento superficial carreando para os mananciais os insumos agrícolas.

Baseado nas informações obtidas em Bom Repouso através de um trabalho anterior (PROJETO MOGI-GUAÇU: desenvolvendo ações sócio-ambientais, de autoria de ESPÍNDOLA e BRIGANTE, 2009), realizado pelo Núcleo de Estudos em Ecossistemas Aquáticos, do CRHEA/SHS/EESC/USP, verificou-se, por meio de entrevistas junto aos agricultores, o uso intensivo e generalizado de diversos agrotóxicos, destacando-se, entre eles, o Vertimec®. Assim, associado ao uso e tendo em vista que as informações a respeito da abamectina não são suficientes para comprovar se seus efeitos são inofensivos a organismos não-alvos, torna-se pertinente um maior conhecimento dos efeitos do Vertimec® no ambiente aquático.

Em relação ao uso das algas como organismos indicadores dos efeitos de contaminantes, do ponto de vista ecológico, essas representam um grupo cosmopolita, ocorrendo na superfície de todos os tipos de solo tendo, porém, sua maior distribuição na água (BICUDO; BICUDO, 1970), onde constituem os principais produtores primários de compostos orgânicos de carbono. São, portanto, parte fundamental da cadeia alimentar nos ecossistemas aquáticos (ROUND, 1965a). Como aproximadamente 70% da superfície do planeta está coberta por águas superficiais, a importância das algas nestes compartimentos

ambientais reside nos processos de conversão de energia solar em energia química, que circula através da cadeia alimentar, com liberação de oxigênio como subproduto (ROST, 1984).

A comunidade planctônica também apresenta um importante papel na ciclagem de nutrientes nos ambientes aquáticos, participando das transformações bioquímicas da matéria orgânica dissolvida e particulada. O fitoplâncton é um importante elo entre a matéria orgânica dissolvida e os níveis tróficos superiores, realizando sua conversão em biomassa com notável eficiência (CARRILLO et al., 2004). A comunidade planctônica apresenta ainda uma reciprocidade com o meio circundante, sendo que alterações nas relações de equilíbrio entre as variáveis físicas, químicas e biológicas podem resultar em profundos impactos sobre a biota, com efeitos sobre a estrutura e a produtividade dos sistemas aquáticos (LUCINDA, 2007).

De acordo com Lewis (1990), algas e macrófitas são mais sensíveis que invertebrados e peixes para vários tipos de detergentes surfactantes, efluentes têxteis, tintas, combustíveis sintéticos, herbicidas e uma variedade de compostos fitotóxicos. Outros estudos indicam ainda que as algas têm se mostrado sensíveis para um amplo espectro de contaminantes incluindo metais (BARTLETT et al., 1974; GREENE et al., 1988; HICKEY et al., 1991), inseticidas organoclorados e compostos orgânicos industriais (KLAINE et al., 2003; LEWIS, 1995).

Frente à contaminação dos ambientes aquáticos por agrotóxicos, se faz necessário um estudo mais complexo que envolva a influência do escorrimento superficial na toxicidade de organismos aquáticos e, aliados a isso, um estudo em escala de mesocosmos que forneça uma melhor compreensão da comunidade fitoplanctônica em resposta a contaminação por agrotóxicos. Pode ainda inferir que o estudo em si, realizado também em mesocosmos, poderá

contribuir para uma ampliação do uso dessa ferramenta dentro dos estudos ecológicos e ecotoxicológicos, subsidiando pesquisas similares.

4. OBJETIVOS

4.1. OBJETIVO GERAL

O objetivo geral dessa pesquisa foi avaliar os efeitos da aplicação do Vertimec® na composição e densidade da comunidade fitoplanctônica (em ecossistemas aquáticos) por meio de estudos laboratoriais e "*in situ*" (mesocosmos), considerando a contaminação de parcelas de solo, o escorrimento superficial (*runoff*) e a adição direta do contaminante nos ecossistemas aquáticos.

4.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Avaliar a toxicidade das amostras do *runoff* por meio de testes crônicos com o organismo-teste *Pseudokirchneriella subcapitata.*
- Determinar as faixas de sensibilidade do ingrediente ativo do Vertimec® "abamectina" ao organismo-teste *Pseudokirchneriella subcapitata*;
- Avaliar as características físicas, químicas e biológicas (clorofila e comunidade fitoplanctônica) da água dos mesocosmos após a contaminação;
- Avaliar as possíveis alterações na estrutura (densidade e composição) da comunidade fitoplanctônica, com base em modificações estruturais e em índices ecológicos.

5. MATERIAIS E MÉTODOS

Para atender aos objetivos propostos, procurou-se, de forma mais sistematizada, dividir a realização das tarefas em três etapas:

a) a primeira foi a execução do experimento do *runoff*, cujo objetivo foi verificar a toxicidade do Vertimec® a partir da contaminação do solo e a sua entrada ao ecossistema aquático, por meio de testes uniespecíficos. Para isso foram realizados ensaios ecotoxicológicos em laboratório com a alga *Pseudokirchneriella subcapitata* exposta a água do *runoff*.

b) a segunda parte foi a execução do experimento em mesocosmos, procurando-se verificar a toxicidade do Vertimec® em organismos aquáticos a partir de duas formas de contaminação do sistema aquático: o aporte indireto do contaminante ao ecossistema aquático (aplicação prévia do contaminante no solo e carreamento ao corpo hídrico pelo *runoff*) e a adição direta do contaminante no ecossistema aquático, aplicando o agrotóxico, em sua formulação comercial (Vertimec®), diretamente no ecossistema aquático. Nesta etapa foi avaliada a resposta da comunidade fitoplânctonica natural do sistema experimental e também a resposta da alga *P. subcapitata* sob condições laboratoriais, exposta a água dos mesocosmos, em quatro situações experimentais: controle, *runoff* não contaminado, *runoff* contaminado e Vertimec®.

c) considerando que o principal princípio ativo do Vertimec® é a abamectina, procurou-se na terceira etapa avaliar os seus efeitos tóxicos por meio de ensaios uniespecíficos, utilizando a alga *P. subcapitata*, determinando-se a faixa de sensibilidade da espécie.

5.1. Delineamento experimental do *runoff*

Este experimento foi realizado nas dependências do Centro de Recursos Hídricos e Ecologia Aplicada (CRHEA), que pertence ao Departamento de Hidráulica e Saneamento (SHS), da Escola de Engenharia de São Carlos (EESC), Universidade de São Paulo (USP), localizado no município de Itirapina, SP.

Nessa etapa do experimento, procurou-se simular uma situação de plantio, com aplicação do agrotóxico e os conseqüentes efeitos da precipitação no transporte de material (partículas de solo, organismos e contaminantes) para o ecossistema aquático via *runoff*, contribuindo para alterações físicas, químicas e biológicas.

Para a realização do *runoff* duas parcelas de solo de 8 m^2 foram preparadas como em uma cultura, onde toda a vegetação é removida e o solo é arado. Das parcelas, uma foi contaminada com o agrotóxico Vertimec® (Syngenta), conforme apresentado nas Figuras 5 e 6, com o auxílio de um pulverizador costal (Figura 7) e a outra parcela foi apenas borrifada com água, utilizando o pulverizador costal, na mesma quantidade usada para a diluição do agrotóxico. O objetivo deste procedimento era obter um *runoff* controle (não contaminado) e um *runoff* contaminado com o agrotóxico para verificar se as possíveis alterações seriam provenientes do *runoff* (aumento da turbidez e concentração de nutrientes, por exemplo), do agrotóxico ou de ambos.

A concentração de Vertimec® utilizada para contaminar a parcela do solo foi a indicada (pelo fabricante) nas culturas de morango, sendo 0,75 $ml.L^{-1}$ (o que representa 0,125 $L.m^2$ de calda). Após a contaminação, foi simulada uma chuva torrencial, típica de verão em países tropicais, como o Brasil (Figura 8). A simulação de 19 mm de chuva ocorreu logo após a contaminação do solo, sendo que esta média pluviométrica foi baseada numa série de dados de 3 anos obtida na estação climatológica do CRHEA.

Antes da aplicação do agrotóxico e da simulação da chuva foram cavados sulcos abaixo das parcelas de solo, para que a água escoada superficialmente ficasse armazenada e pudesse ser coletada (Figura 6). Esses sulcos foram revestidos com lona plástica para que a água não penetrasse no solo. A água escoada foi coletada com o auxílio de baldes e armazenadas em galões de polietileno (Figura 9).

A

B

Figura 5: A figura A ilustra o local onde o experimento foi realizado e a figura B ilustra a preparação das parcelas de solo.

A

B

Figura 6: As figuras A e B ilustram o solo já preparado e os sulcos revestidos por lona para armazenagem da água escoada superficialmente.

A

B

Figura 7: As figuras A e B representam a contaminação do solo com o pulverizador costal.

A

B

Figura 8: A figura A ilustra a simulação da chuva torrencial nas parcelas do solo previamente contaminadas com o agrotóxico e a figura B ilustra a água escoando superficialmente.

A

B

Figura 9: A figura A ilustra o *runoff* armazenado nos sulcos após o escoamento superficial e a figura B ilustra e o recolhimento do *runoff* para a realização dos testes.

Com a água coletada do *runoff* os ensaios laboratorias e "*in situ*" foram montados, com o objetivo de verificar a ocorrência de toxicidade para os organismos aquáticos. No laboratório foram montados ensaios ecotoxicológicos com o *runoff* utilizando a alga *Pseudokirchneriella subcapitata* e em campo foram montados mesocosmos que foram contaminados com o *runoff* e verificou-se a toxidade deste tratamento na comunidade fitoplânctonica de um ambiente experimental. Considerando as questões de infra-estrutura dos laboratórios e o tempo necessário para a realização das atividades, o experimento de *runoff* foi efetuado duas vezes (uma no dia 26 de Fevereiro de 2008 e a outra em 04 de Dezembro de 2008), procurando-se não diferenciar as condições climatológicas (verão, com elevadas temperaturas e maiores índices de pluviosidade). Com isso, no primeiro experimento apenas os ensaios laboratoriais com *P. subcapitata* foram feitos, enquanto que, no segundo experimento, os mesocosmos foram montados e contaminados com o *runoff*.

Os procedimentos laboratoriais como aquisição, manutenção da cultura e os testes ecotoxicológicos com o organismo-teste encontram-se descritos no item 5.1.1. Os procedimentos para os testes "*in situ*" encontram-se descritos no item 5.1.2..

PARTE 1: EXPERIMENTOS LABORATORIAIS A PARTIR DO *RUNOFF*

5.1.1. Estudos ecotoxicológicos laboratoriais

a) Cultivo dos organismos-teste

Os exemplares iniciais para o cultivo de *Pseudokirchneriella subcapitata* foram obtidos das culturas-estoque mantidas no Laboratório de Ecotoxicologia e Ecofisiologia de Organismos Aquáticos do CRHEA/SHS/EESC/USP.

Os inóculos foram mantidos em meio ágar inclinado com peptona protease, em condições controladas de temperatura e luminosidade. O cultivo foi feito em meio L.C. Oligo,

o qual foi autoclavado a 121ºC por 15 minutos. Em condições assépticas, com o auxílio de uma alça de platina flambada e esfriada, uma porção do inóculo da cultura sólida de *P. subcapitata* foi transferida para o frasco contendo meio de cultura, quando então foi encubada a 25°C (± 2ºC), com agitação e luminosidade contínuas (100-175 rpm e 4.500 lux, respectivamente), por um período de 5 a 7 dias, até atingir a fase exponencial de crescimento (ABNT, 2005).

b) Testes de sensibilidade

Como uma prática recomendada para avaliar as condições fisiológicas do organismo-teste, foram realizados mensalmente testes de sensibilidade com culturas de *P. subcapitata* com a substância de referência cloreto de sódio (NaCl), baseando-se nas recomendações da ABNT (2005).

Para tanto, células de *P. subcapitata* na fase exponencial de crescimento foram expostas por um período de 96 horas ao cloreto de sódio nas concentrações de 0 (controle); 0,5; 2,0; 3,5; 5,0 e 6,5 $g.L^{-1}$. Os testes foram realizados em triplicatas usando frascos de policarbonato com 250 mL de capacidade, contendo 100 mL da solução-teste. Os ensaios foram manipulados em condições assépticas, com temperatura controlada em 25°C (± 2ºC), sob agitação contínua de 175 rpm em mesa agitadora e iluminação permanente de 4.500 lux. No final da exposição, a contagem das células foi realizada em câmara de Neubauer.

As soluções de cloreto de sódio, utilizadas nos ensaios de sensibilidade foram preparadas no momento da execução dos ensaios e as diluições das concentrações testadas foram feitas utilizando-se o próprio meio de cultivo algáceo.

Com os resultados de sensibilidade obtidos ao longo do período amostral, foi elaborada uma carta-controle, ou seja, a faixa de sensibilidade do organismo-teste, constituída pelo valor médio, o desvio padrão e coeficiente de variação.

c) Testes de toxicidade com *Pseudokirchneriella subcapitata* com o *runoff*

Foram realizados testes de toxicidade crônica com amostras provenientes do *runoff* contaminado (RC) e do *runoff* não contaminado (RNC). Para os testes, células de *P. subcapitata,* na fase exponencial de crescimento, foram expostas aos contaminantes por um período de 96 horas. Os experimentos foram realizados em triplicatas usando frascos de policarbonato com 250 mL de capacidade, contendo 100 mL da solução-teste. Os frascos foram colocados em uma mesa agitadora com velocidade de agitação de 100 a 175 rpm e sob iluminação e temperatura controlados em torno de 25°C (± 2ºC). Os materiais envolvidos na manutenção da alga e nos testes de toxicidade crônica foram previamente lavados com detergente neutro, enxaguados com HCL 1M e autoclavados por 20 minutos a 121°C (ABNT, 2005).

Nos testes realizados com as águas do *runoff* contaminado e não contaminado foram feitas diluições procurando atingir as seguintes concentrações da água do *runoff*: 100%, 50%, 25%, 12,5%, 6,25% e 3,12%. Para diluir as amostras do *runoff* foi usado meio L.C Oligo (ABNT, 2005), conforme descrito na Tabela 3. Antes da diluição, a água do *runoff* foi enriquecida com as soluções de nutrientes do meio L. C. Oligo para que as diluições não afetassem os testes devido a diferença de nutrientes.

Tabela 3 - Valores das concentrações-teste, água de *runoff* e meio L.C.Oligo utilizados nos experimentos laboratoriais de toxicidade.

Concentração do teste	**Água de *runoff***	**Meio L. C. Oligo**
100%	100%	0
50%	50%	50%
25%	25%	75%
12,5%	12,5%	87,5%
6,25%	6,25%	93,75%
3,12%	3,12%	96,88%

A determinação da densidade celular foi realizada por meio da contagem de células no microscópio óptico, utilizando-se um hemocitômetro Improved Neubauer-Bright Line. Alíquotas de 2 mL foram obtidas dos testes de toxicidade a cada 24 horas. Todos os procedimentos de coleta das amostras, do preparo das soluções-teste e da inoculação com a espécie algal foram feitos em condições assépticas em cabine de fluxo laminar. As amostras destinadas à contagem das células foram fixadas com solução de lugol acético.

No final dos testes de toxicidade com *P. subcapitata*, amostras também foram coletadas para a avaliação da concentração de clorofila *a*, do biovolume e do conteúdo de carbono orgânico. A determinação das concentrações de clorofila *a* foi realizada segundo metodologia descrita em Nusch (1980). A alíquota para clorofila *a* foi filtrada em membrana GF/C de 0,45 μm, a extração foi feita em etanol 80% a quente e a determinação em espectrofotometria uv.

As algas foram caracterizadas morfologicamente quanto ao tamanho em (μm) através de medidas efetuadas em 30 organismos. As medidas foram feitas com ocular micrométrica, em microscópio binocular Zeiss. Com as medida de tamanho foi calculado o volume celular ou biovolume (μm^3). Para tanto, foi aplicado as dimensões das células nas formas geométricas mais apropriadas (VOLLENWEIDER, 1974; BOTTREL et al., 1976; WETZEL; LIKENS, 1991). Com as medidas do volume celular foi calculado o conteúdo de carbono orgânico total por célula. Para tanto foi utilizada a relação entre conteúdo de carbono e volume celular (ROCHA; DUNCAN, 1985).

Para verificar se houve diferença significativa ($p<0,05$) da densidade celular, biovolume e conteúdo de carbono entre o controle laboratorial e as demais amostras, os resultados foram submetidos às análises de normalidade e de homogeneidade e, em seguida, ao teste de Dunnett, utilizando o programa computacional TOXSTAT 3.4.

d) Caracterização física e química do *runoff*

Antes da realização dos ensaios ecotoxicológicos com o *runoff* algumas variáveis limnológicas foram determinadas em laboratório, conforme descrito na Tabela 4.

Tabela 4 - Metodologia de análise das variáveis físicas e químicas da água do *runoff*.

Variável (unidade)	Instrumentação	Metodologia
Turbidez (NTU)	Espectofotômetro Hack DR2000	-
Condutividade elétrica ($\mu S.cm^{-1}$)	Condutivímetro Orion 145	-
pH	Potenciômetro Micronal B374	-
Dureza ($mg.L^{-1}$)	Titulação	APHA (1995)
Material em suspensão ($mg.L^{-1}$)	Gravimetria em filtros	TEIXEIRA et al. (1965)
Agrotóxico (Abamectina) ($\mu g.L^{-1}$)	Cromatografia líquida	-

PARTE II: EXPERIMENTOS *IN SITU* A PARTIR DO *RUNOFF*

5.1.2. Estudos ecotoxicológicos *in situ*

a) *Design* e instalação dos experimentos em mesocosmos

Este experimento também foi realizado nas dependências do CRHEA, sendo executados no período de 04 a 14 de dezembro de 2008. Como mesocosmos foram utilizados 12 tanques cilíndricos de polietileno com cerca de 58 cm de diâmetro por 90 cm de altura (aproximadamente 200 L), abertos na superfície e fundo (Figura 10), que foram previamente lavados com HNO_3 e água destilada. O experimento foi montado em triplicata para cada tratamento e para o controle.

Com o intuito de manter as condições ambientais próximas às observadas em campo, os tanques experimentais foram acondicionados dentro de um tanque maior de concreto construído às margens da represa do Lobo (Figuras 10 e 11). Este tanque já continha água e sedimento e uma comunidade biológica estabelecida. Os tubos de polietileno foram preenchidos com a água do tanque de concreto, sendo que a base dos tubos alcançou o fundo

do tanque de concreto, englobando assim o sedimento. Pesos de concreto ("corpos de prova" de aproximadamente 12 kg cada um) foram presos na superfície dos tanques experimentais, evitando assim a flutuação dos mesmos e a passagem de água, sedimento e organismos entre os tanques.

A B

Figura 10: A figura A ilustra o barril de polietileno usado como mesocosmos, enquanto que a figura B ilustra a disposição dos mesocosmos no tanque de concreto localizado às margens da represa do Lobo.

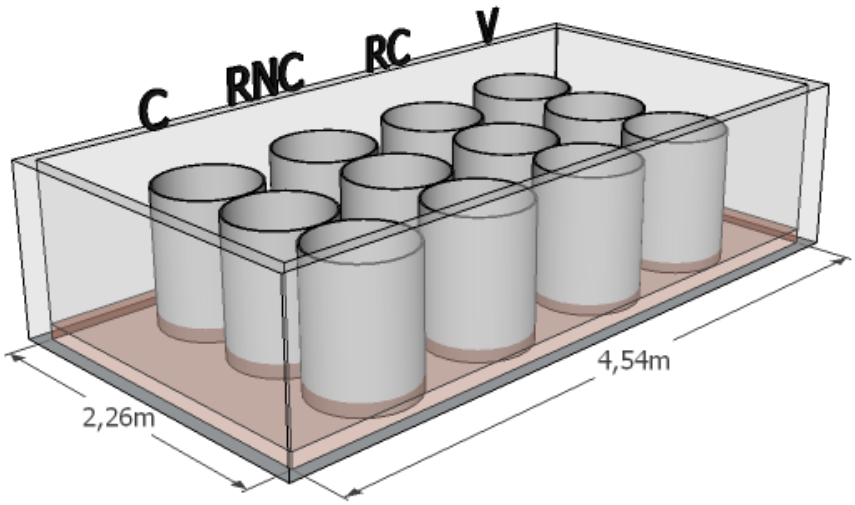


Figura 11: Esquema da disposição dos tratamentos dos mesocosmos no tanque de concreto.

Após a introdução dos tubos de polietileno, o experimento permaneceu em repouso por dois dias para que o sistema se estabilizasse e então foi adicionado, em uma única vez, o agrotóxico Vertimec® e a água do *runoff* nos mesocosmos, estabelecendo os seguintes tratamentos:

1) **Mesocosmo controle (C):** nenhum contaminante foi adicionado, permanecendo na condição já encontrada no tanque de concreto;

2) **Mesocosmo com o *runoff* não contaminado (RNC):** neste tratamento 20 L da água foi retirada do mesocosmo e o mesmo volume da água do *runoff* (não contaminado com o agrotóxico) foi adicionado, resultando em 10% de *runoff* não contaminado em relação ao volume total (200 L).

3) **Mesocosmo com o *runoff* contaminado (RC):** neste tratamento 20 L da água foi retirada e o mesmo volume da água do *runoff* (contaminada com o agrotóxico) foi adicionado, resultando em 10% do *runoff* contaminado em relação ao volume total (200 L).

4) **Mesocosmo com Vertimec® (V):** neste tratamento o agrotóxico foi adicionado diretamente na água, na concentração de 0,04 $mg.L^{-1}$. Essa concentração foi utilizada por ser a concentração de Vertimec® presente na água do *runoff* realizado em fevereiro/2008, determinado por cromatografia. Para que a concentração de Vertimec® fosse 0,04 $mg.L^{-1}$, dilui-se 0,4 mL de Vertimec® no volume total do mesocosmo (200 L).

Após a montagem do experimento *in situ*, com águas provenientes de parcelas de solo contaminadas ou não, além da adição do Vertimec® e do mesocosmo controle (Figura 12), deu-se início as atividades seguintes, envolvendo coleta de amostras de água para realização de ensaios de toxicidade com algas, determinação de algumas variáveis físicas, químicas e biológicas e para a análise da comunidade fitoplanctônica.

Figura 12: Mesocosmos experimentais após a contaminação.

Todo o procedimento do *runoff*, desde a contaminação do solo, subseqüente simulação da chuva e o recolhimento da água escoada, foi realizado no dia 04/12/2008, pela manhã. Logo após este procedimento, os mesocosmos foram contaminados com o *runoff* e com o Vertimec®. A água do *runoff* foi levada até os mesocosmos em galões de 20 L de capacidade.

Tanto para as analises limnológicas, como para a análise da comunidade fitoplânctonica (descritas nos itens abaixo), foram coletadas amostras em todos os tratamentos (controle, *runoff* não contaminado, *runoff* contaminado e Vertime®) e em um ponto fora dos meosocosmos experimentais, porém dentro do tanque de concreto maior. Esse ponto, denominado de ponto aleatório (A), foi estabelecido para verificar se as respostas obtidas ao longo do experimento foram em função do tratamento, do represamento da água nas unidades experimentais ou mesmo de ambos. Além disso, buscava-se avaliar a inexistência de

passagem de água entre unidades experimentais e a conseqüente contaminação do meio externo aos mesocosmos.

Durante todo o período de estudo, os experimentos ficaram cobertos com lona plástica transparente no período noturno ou em dias de chuva, evitando-se, desta forma os efeitos da precipitação, principalmente em relação à diluição. O nível da água no tanque de concreto e, conseqüentemente, nos mesocosmos, foi mantido pela vazão constante de entrada e saída de água, a qual foi ajustada para um nível previamente estabelecido.

b) Coleta de água para as análises físicas, químicas e biológicas

Para caracterização da água dos mesocosmos foram efetuadas algumas análises limnológicas seguindo metodologias específicas, sumarizadas na Tabela 5. As amostras de água foram coletadas por sifonamento e acondicionadas em garrafas de polietileno previamente lavadas com HNO_3 10%. Posteriormente, as amostras de água coletadas foram separadas em duas frações, sendo uma congelada para posterior análise de nutrientes totais e a outra filtrada em filtro de fibra de vidro GF/C com abertura de 0,45 μm, para posterior determinação dos nutrientes dissolvidos. O filtro foi usado para a determinação de clorofila *a* e feofitina. Para a análise de material em suspensão as amostras coletadas também foram filtradas em filtro de fibra de vidro GF/C com abertura de 0,45 μm. Algumas variáveis foram ainda medidas em campo, como temperatura, pH, condutividade, oxigênio dissolvido, utilizando uma multi sonda portátil, marca Horiba, modelo U-10.

Tabela 5 - Metodologia de análise das principais variáveis físicas, químicas e biológicas da água do experimento em mesocosmo.

Variável (unidade)	Instrumentação	Metodologia
Temperatura (ºC)		
pH	Medidor portátil -	
Condutividade elétrica ($\mu S.cm^{-1}$)	HORIBA U-10	
Oxigênio dissolvido ($mg.L^{-1}$)		
Material em suspensão e suas frações ($mg.L^{-1}$)	Gravimétrico	TEIXEIRA et al. (1965)
Nitrito e nitrato ($\mu g.L^{-1}$)	Espectrofotometria	MACHERETH et al. (1978)
Íon amônio ($\mu g.L^{-1}$)	Espectrofotometria	KOROLEFF (1976)
Nitrogênio orgânico total ($mg.L^{-1}$)	Espectrofotometria	APHA (1995)
Fósforo total, dissolvido, fosfato inorgânico ($\mu g.L^{-1}$)	Espectrofotometria	APHA (1995)
Silicato ($\mu g.L^{-1}$)	Espectrofotometria	GOLTERMAN et al., (1978)
Clorofila *a* e feofitina ($\mu g.L^{-1}$)	Espectrofotometria	NUSCH (1980)

c) Coleta, preservação e análise do fitoplâncton

As amostras da comunidade fitoplanctônica foram coletadas com uma mangueira plástica presa a uma régua de madeira (Figura 13) para que a amostra integrasse a coluna d'água dos tanques.

Figura 13: Mangueira utilizada para coletar amostras dos mesocosmos integrando a coluna d'água dos tanques.

Foram coletados 100 mL para fitoplâncton total, sendo as amostras preservadas em solução de lugol acético 0,5%. A análise quantitativa do fitoplâncton foi realizada pelo método de sedimentação descrita por Utermöhl (1958), feita com o auxílio de 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, foi considerado como indivíduo os organismos unicelulares, cenóbios de clorofíceas, colônias e filamentos de cianobactérias e filamentos de diatomáceas. A densidade dos organismos fitoplanctônicos foi calculada de acordo com a fórmula descrita em Weber (1973):

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

Onde:

n = número de indivíduos efetivamente contados;

s = área do campo em mm^2 no aumento de 40x;

c = número de campos contados;

h = altura da câmara de sedimentação em mm;

F = fator de correção para milímetro (10^3 mm^3/1ml).

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).

No final do experimento, após a ultima coleta, foram filtrados em rede de plâncton (com abertura de malha de 20 μm), 70 L de água de cada mesocosmo para analisar

qualitativamente a comunidade fitoplânctonica do sistema. A análise foi realizada em microscópio binocular Zeiss.

A identificação foi feita em termos de espécie sempre que possível, com o auxilio 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 Crhysophyceae, Xantophyceae, Dinophyceae, Bacillariophyta e Chlorophyceae; Prescott e Bicudo (1982) para Desmidiacae. O sistema de classificação adotado para as classes taxonômicas foi o de Round (1965b, 1971).

A partir dos dados obtidos da composição e densidade da comunidade fitoplanctônica foram calculados alguns índices ecológicos (Tabela 6):

Índice de riqueza (d)

Número total de espécies em uma unidade amostral, expressando de forma compreensível e instantânea, a diversidade (ODUM, 1983).

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-Wiener. O índice de Shannon-Wiener 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 a espécies raras, prevalecendo, desta forma, o componente de riqueza de espécies (PEET, 1974). O índice de Shannon-Wiener 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.

Índice de Dominância (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.

Índice de Equitabilidade (J')

O índice de equitabilidade 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).

Tabela 6 - Índices ecológicos utilizados neste estudo, com fórmulas e descrições.

Índices calculados	Fórmulas	Descrição
Riqueza	$d = \frac{S-1}{\log_2 N}$	S = número de espécies N = número de indivíduos
Diversidade (Shannon-Wiener)	$H' = -\sum(pi.\log_2 pi)$	pi = ni/n ni = número total de indivíduos de cada táxon na amostra n = número total de indivíduos na amostra.
Dominância (Simpson)	$D = \sum \frac{n_i(n_i-1)}{N(N-1)}$	ni = número total de indivíduos de cada táxon na amostra n = número total de indivíduos na amostra.
Equitabilidade	$J' = \frac{H'}{\log_2 S}$	H' = diversidade da amostra S = número de taxa na unidade amostral

d) Período e freqüência das amostragens

As coletas nos tanques iniciaram-se logo após o período de estabilização, antes da contaminação com o *runoff* e Vertimec®, no dia 04/12 (considerado o tempo zero), pela manhã. Neste mesmo dia, logo após a primeira coleta, foi feita a contaminação dos tanques e, três horas depois, foi feita novamente uma coleta (tempo: 3 horas) e assim sucessivamente, por um período de dez dias: 05/12 (24h após a contaminação), 06/12 (48h), 07/12 (72h), 08/12 (96h), 09/12 (120h), 10/12 (144h), 11/12 (168h), 12/12 (192h), 13/12 (216h) e 14/12 (240h), conforme descrito na Tabela 7.

Tabela 7 - Cronograma de coleta de amostras de água nos mesocosmos para as diferentes análises.

Horas	**0**	**3**	**24**	**48**	**72**	**96**	**120**	**144**	**168**	**192**	**216**	**240**
Análise limnológica	■	■			■		■		■			■
Fitoplâncton	■	■		■		■		■		■		■
Testes de toxicidade		■					■					■

5.1.3. Estudos ecotoxicológicos laboratoriais, utilizando *Pseudokirchneriella subcapitata* e água dos mesocosmos

Com o objetivo de verificar a toxicidade dos diferentes tratamentos dos mesocosmos no organismo-teste *P. subcapitata*, ensaios crônicos, em condições laboratoriais, foram montados com amostras de água. Três ensaios de toxicidade, com amostras coletadas nos mesocosmos (C, RNC, RC e V), foram montados. As coletas foram feitas três horas após a contaminação (1º dia), após 120h (5º dia) e 240h (10º dia), conforme cronograma apresentado na Tabela 7. Essas datas foram estabelecidas em função do período de degradação do produto (em média 4 dias), além de se considerar o início e final do experimento.

Para os ensaios de toxicidade não foram feitas diluições seriadas das amostras dos mesocosmos, sendo as mesmas somente enriquecidas com as soluções nutritivas do meio L.C Oligo. Para o teste, células de *P. subcapitata,* na fase exponencial de crescimento, foram expostas por um período de 96 horas aos tratamentos. Os experimentos foram realizados em triplicatas usando frascos de policarbonato com 250 mL de capacidade, contendo 100 mL da solução-teste. Os frascos foram colocados em uma mesa agitadora com velocidade de agitação de 100 a 175 rpm, sob iluminação e temperatura (25°C ± 2) controladas (ABNT, 2005). Um controle laboratorial (em triplicata) foi montado para verificar as condições de testes, porém para comparação das respostas entre os diferentes tratamentos nos mesocosmos foi usado como referência o controle de campo (Mesocosmo C).

A determinação da densidade celular foi realizada através de contagem de células ao microscópio óptico utilizando-se um hemocitômetro Improved Neubauer-Bright Line. Todos os procedimentos de coleta das amostras, do preparo das soluções-teste e da inoculação com a espécie algal foram feitos em condições assépticas em cabine de fluxo laminar. As amostras destinadas à contagem das células foram fixadas com solução de lugol acético.

PARTE III: ESTUDOS LABORATORIAIS COM ABAMECTINA

5.1.4. Ensaios ecotoxicológicos com abamectina, utilizando *Pseudokirchneriella subcapitata* como organismo- teste

Paralelamente aos experimentos do *runoff* e dos mesocosmos, foram desenvolvidos ensaios ecotoxicológicos em laboratório com o princípio ativo do Vertimec®, a abamectina, utilizando a alga *Pseudokirchneriella subcapitata*, com o objetivo de determinar a faixa de sensibilidade da alga ao químico.

Para tanto, foram realizados dois ensaios com abamectina (Sigma Aldrich) nas seguintes concentrações: 1, 5, 10, 15 e 20 $mg.L^{-1}$. A solução-estoque de abamectina de 10 $g.L^{-1}$ usada para as diferentes concentrações foi preparada no momento da execução dos ensaios, diluindo-se 0,05 g de abamectina em 5 mL de acetona. Assim, a maior concentração do solvente (acetona) presente nos testes foi 200 µL, por isso, além das 5 concentrações de abamectina testadas e do controle de laboratório (meio L.C. Oligo), mais dois controles foram usados: um controle contendo o solvente na concentração de 100 µL e o outro controle contendo solvente na concentração de 200 µL, conforme descrito na Tabela 8.

Tabela 8 - Volume do solvente (acetona) presente nos testes.

Concentrações testadas	**Volume de acetona (µL)**
Controle	-
Controle do solvente	100
Controle do solvente	200
1 $mg.L^{-1}$ de abamectina	10
5 $mg.L^{-1}$ de abamectina	50
10 $mg.L^{-1}$ de abamectina	100
15 $mg.L^{-1}$ de abamectina	150
20 $mg.L^{-1}$ de abamectina	200

Para verificar se houve diferença significativa ($p<0,05$) entre o controle e o controle com solvente, os resultados foram submetidos às análises de normalidade e de homogeneidade e, em seguida, ao teste de Dunnett, utilizando o programa computacional TOXSTAT 3.4.

Os resultados dos testes de toxicidade foram expressos em CI50;96h, que representa a concentração que inibiu 50% do crescimento algáceo, calculados através do programa computacional CIp (NORBERG-KING, 1993).

As condições de teste foram as mesmas já descritas anteriormente, sendo realizado em triplicata, com duração de 96 horas, sob iluminação contínua, temperatura controlada (25°C ±

2) e agitação constante (100 a 175 rpm). No final da exposição, a contagem celular foi realizada em câmara de Neubauer.

No início do ensaio crônico com *P. subcapitata* e após 96h de exposição, alíquotas da solução-teste foram submetidas a cromatografia, para a quantificação da concentração real de abamectina presente. Todas as cinco concentrações testadas e controle laboratorial foram analisados, sendo que este procedimento foi realizado somente em um ensaio.

Os resíduos de abamectina nas amostras foram determinados por cromatografia líquida de alta performance com fluorescência (HPLC/FLU - Agilent® 1200 series). A extração foi feita com acetonitrila (P.A) em cartucho C-18. Os limites de detecção e quantificação foram 0,1 e 0,2 $\mu g.L^{-1}$, respectivamente. A soluções-padrão de abamectina foi preparadas em acetonitrila (100 $mg.L^{-1}$) e mantidas no escuro, sob refrigeração a 4ºC.

6. RESULTADOS

No sentido de facilitar a análise dos resultados que foram obtidos na presente pesquisa, procurou-se apresentá-los na mesma seqüência dos materiais e métodos, dividindo-os em 3 etapas: os estudos ecotoxicológicos laboratoriais a partir do *runoff* com a alga *P. subcapitata,* os estudos ecotoxicológicos *in situ* com a comunidade fitoplanctônica e laboratorial com *P. subcapitata* a partir dos mesocosmos (após adição dos contaminantes) e os laboratoriais com a abamectina, um dos principais princípios ativos do Vertimec®.

Como as informações sobre os testes de sensibilidade são comuns aos diversos experimentos realizados, fazendo parte da rotina laboratorial e dos diversos protocolos da ABNT, optou-se em apresentá-los previamente aos demais resultados.

6.1. Testes de sensibilidade da alga *Pseudokirchneriella subcapitata*

Os resultados dos dez testes de sensibilidade com *P. subcapitata,* obtidos após exposição às diferentes concentrações de NaCl, são apresentados na Figura 14 e Tabela 11, do Anexo A, verificando-se inibição acentuada do número de células de *P. subcapitata* quando expostas a concentrações crescentes desta substância teste.

Os valores da CI50;96h estiveram compreendidos entre 1,85 e 3,69 $g.L^{-1}$, com média de 3,11 $g.L^{-1}$de NaCl, correspondendo a um limite superior de 4,49 g/L^{-1} e inferior de 1,74 g/L^{-1} de NaCl, com coeficiente de variação de 22,05%

Os resultados das análises estatísticas (Teste de Dunnett) para os resultados da sensibilidade da alga ao NaCl constam nas Tabelas 1 a 10, do Anexo A.

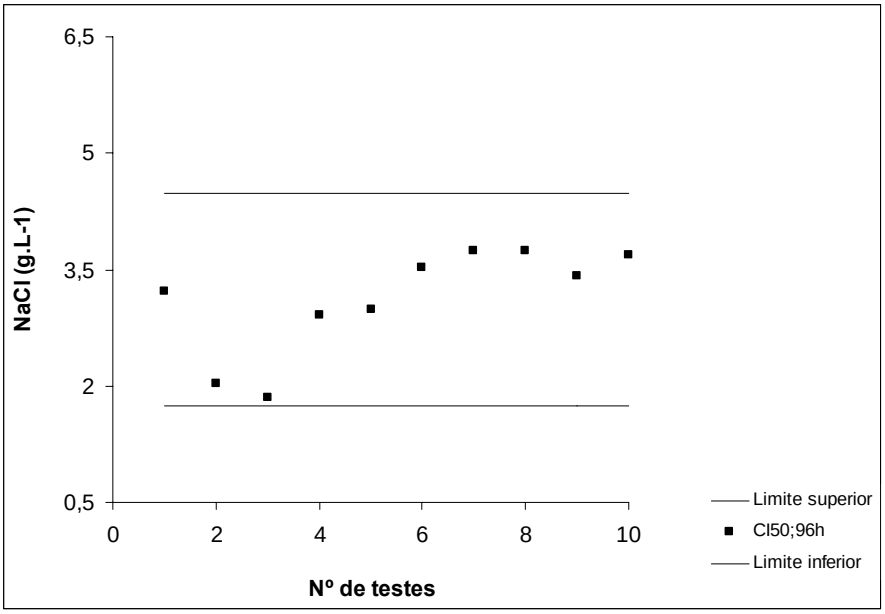


Figura 14. Sensibilidade de *P. subcapitata* ao cloreto de sódio após 96h de exposição

6.2. Estudos ecotoxicológicos laboratoriais a partir do *runoff*

6.2.1. Análise granulométrica, nitrogênio, fósforo e metais no solo

Os resultados da análise granulométrica do solo na área experimental estão apresentados na Tabela 9. O solo caracteriza-se como predominantemente arenoso (acima de 60%), com menor contribuição de silte (15,4%) e argila (1,8%). As concentrações de metais encontradas foram de 0,475 $mg.kg^{-1}$ para cádmio; 7,975 $mg.kg^{-1}$ para cobre; 0,5 $mg.kg^{-1}$ para cromo; 83,4 $mg.kg^{-1}$ para ferro; 91,2 $mg.kg^{-1}$ para manganês e 2,02 $mg.kg^{-1}$ para zinco. Os valores de nitrogênio foram de 4,64% e os de fósforo total de 0,69 $\mu g.g^{-1}$.

Tabela 9 - Resultados da análise granulométrica, conteúdo de matéria orgânica na amostra de solo da área experimental

Tipo de solo	Fração do solo (%)
Matéria orgânica (%)	13,45
Areia grossa	2,7
Areia media	17,3
Areia fina	45,6
Silte	15,4
Argila	1,8

6.2.2. Caracterização física e química da água do *runoff*

Os resultados de turbidez, dureza, pH, condutividade elétrica e material em suspensão da água do *runoff*, em suas diferentes diluições, estão apresentados na Figura 15 e nas Tabelas 12 a 17 do Anexo A.

A água do *runoff* apresentou pH neutro (entre 6,36 e 7,71) e concentração de oxigênio dissolvido acima de 6,0 $mg.L^{-1}$, em ambas as amostras de *runoff* (RNC - *runoff* não contaminado e RC - *runoff* contaminado), conforme apresentado nas tabelas 14 e 16 do Anexo A. Para dureza (Tabela 15, do Anexo A), os valores demonstraram um gradiente inverso a diluição, variando de 4 a 42 $mg.L^{-1}CaCO_3$ no RNC e de 4 a 44 $mg.L^{-1}CaCO_3$ no RC. Com relação à condutividade (Tabela 13, do Anexo A), as amostras não diluídas (100%) apresentaram menores valores (inferiores a 26 $\mu S.cm^{-1}$), porém com o aumento da diluição do *runoff* com o meio de cultura algáceo, foi observado um aumento na condutividade, com valores máximos de 182,6 e 152,7 $\mu S.cm^{-1}$, respectivamente em RCN e RC (em 3,12% de diluição), o que pode ser atribuído ao aumento da concentração de sais dissolvidos no meio.

Os valores de turbidez (Tabela 12 do Anexo A) variaram entre 37 NTU na amostra mais diluída (3,12%) e 930 NTU na amostra não diluída (100%) no *runoff* não contaminado e de 30 a 890 NTU no *runoff* contaminado. Assim, quanto maior a diluição menores valores de turbidez foram registrados. Os valores mínimos de material em suspensão total foram de 37,4 e 50,3 $mg.L^{-1}$ (em RNC e RC, respectivamente), com concentrações máximas superiores a 4000 $mg.L^{-1}$ em ambos os tratamentos. A maior parte do material em suspensão total foi representada pela fração inorgânica (sólidos fixos), contribuindo acima de 60% tanto no RNC como no RC; porém para as três formas de material em suspensão (total, inorgânico e orgânico) o *runoff* contaminado apresentou os maiores valores, como pode ser observado nas Tabelas 17, 18 e 19, do Anexo A.

A análise cromatográfica demonstrou ausência de abamectina no *runoff* não contaminado e uma concentração de 40 $\mu g.L^{-1}$ no *runoff* contaminado.

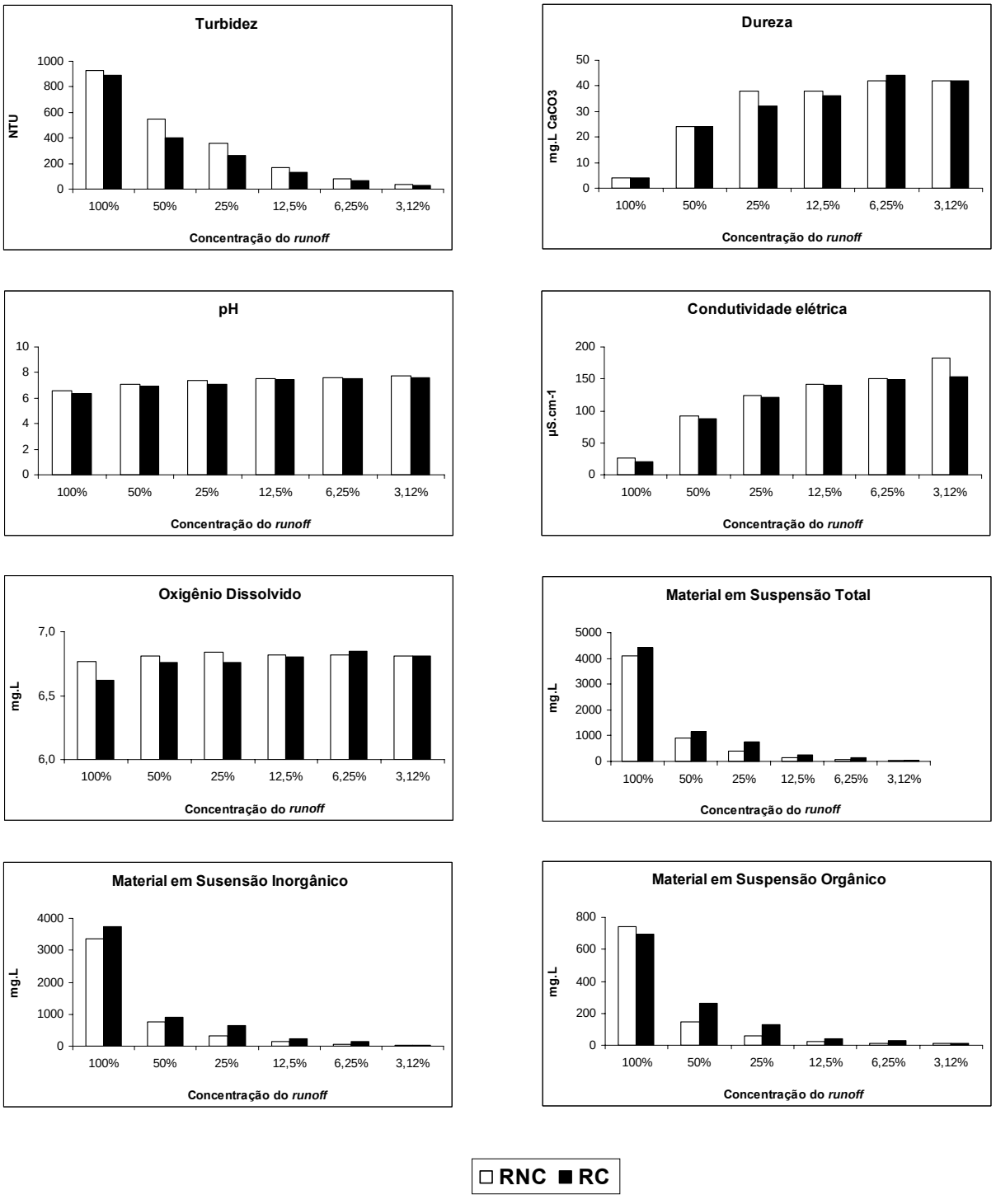


Figura 15. Valores obtidos para turbidez, dureza, pH, condutividade elétrica, oxigênio dissolvido e material em suspensão nas diferentes concentrações do *runoff* não contaminado (RNC) e contaminado (RC).

6.2.3. Testes de toxicidade com *P. subcapitata*

Os efeitos do *runoff* sobre a densidade celular de *Pseudokirchneriella subcapitata* estão apresentados na Figura 16 e no Anexo A (Tabela 20). Um crescimento na densidade celular com o aumento da diluição foi observado tanto para a amostra não contaminada (RNC) como para a amostra contaminada (RC), sendo que o crescimento algáceo no controle laboratorial não foi superado por nenhuma amostra nas diferentes diluições (de 3,12 a 100%).

Na Figura 17 é possível observar que em todas as concentrações do *runoff* não contaminado houve diferença significativa (teste de Dunnett) na densidade celular quando comparado com o controle laboratorial. Também é demonstrado o crescimento celular em comparação à turbidez (Figura 17), verificando-se a relação entre ambos, ou seja, a inibição em função de um possível efeito físico. A mesma relação entre crescimento e turbidez é observada para o *runoff* contaminado, que apresentou diferença significativa em todas as diluições, exceto na 6,25%, quando comparadas ao controle laboratorial (Figura 17).

Cada diluição do RC também foi comparada, através do teste de Dunnett, com a mesma concentração do RC (Anexo B), não sendo verificada diferença significativa, indicando que a redução da densidade não ocorreu em função da aplicação do agrotóxico.

A partir destas observações é possível dizer que a inibição do crescimento algáceo não ocorreu em função do produto aplicado, mas sim em função da turbidez, uma vez que a faixa da mesma é muito parecida entre as amostras não contaminadas e as contaminadas, variando entre 37 e 930 NTU e 30 e 890 NTU, respectivamente. Desta forma, todas as amostras, independentemente do tratamento e da diluição, causaram efeitos de inibição para a alga *P. subcapitata*.

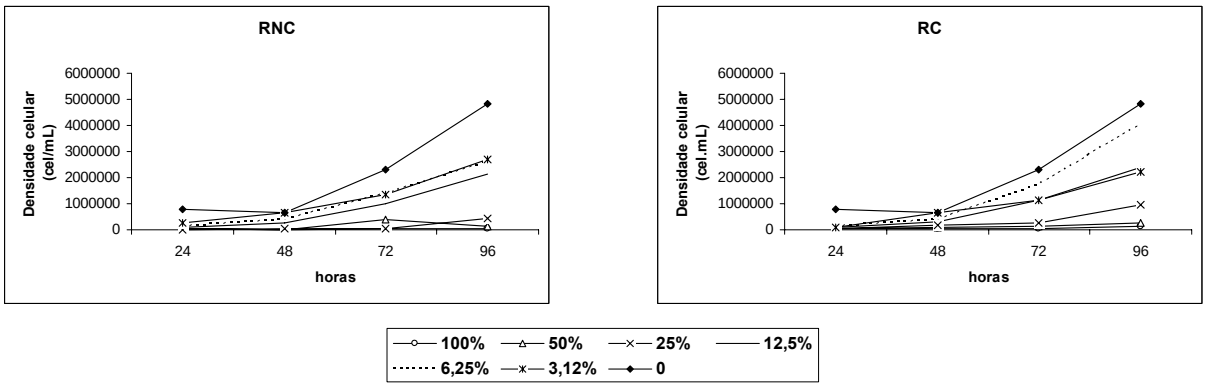


Figura 16. Curvas de crescimento de *Pseudokirchneriella subcapitata* durante teste de toxicidade crônica ao *runoff* não contaminado (RNC) e contaminado (RC).

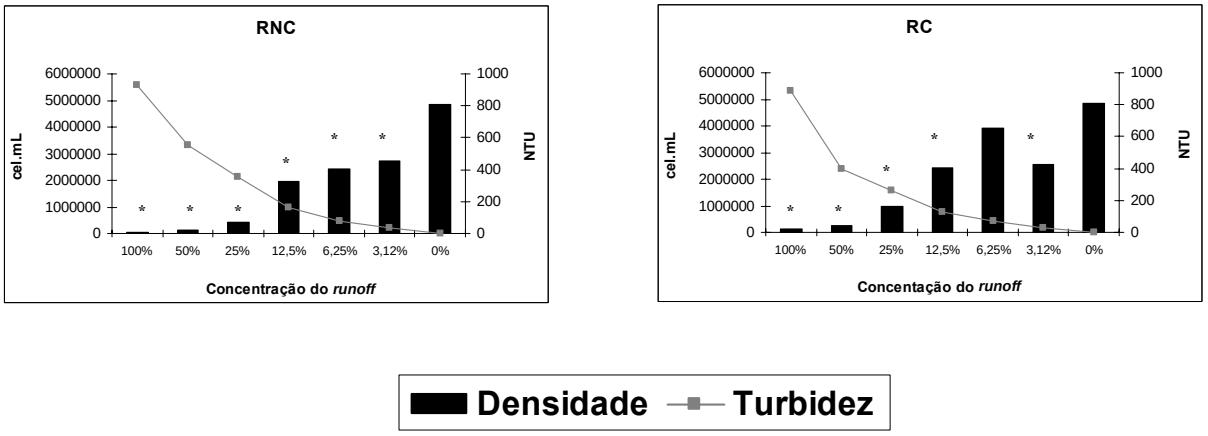


Figura 17. Resultados dos testes de toxicidade (96h) com *P. subcapitata* analisando as diferenças entre o controle de laboratório com a água do *runoff* não contaminado (RNC) e contaminado (RC) através do teste de Dunnett, relacionando com as medidas de turbidez. *Indica diferença estatisticamente significativa em relação ao controle ($p<0,05$)

Na Figura 18 e Tabela 21, do Anexo A, pode ser observada a comparação entre as concentrações da clorofila *a* das amostras não contaminadas (RNC) com as amostras contaminadas (RC). As curvas obtidas são muito parecidas e confirmam os resultados dos testes de toxicidade. Desta forma, não foi possível verificar algum efeito do Vertimec® no crescimento algáceo, confirmando a inibição do crescimento mais por uma condição física (turbidez) do que química (presença do agrotóxico).

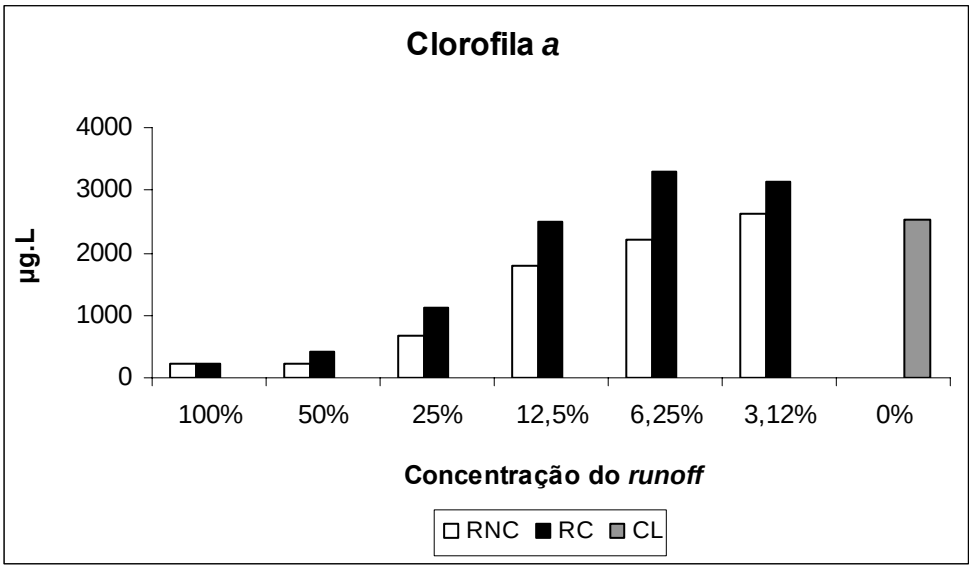


Figura 18. Concentração de clorofila *a* de *P. subcapitata* após 96h de exposição ao *runoff* não contaminado (RNC) e contaminado (RC), sendo CL o controle laboratorial.

Os dados de biovolume e do conteúdo de carbono orgânico total estão apresentados na Figura 19 e Anexo A (Tabelas 22 e 23). O teste de Dunnett somente indicou diferença significativa com relação ao controle laboratorial na concentração de 50% do *runoff* contaminado. Nesta diluição, as células de *P. subcapitata* apresentaram menor volume (em média 0,38 μm^3) e, portanto, menor conteúdo de carbono orgânico (0,04 $pg.cel^{-1}$) do que as células do controle, com um volume médio de 0,89 μm^3 e conteúdo de carbono orgânico total de 0,11 $pg.cel^{-1}$.

Na concentração de 3,12% tanto para o *runoff* contaminado (RC) como para o não contaminado (RNC), o biovolume e conteúdo de carbono orgânico total foram mais elevados em relação ao controle de laboratório, indicando, possivelmente, o favorecimento em decorrência das condições nutricionais.

Os resultados das análises estatísticas do Teste de Dunnett estão apresentados nas Tabelas 24 a 29, do Anexo A.

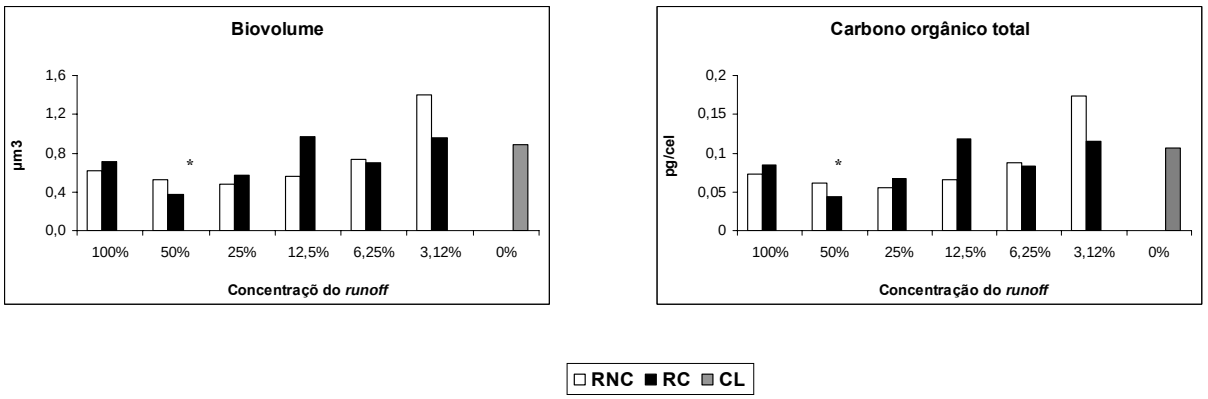


Figura 19. Biovolume e conteúdo de carbono orgânico de *P. subcapitata* após 96h de exposição ao *runoff* não contaminado (RNC) e contaminado (RC), sendo CL o controle de laboratório. *Indica diferença estatisticamente significativa em relação ao controle (Teste de Dunnett; $p<0,05$)

6.3. Estudos ecotoxicológicos *in situ* (mesocosmos) e laboratoriais a partir do *runoff*

Considerando a elevada diferença registrada entre as réplicas (o que é esperado em experimentos dessa natureza), de um mesmo tratamento (controle, *runoff* contaminado, *runoff* não contaminado e adição direta do Vertimec®), optou-se, no presente item, em apresentar somente os resultados referentes a uma unidade experimental de cada tratamento. Neste caso, optou-se pelos resultados obtidos nos mesocosmos nos quais foram coletadas as amostras para a realização dos testes de toxicidade com *P. subcapitata*, permitindo uma análise comparativa dos efeitos *in situ* (comunidade fitoplanctônica) e laboratorial (uniespecífico).

6.3.1. Variáveis limnológicas obtidas durante período experimental *in situ*

6.3.1.1. Temperatura, pH, oxigênio dissolvido e condutividade elétrica da água

Os valores de temperatura da água, pH, oxigênio dissolvido e condutividade obtidos no decorrer do experimento podem ser observados na Figura 20 e nas Tabelas 30 a 33, do Anexo A.

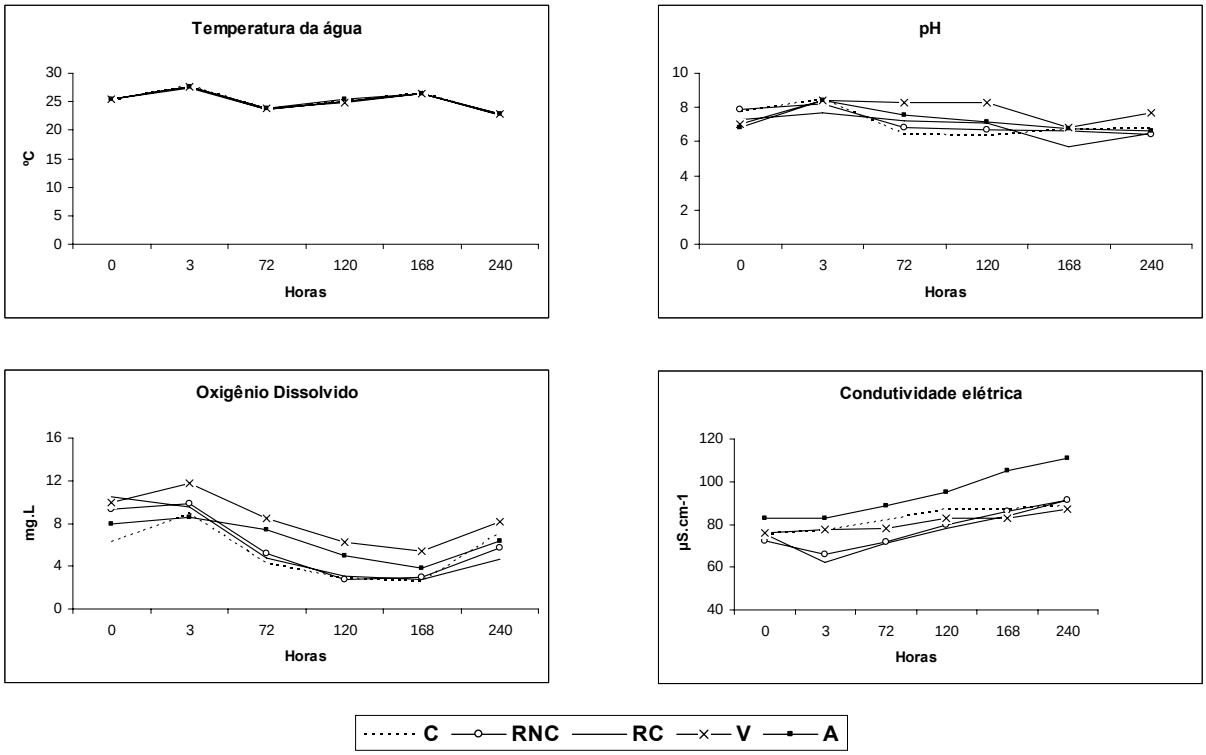


Figura 20. Valores obtidos para temperatura da água, pH, oxigênio dissolvido e condutividade durante o período amostral, nos diferentes tratamentos dos mesocosmos (C: controle, RNC: *runoff* não contaminado, RC: *runoff* contaminado, V: Vertimec® e A: aleatório)

Os valores de temperatura da água (Figura 20 e Tabela 30, do Anexo A), em todos os mesocosmos e no ponto aleatório, foram bem próximos, variando no decorrer do experimento entre 22,6ºC e 27,9ºC.

Em todos os mesocosmos, inclusive no controle, observou-se um aumento do pH logo após a adição dos contaminantes e posterior diminuição no decorrer do experimento. Os valores de pH (Figura 20 e Tabela 31, do Anexo A) entre os mesocosmos também foram bem

próximos entre si, variando entre 5,7 e 8,5, sendo mais ácidos em C e RNC, neutros em RC e mais básicos em V e A, em sua maioria, embora com algumas exceções em cada tratamento e período de coleta

Para oxigênio dissolvido (Figura 20 e Tabela 32, do Anexo A) também foi observado o mesmo padrão de variação entre os mesocosmos e o ponto aleatório, ocorrendo um aumento na concentração de oxigênio logo após a adição dos contaminantes e redução gradativa no decorrer do experimento. Apenas no décimo dia do experimento verificou-se um aumento na concentração de oxigênio dissolvido, não atingindo, no entanto, os valores iniciais. Apesar de todos os mesocosmos apresentarem a mesma variação durante o período amostral, os valores diferiram entre si. No tratamento com Vertimec® verificou-se os maiores valores (10 $mg.L^{-1}$ no início, 11,7 $mg.L^{-1}$ após a adição do contaminantes e 8,2 $mg.L^{-1}$ no final do experimento). Em geral, as concentrações de oxigênio dissolvido variaram entre 2,5 e 11,7 $mg.L^{-1}$ entre os tratamentos.

Para condutividade elétrica (Figura 20 e Tabela 33 do Anexo A) foi observado um padrão entre o tratamento controle, o tratamento com Vertimec® e o ponto aleatório, ocorrendo um aumento dos valores com o decorrer do experimento. Nos mesocosmos tratados com *runoff* este padrão não foi observado, pois houve redução nos valores de condutividade após a adição do *runoff* (de 72 para 66 $\mu S.cm^{-1}$ no RNC e 75 para 62 $\mu S.cm^{-1}$ no RC), com posterior aumento, equiparando-se aos valores observados nos demais tanques. Os valores de condutividade estiveram compreendidos entre 62 e 111 $\mu S.cm^{-1}$, sendo mais elevados no ponto aleatório.

6.3.1.2. Formas nitrogenadas, fosfatadas e silicato reativo

Os valores de nitrogênio total, nitrito, nitrato e íon amônio, obtidos no decorrer do experimento, podem ser observados na Figura 21 e no Anexo A (Tabelas 34 a 37).

Apesar de não haver similaridade entre os valores de nitrogênio total (Figura 21 e Tabela 34, do Anexo A) entre os mesocosmos, em todos os tratamentos houve diminuição da concentração entre os tempos 0 e 3h, com posterior aumento. As concentrações mínimas e máximas, respectivamente, foram: 0,7 e 1,7 $mg.L^{-1}$ no tratamento C; 0,7 e 1,26 $mg.L^{-1}$ no tratamento RNC; 0,42 e 1,59 $mg.L^{-1}$ no tratamento RC; 0,28 e 1,73 $mg.L^{-1}$ no tratamento V; 0,23 e 2,19 $mg.L^{-1}$ no tratamento A.

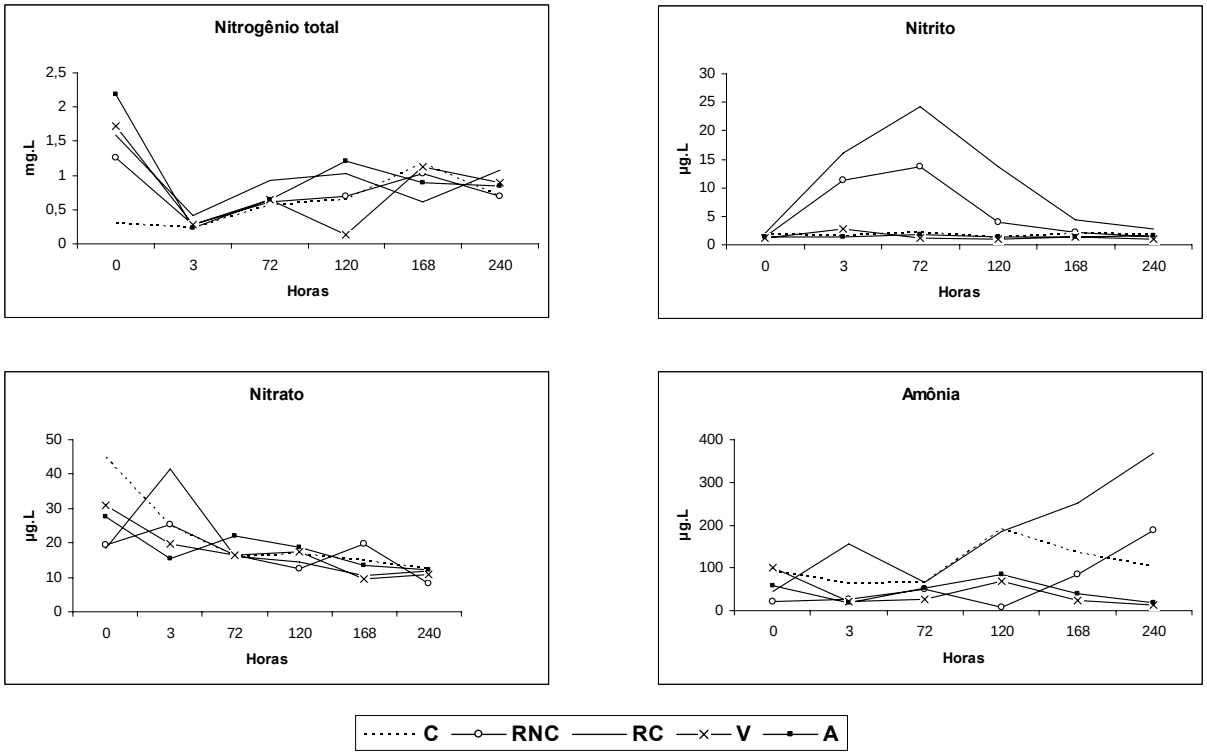


Figura 21. Valores obtidos para nitrogênio total, nitrito, nitrato e amônio durante o período amostral, nos diferentes tratamentos dos mesocosmos (C: controle, RNC: *runoff* não contaminado, RC: *runoff* contaminado, V: Vertimec e A: aleatório).

Para nitrito (Figura 21 e Tabela 35, do Anexo A) nos tratamentos RNC e RC houve considerável aumento depois da adição do *runoff*, passando de 1,49 para 11,33 $\mu g.L^{-1}$ no RNC e de 2,0 para 16,01 $\mu g.L^{-1}$ no RC, demonstrando o efeito da adição do *runoff* nos dois tratamentos, com posterior decaimento. No decorrer do experimento estes valores diminuíram, equiparando-se com demais tratamentos, que não apresentaram grande variação

na concentração de nitrito durante o período amostral. Em geral, nos demais tratamentos os valores estiveram entre 1,16 e 2,11 $\mu g.L^{-1}$ em C, entre 1,0 e 2,75 $\mu g.L^{-1}$ em V e entre 1,33 e 1,71 $\mu g.L^{-1}$ em A.

As concentrações de nitrato (Figura 21 e Tabela 36, do Anexo A) diminuíram no decorrer do experimento em todos os tratamentos, exceto no tanque RNC e RC, que tiveram aumento após a adição do *runoff*, porém com o passar dos dias as concentrações de nitrato também diminuíram nestes tratamentos. Os valores obtidos variaram entre 12,48 e 44,73 $\mu g.L^{-1}$ em C, entre 8,26 e 25,46 $\mu g.L^{-1}$ em RNC, entre 10,6 e 41,36 $\mu g.L^{-1}$ em RC, entre 9,6 e 30,89 $\mu g.L^{-1}$ em V e entre 12,22 e 27,55 $\mu g.L^{-1}$ em A.

Para o íon amônio (Figura 21 e Tabela 37, do Anexo A) houve grande variação entre as datas e os tratamentos, sendo que as concentrações mínimas e máximas foram, respectivamente, de 63,08 e 189,98 $\mu g.L^{-1}$ em C; 7,28 e 187,7 $\mu g.L^{-1}$ em RNC; 44,76 e 367,81 $\mu g.L^{-1}$em RC; 14,35 e 101,86 $\mu g.L^{-1}$ em V de 17,26 a 84,16 $\mu g.L^{-1}$ em A. Pelos dados obtidos verifica-se que os valores obtidos foram maiores em C, RNC e RC, reduzindo acentuadamente em V e com menores valores em A.

Os valores de fósforo total, fosfato total dissolvido, fosfato inorgânico e silicato reativo obtidos no decorrer do experimento podem ser avaliados na Figura 22 e no Anexo A (Tabelas 38 a 41).

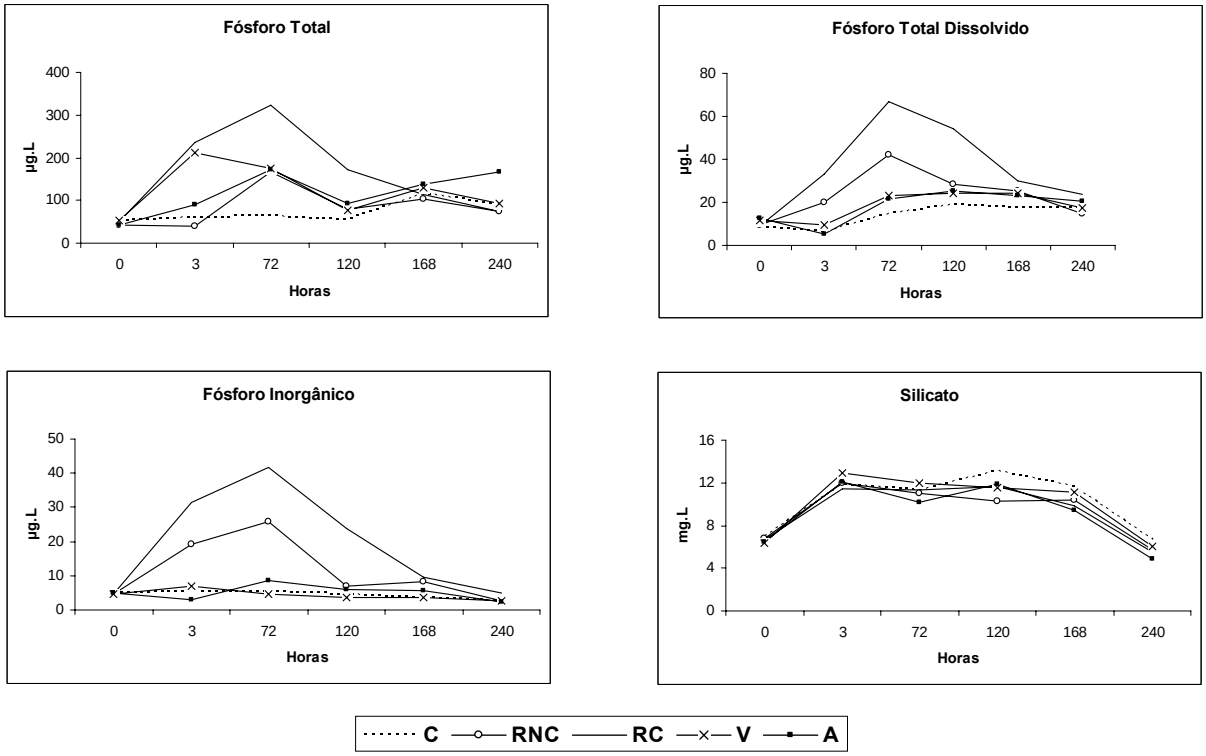


Figura 22. Valores obtidos para fósforo total, fosfato total dissolvido, fosfato inorgânico e silicato no período amostral, nos diferentes tratamentos dos mesocosmos (C: controle, RNC: *runoff* não contaminado, RC: *runoff* contaminado, V: Vertimec® e A: aleatório).

As concentrações de fósforo total (Figura 22 e Tabela 38, do Anexo A) aumentaram em todos os tratamentos no decorrer do experimento, sendo que as maiores concentrações foram 324,37 $\mu g.L^{-1}$ no RC; 212,49 $\mu g.L^{-1}$ no V; 172,79 $\mu g.L^{-1}$ no A; 167,21 $\mu g.L^{-1}$ no RC e 117,55 $\mu g.L^{-1}$ no C, sendo bem mais elevada no tratamento RC.

Este aumento gradativo no decorrer do período amostral também foi observado para fosfato total dissolvido (Figura 22 e Tabela 39, do Anexo A), com as maiores concentrações, 41,93 e 66,77 $\mu g.L^{-1}$, registradas nos tratamentos RNC e RC, respectivamente. Uma maior homogeneidade nos valores obtidos foi verificada nos tratamentos C, V e A, a partir de 72h do início do experimento. Para fosfato inorgânico (Figura 22 e Tabela 40, do Anexo A) houve pouca diferença entre os tratamentos C, V e A, com variação temporal bem semelhante entre si. Para os mesocosmos que receberam o *runoff*, a variação foi de 4,51 a 25,8 $\mu g.L^{-1}$ no RNC e

de 4,69 a 31,61 μg.L^{-1} no RC, sendo que os aumentos foram registrados após a contaminação dos mesocosmos.

As concentrações de silicato reativo (Figura 22 e Tabela 41, do Anexo A) variaram de forma mais homogênea em todos os tratamentos durante o experimento, com concentrações variando entre 4,89 e 13,11 mg.L^{-1}. Em geral, os valores iniciais estiveram compreendidos entre 6,35 e 6,98 mg.L^{-1}, demonstrando maior homogeneidade, praticamente duplicando em todos os tratamentos após 3 horas do início do experimento (entre 11,45 e 12,88 mg.L^{-1}) e reduzindo a valores próximos aos iniciais após 240h (entre 4,89 e 6,65 mg.L^{-1}).

6.3.1.3. Material em suspensão total, orgânico e inorgânico

Os valores do material em suspensão total, inorgânico e orgânico obtidos no decorrer do experimento podem ser observados na Figura 23 e no Anexo A (Tabelas 42 a 44). As maiores concentrações de material em suspensão total ocorreram nos tratamentos RNC e RC, sendo que os valores máximos foram observados logo após a adição do *runoff*, passando de 11,15 para 58,16 mg.L^{-1} no RNC e de 10,3 para 99,4 mg.L^{-1} no RC. Com o passar dos dias, devido à sedimentação do material particulado oriundo do *runoff,* as concentrações ficaram próximas as encontradas no início do experimento. Nos demais tratamentos as concentrações iniciais e finais variaram entre 3,2 e 12,48 mg.L^{-1}, com os menores valores ocorrendo no tratamento com Vertimec®.

A mesma tendência foi observada para material em suspensão inorgânico e orgânico (Figura 23 e Tabelas 43 e 44, do Anexo A), nos tratamentos RNC e RC, com aumento na concentração após a adição do *runoff* e diminuição com o decorrer dos dias, e nos tratamentos C, V e A verificou-se pouca variação no período amostral. Destaca-se, nos experimentos RNC e RC que a fração inorgânica contribuiu com mais de 70% dos valores de material em

suspensão total, o que foi inverso nos demais tratamentos, ou seja, maior contribuição de material orgânico.

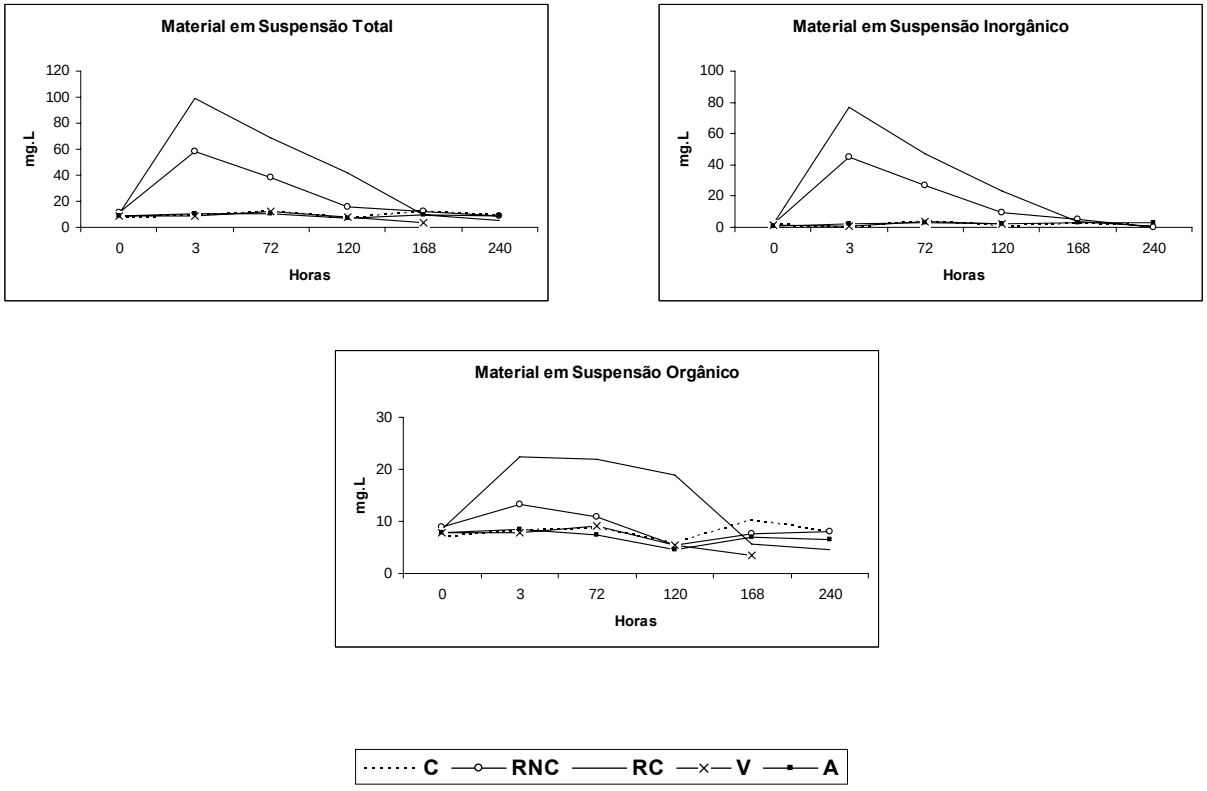


Figura 23. Valores obtidos para material em suspensão total, inorgânico e orgânico durante o período amostral, nos diferentes tratamentos dos mesocosmos (C: controle, RNC: *runoff* não contaminado, RC: *runoff* contaminado, V: Vertimec® e A: aleatório).

6.3.1.4. Clorofila a e feofitina

Os valores de clorofila *a* e feofitina, obtidos no decorrer do experimento, podem ser avaliados na Figura 24 e Anexo A (Tabela 45 e 46).

No tratamento controle (C) e no ponto aleatório (A) foram registradas as maiores concentrações de clorofila *a* durante o experimento, com valores crescentes no decorrer dos dias (variando de 13,95 a 39,06 $\mu g.L^{-1}$ em C e de 18,14 a 24,41 $\mu g.L^{-1}$ em A). No tratamento RNC as concentrações de clorofila *a* foram menores (de 10,46 $\mu g.L^{-1}$ no início do experimento a 13,95 $\mu g.L^{-1}$ no final) e nos tratamentos que receberam a aplicação do

agrotóxico (RC e V) verificou-se redução mais acentuada, variando de 12,56 $\mu g.L^{-1}$ para 4,19 $\mu g.L^{-1}$ no tratamento V e de 11,16 $\mu g.L^{-1}$ a 6,28 $\mu g.L^{-1}$ no tratamento RC.

Para feofitina os valores míninos e máximos observados foram: 5,79 e 11,23 $\mu g.L^{-1}$ no tratamento C; 0,98 e 9,02 $\mu g.L^{-1}$ no tratamento RNC; 1,05 e 6,84 $\mu g.L^{-1}$ no tratamento RC; 0 e 5,16 $\mu g.L^{-1}$ no tratamento V e de 2,93 a 7,18 $\mu g.L^{-1}$ no tratamento A.

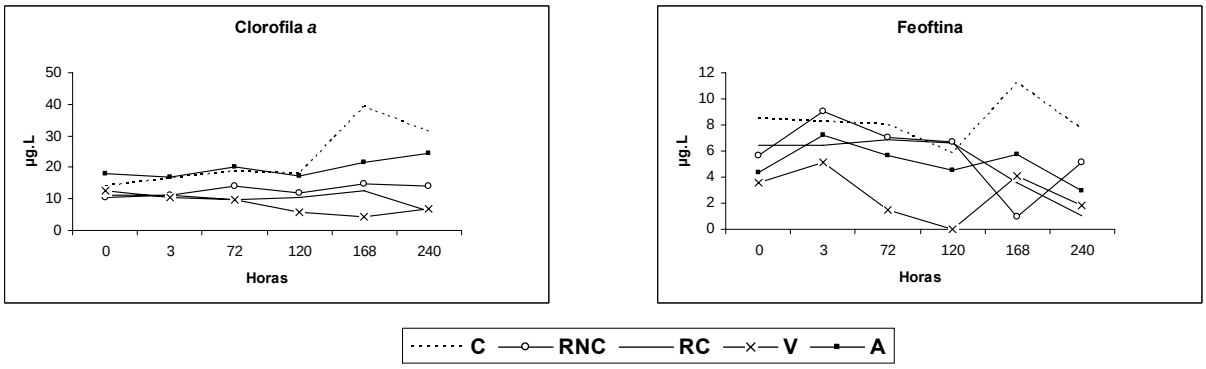


Figura 24. Valores obtidos para clorofila *a* e feofitina durante o período amostral, nos diferentes tratamentos dos mesocosmos (C: controle, RNC: *runoff* não contaminado, RC: *runoff* contaminado, V: Vertimec® e A: aleatório).

6.3.2. Composição e estrutura da comunidade fitoplanctônica

6.3.2.1. Composição da comunidade fitoplanctônica

Considerando todos os tratamentos foram identificados 48 taxa de algas, distribuídos em 10 classes. Chlorophyceae foi a classe com maior número de taxa (26), correspondendo a 54% do total, seguida por Bacillariophyta, com 6 taxa (13%), Cyanobacteria com 5 taxa (10%), Zygnemaphyceae com 4 taxa (8%), Xantophyceae com 2 taxa (5%) e Chlamydophyceae, Oedogonophyceae, Euglenophyceae, Dinophyceae, Chrysophyceae com apenas 1 táxon (2% em cada classe). A composição taxonômica encontra-se descrita na Tabela 10. Alguns taxa identificados no presente estudo estão apresentados nas Figuras 1 a 41 no Anexo B.

Tabela 10 - Composição taxonômica do fitoplâncton registrada durante o período de estudo, em todos os tratamentos.

Cyanobacteria
- *Aphanocapsa delicatissima* W.West & G. S. West 1912
- *Geitlerinema acutissimum* (Kufferath) Anagnostidis 1989
- *Merismopedia tenuissima* Lemmermann 1898
- *Phormididium interruptum* Kützing ex Gomont 1892
- *Pseudanabaena minima* (G.S. Na.) Anagnostidis 2001

Chlamydophyceae
- *Chlamydomonas* sp.

Chlorophyceae
- *Acanthosphaera* cf. *tenuispina* Korš. 1953
- *Ankistrodesmus falcatus* (Corda) Ralfs 1848
- *Botryococcus terribilis* Komárek & Marvan 1992
- *Coelastrum proboscideum* Bohlin in Wittr. & Nordst. 1896
- *Coelastrum reticulatum* (Dangeard) Senn 1899
- *Coenochloris pyrenoidosa* Korš. 1953
- *Crucigeniella* sp.
- *Eutetramorus fottii* (Hind.) Kom. 1979
- *Kirchneriella lunaris* (Kirchner) Moeb. 1894
- *Kirchneriella obesa* (W. West) Schmidle 1893
- *Micractinium bornhemiense* (Conr.) Korš. 1953
- *Micractinium pusillum* Fres. 1858
- *Monoraphidium contortum* (Thuret) Komárková-Legnerová 1969
- *Monoraphidium Milton* (Näg.) Komárková-Legnerová 1969
- *Oocystis marssoonii* Lemmermann 1898
- *Pediastrum duplex* Meyen 1829
- *Pediatrum tetras (*Ehrenberg) Ralfs 1844
- *Scenedesmus acuminatus* (Lagerh.) Chod. 1902
- *Scenedesmus opoliensis* P. Richt. 1896
- *Scenedesmus quadricauda* (Turp.) Breb. Sensu Chod. 1913, 1926
- *Scenedesmus* sp.
- *Scenedesmus spinosus* Chod. 1913
- *Scenedesmus subispicatus* Chod. 1926
- *Selenastrum gracile* Reinsch 1867
- *Tetrastrum heteracanthum* (Nordst.) Chod. 1895
- *Tetrastrum triacanthum* Korš. 1939

Zygnemaphyceae
- *Mougeotia* sp.
- *Staurastrum americanum* (West et West) G. M. (1921) 1922
- *Staurastrum* sp.
- *Staurodesmus subulatus* Kützing 1849

Oedogonophyceae
- *Oedogonium* sp.

Euglenophyceae
- *Phacus helikoides* Pochmann 1942

Dinophyceae
- *Peridinium* sp.

Xantophyceae
- *Goniochloris* sp.
- *Pseudopoliedriopsis* sp.

Chrysophyceae
- *Mallomonas* sp.

Bacillariophyta
Aulacoseira granulata (Ehrenberg) Simonsen 1979
Bacillariophyta não identificada
Eunotia sp.
Fragilaria sp.
Navícula sp.
Pinularia sp.

Pela análise dos diferentes tratamentos verificou-se que a composição específica se diferenciou em relação ao aparecimento ou desaparecimento (às vezes de forma pontual, em uma única data de coleta) de algumas espécies ou mesmo ausência total, conforme pode ser observado nas Tabelas 47 a 51 (do Anexo A). No tratamento Controle, por exemplo, as espécies *Merismopedia tenuissima, Ankistrodesmus falcatus*, *Coelastrum reticulatum, Crucigenia* sp., *Kirchneriella* sp., *Scenedesmus subispicatu*s e *Staurastrum americanum* estiveram totalmente ausente, enquanto *Phormidium interruptum, Eutetramorus fottii, Micractinium bornhemiense, Tetrastrum triacanthum, Tetrastrum heteracanthum, Oedogonium* sp. e *Pinularia* sp. ocorreram apenas em uma única data de coleta. Variações semelhantes ocorreram nos demais tratamentos, como pode ser avaliado nas tabelas do Anexo A.

A partir da análise desses dados, verifica-se que, na análise quantitativa, somente 41 dos 48 taxa identificados na análise qualitativa estiveram presentes. Com base nessa avaliação, observou-se que dos 41 taxa, 60,97% (25) estiveram presentes em todos os tratamentos, 12,1% (5) ocorreram somente no tratamento C e 2,4% (1) somente foi encontrado no tratamento RNC, sendo que os demais (11 taxa) foram registrados entre 2 e 4 tratamentos. Verifica-se, também, que o tratamento com Vertimec® e o Aleatório foram aqueles que apresentaram o maior número de taxa ausentes (12 e 13 taxa, respectivamente). Entre as espécies mais ausentes e que somente foram registradas no tratamento Controle, destacam-se *Micractinium borhemiense, Scenedesmus* sp., *Tetrastrum triacanthum, Oedogonium* sp. e *Aulacoseira granulata.*

6.3.2.2. Densidade e abundância relativa do fitoplâncton

Na Figura 25 estão apresentados os valores de densidade total para a comunidade fitoplanctônica em cada tratamento e hora de coleta. Verifica-se, pelos dados obtidos, que as densidades nos mesocosmos não foram semelhantes desde o início da coleta, com valores de 10.984 org.L^{-1} no tratamento C, de 22.554 org.L^{-1} no tratamento RNC, 15.350 org.L^{-1} no tratamento RC, 12.501 org.L^{-1} no tratamento V e de 17.197 org.L^{-1} em A.

A partir de 48 horas do início do experimento, verificou-se acentuada redução na densidade do fitoplâncton em todos os tratamentos, incluindo o ponto Aleatório, sendo uma redução gradativa e acentuada na maioria dos tratamentos (mais evidente em C, RC e V). Considerando os valores máximos (em geral entre 0 e 3h) e mínimos (na coleta de 240h, exceto para o Tratamento V, cujo menor valor foi a 144h), observam-se reduções na densidade de 65,7% em C, 90,5% em RNC, 92,13% em RC e 59,1% em V. No ponto de coleta Aleatório a diferença foi de 53,3%. Pelos resultados obtidos também se verifica as maiores diferenças ocorreram em RNC e RC, o que pode demonstrar o efeito da turbidez sobre a comunidade fitoplanctônica. Também se deve mencionar que no tratamento V ocorreu um aumento da densidade após a aplicação do Vertimec® (valores bem próximos entre 0 e 96h), com acentuada redução em 144h (59,1%) e aumento exponencial nos demais horários, com densidade final (12.045 org.L^{-1}) similar a inicial (12.501 org.L^{-1}). Esses resultados podem indicar uma recuperação da comunidade, embora com substituição de espécies (maior contribuição final de espécies pertencentes à Chlorophyceae em relação à predominância inicial de Bacillariophyta). Este também foi um padrão de alternância bem similar aos demais tratamentos, embora em menor intensidade, indicando, possivelmente o efeito da sedimentação sobre as diatomáceas e o favorecimento das algas clorofíceas.

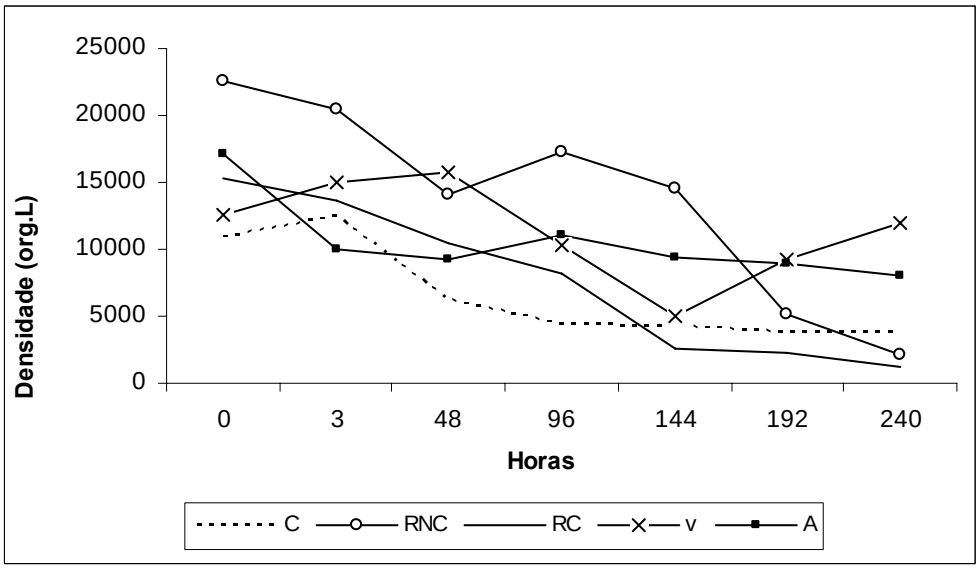


Figura 25. Variação temporal da densidade de fitoplâncton nos diferentes tratamentos, sendo C: controle, RNC: *runoff* não contaminado, RC: *runoff* contaminado, V: Vertimec® e A: aleatório

Dentre as 10 classes encontradas no período de estudo, observa-se na Figura 27 (e também no Anexo A, nas Tabelas 52 a 58) que, independente do tratamento, realmente houve maior abundância de Bacillariophyta até o tempo 48h, ocorrendo gradativamente um aumento na abundância de Chlorophyceae, a qual foi mais abundante em todos os tratamentos no tempo 192h. Este aumento de Chlorophyceae foi mais evidente no tratamento com Vertimec®, seguidos por aqueles que receberam o *runoff*.

A maior contribuição da classe Chlamydophyceae ocorreu no tratamento C (nos tempos 48 e 96h) e Xantophyceae no tratamento RC (nos tempos 192 e 240h). Dinophyceae teve maior contribuição no tratamento C e no ponto aleatório (A), com aumento gradativo no decorrer do experimento, enquanto Chrysophyceae foi mais representativa no Tratamento C, na coleta de 192h.

A abundância relativa de cada táxon para cada tratamento está apresentada nas Tabelas 11 a 15. Em geral, a clorofícea *Monoraphidium minutum* e as diatomáceas *Eunotia* sp., *Fragilaria* sp. e Bacillariophyta não identificada tiveram as maiores contribuições em todos

os tratamentos e no ponto aleatório. Apesar da semelhança nos taxa com maior abundância, o comportamento destes diferiu entre os tratamentos.

No tratamento controle os taxa abundantes foram *Chlamydomonas* sp., *Acanthosphaera* cf. *tenuispina*, *Coelastrum proboscideum*, *Coenochloris pyrenoidosa*, *Monoraphidium minutum*, *Scenedesmus quadricauda*, *Peridinium* sp., *Goniochloris* sp., *Mallomonas* sp., Bacillariophyta não identificada, *Eunotia* sp., *Fragilaria* sp. e *Navicula* sp. Sendo que *Eunotia* sp. apresentou diminuição na contribuição gradativamente até o fim do experimento; Bacillariophyta não identificada também tendeu a diminuir no decorrer do período amostral, passando de 19% (0h) para 1% (240h); *Fragilaria* sp. teve aumento quando se compara a abundância inicial e final; *S. quadricauda* teve aumento constante, com redução apenas no tempo 240h *e M. minutum* teve acréscimo na abundância até os tempos 96 e 144h, havendo posterior decréscimo. *A.* cf. *tenuispina* esteve presente em densidades elevadas nas amostras coletadas até 48h, *Chlamydomonas* sp. foi abundante nos tempos 48 e 96h (7,8 e 7,9 %, respectivamente), *Peridinium* sp. tornou-se abundante a partir do tempo 144h e *Goniochloris* sp. apenas no tempo 144h.

No tratamento RNC os taxa abundantes foram *Acanthosphaera* cf. *tenuispina*, *Monoraphidium minutum*, Bacillariophyta não identificada, *Eunotia* sp., *Fragilaria* sp. e *Navicula* sp. A espécie *A.* cf. *tenuispina* esteve presente em densidades elevadas nas amostras coletadas até 48h, enquanto *M. minutum,* no período amostral, aumentou em abundância, sendo dominante nos tempos 192 e 240h (72,2 e 59,4%, respectivamente). Para *Eunotia* sp. verificou-se aumento na abundância até o tempo 96h, com posterior decréscimo até o final do período amostral, embora tenha sido a espécie dominante (representando 53,7% do total), no tempo 96h. Bacillariophyta não identificada também apresentou decréscimo após 48h, enquanto a abundância relativa de *Fragilaria* sp. decresceu gradativamente até o final do experimento e *Navicula* sp. somente foi abundante nos tempos 0 e 48h.

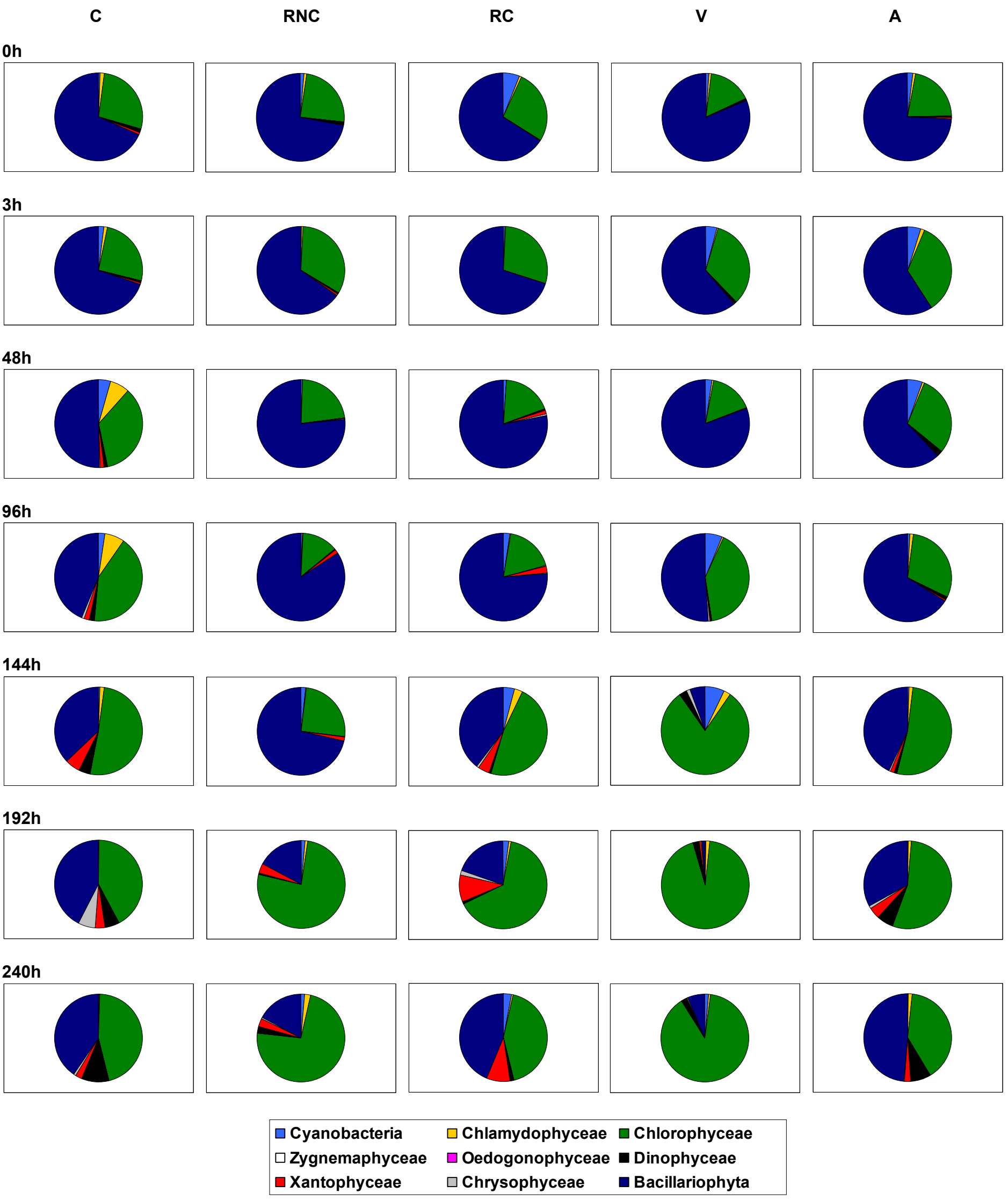


Figura 26. Abundância relativa (%) das diferentes classes fitoplanctônicas durante o período amostral, nos diferentes tratamentos dos mesocosmos.

No tratamento RC as espécies abundantes foram *Acanthosphaera* cf. *tenuispina*, *Coelastrum proboscideum*, *Monoraphidium minutum*, *Scenedesmus quadricauda*, *Goniochloris* sp., Bacillariophyta não identificada, *Eunotia* sp. e *Fragilaria* sp. Neste tratamento a espécie *A.* cf. *tenuispina* também foi abundante até o tempo 48h, *C. proboscideum* esteve presente em densidades altas nas amostras a partir de 144h e *S. quadricauda* foi abundante (7,6%) apenas na coleta realizada no tempo 192h. *M. minutum* novamente teve sua abundância aumentada durante todo o período amostral, com pequena redução no tempo 240h. *Goniochloris* sp. representou, nos tempos 192 e 240h, 10,2% e 8,7%, respectivamente da abundância total das amostras. As diatomáceas *Eunotia* sp. e Bacillariophyta não identificada tiveram o mesmo padrão de contribuição ao longo do período experimental, assemelhando-se ao tratamento RNC e *Fragilaria* sp. apresentou pouca variação na abundância, exceto no tempo 48h, onde teve a sua maior contribuição (20,7%), e 192h, com a menor contribuição (3,7%).

No tratamento V as espécies abundantes foram *Aphanocapsa delicatissima*, *Acanthosphaera* cf. *tenuispina*, *Monoraphidium minutum*, Bacillariophyta não identificada, *Eunotia* sp., *Fragilaria* sp. e *Navicula* sp. A cianobactéria *A. delicatissima* foi abundante apenas no tempo 96h, onde representou 6% da abundância total. Neste tratamento a grande diferença entre os demais se deve a espécie *M. minutum,* que apresentou o maior aumento dentre todos os tratamentos, chegando a representar 91% da abundância total (no tempo 192h). A espécie *Acanthosphaera* cf. *tenuispina,* apesar da abundância inicial e final serem semelhantes, representou 27,8% do total deste tratamento no tempo 96h. As diatomáceas *Eunotia* sp., Bacillariophyta não identificada, *Fragilaria* sp. e *Navicula* sp. apresentaram gradativa e acentuada redução da abundância relativa durante o período experimental.

No ponto aleatório, externo aos mesocosmos, as espécies abundantes foram *Aphanocapsa delicatissima*, *Acanthosphaera* cf. *tenuispina*, *Coenochloris pyrenoidosa*, *Monoraphidium minutum*, *Scenedesmus quadricauda*, *Peridinium* sp., Bacillariophyta não

identificada, *Eunotia* sp., *Fragilaria* sp. e *Navicula* sp. A espécie *A. delicatissima* contribui com 4,6% da abundância total no tempo 48h, mesma contribuição de *C. pyrenoidosa* no tempo 192h. A espécie *A.* cf. *tenuispina* apresentou as maiores porcentagens de abundância relativa nas coletas iniciais, contribuindo com 8,6 %, 12% e 7,4% nas amostras coletadas a 0, 3 e 48h, respectivamente. *M. minutum* apresentou importante contribuição, chegando a representar 32,8% da abundância total (tempo 144h). *Eunotia* sp. e Bacillariophyta não identificada apresentaram diminuição na contribuição gradativamente até o final do experimento, enquanto *Fragilaria* sp. aumentou durante o período amostral, contribuindo com até 44% da densidade total no tempo 240h. *Navicula* sp. foi abundante apenas no tempo 48h, com 4,9% da abundância total.

Com relação ao aumento da participação da classe Chlorophyceae no decorrer do experimento, as espécies que contribuíram para este aumento foram: *Acanthosphaera* cf. *tenuispina*, *Coelastrum proboscideum*, *Coenochloris pyrenoidosa*, *Monoraphidium minutum* e *Scenedesmus quadricauda* nos tratamentos C, RC e ponto A. No tratamento RNC esses mesmos taxa contribuíram para o aumento da classe, exceto as espécies *C. proboscideum* e *C. pyrenoidosa*, enquanto no tratamento V este incremento se deve praticamente ao aumento de *M. minutum*, porém ainda com a participação de *A.* cf. *tenuispina*. O gênero *Peridinium* sp., único representante da classe Dinophyceae, teve abundância crescente no tratamento C e no ponto Aleatório, onde sua contribuição foi maior.

Tabela 11 - Abundância relativa (%) do fitoplâncton no tratamento controle (C), durante período de coleta (em negrito, os taxa abundantes)

Tratamento Controle							
Taxa	**0h**	**3h**	**48h**	**96h**	**144h**	**192h**	**240h**
Aphanocapsa delicatissima	0,0	1,3	2,0	2,1	0,2	0,0	0,0
Geitlerinema acutissimum	0,2	0,6	2,4	0,2	0,0	0,0	0,0
Phormidium interruptum	0,2	0,0	0,0	0,0	0,0	0,2	0,0
Pseudanabaena minima	0,1	0,0	0,3	0,4	0,4	0,0	0,4
Chlamydomonas sp.	1,7	1,5	**7,8**	**7,9**	1,7	0,2	0,1
Acanthosphaera cf. *tenuispina*	**7,9**	**5,7**	**6,6**	2,8	2,3	4,6	3,5
Coelastrum proboscideum	**4,6**	1,9	3,9	1,8	**5,6**	1,9	**4,7**
Coenochloris pyrenoidosa	3,3	1,9	2,9	2,8	**7,6**	3,9	**11,9**
Eutetramorus fottii	0,3	0,0	0,0	0,0	0,2	0,0	0,0
Micractinium bornhemiense	0,1	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
Micractinium pusillum	0,5	0,0	0,0	0,4	0,0	0,0	0,1
Monoraphidium contortum	0,0	0,0	0,1	0,2	0,0	0,0	0,0
Monoraphidium minutum	3,5	**10,6**	**10,4**	**16,0**	1,9	0,6	0,0
Oocystis marssoonii	0,0	0,0	0,1	0,0	0,0	0,0	0,4
Pediastrum duplex	0,2	0,0	0,1	0,4	0,4	0,3	0,1
Pediatrum tetras	0,7	0,5	0,4	1,1	0,8	0,5	0,5
Scenedesmus acuminatus	0,0	0,0	0,0	0,2	0,2	0,0	0,2
Scenedesmus opoliensis	1,4	0,8	0,1	0,5	1,6	0,8	0,2
Scenedesmus quadricauda	3,2	2,9	**5,2**	**10,2**	**27,5**	**28,6**	**23,5**
Scenedesmus sp.	0,0	0,0	0,0	0,0	0,2	0,0	0,4
Scenedesmus spinosus	0,1	0,1	0,1	0,9	1,6	0,5	0,1
Tetrastrum heteracanthum	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,2	0,0
Tetrastrum triacanthum	0,1	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
Oedogonium sp.	0,1	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
Peridinium sp.	1,3	0,8	1,3	2,1	**4,3**	**5,3**	**10,0**
Goniochloris sp.	0,7	0,6	1,6	1,6	**4,8**	2,8	2,4
Pseudopoliedriopsis sp.	0,2	0,0	0,0	0,5	0,8	0,8	0,1
Mallomonas sp.	0,0	0,1	0,3	0,7	0,0	**6,4**	0,7
Bacillariophyta não identificada	**19,2**	**15,0**	**10,1**	**7,0**	**6,6**	1,4	1,1
Eunotia sp.	**28,5**	**37,0**	**25,9**	**16,5**	**15,5**	3,6	2,5
Fragilaria sp.	**12,4**	**13,3**	**14,7**	**20,9**	**13,2**	**37,1**	**36,3**
Navicula sp.	**9,2**	5,4	3,5	3,0	2,7	0,3	0,8
Pinularia sp.	0,0	0,0	0,1	0,0	0,0	0,0	0,0

Tabela 12 - Abundância relativa (%) do fitoplâncton no tratamento com *runoff* não contaminado (RNC), durante período de coleta (em negrito, os taxa abundantes; sombreados, os taxa dominantes)

Tratamento com *runoff* não contaminado							
Taxa	**0h**	**3h**	**48h**	**96h**	**144h**	**192h**	**240h**
Aphanocapsa delicatissima	1,4	0,0	0,0	0,0	1,4	0,9	0,2
Geitlerinema acutissimum	0,0	0,0	0,6	0,6	0,2	0,2	0,0
Merismopedia tenuissima	0,0	0,3	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
Phormidium interruptum	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,2
Pseudanabaena minima	0,1	0,0	0,1	0,1	0,0	0,2	1,1
Chlamydomonas sp.	1,2	0,4	0,0	0,2	0,2	1,3	2,3
Acanthosphaera cf. *tenuispina*	**11,9**	**18,4**	**7,2**	0,4	0,0	0,0	0,2
Ankistrodesmus falcatus	0,0	0,0	0,1	0,0	0,0	0,0	0,0
Coelastrum proboscideum	1,2	0,4	2,5	0,5	0,1	0,3	2,9
Coelastrum reticulatum	0,0	0,4	0,7	0,3	0,5	0,5	0,4
Coenochloris pyrenoidosa	1,9	1,6	1,4	0,6	0,5	0,2	2,7
Crucigenia sp.	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,2
Eutetramorus fottii	0,1	0,0	0,1	0,0	0,0	0,1	0,0
Kirchneriella sp.	0,0	0,0	0,0	0,1	0,0	0,0	0,0
Micractinium pusillum	0,0	0,0	0,1	0,0	0,0	0,0	0,0
Monoraphidium contortum	0,0	0,0	0,0	0,0	0,1	0,0	1,9
Monoraphidium minutum	4,6	**8,7**	**7,2**	**10,6**	**23,1**	**72,2**	**59,4**
Pediastrum duplex	0,1	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
Pediatrum tetras	0,5	0,3	0,5	0,1	0,0	0,3	0,4
Scenedesmus acuminatus	0,0	0,0	0,1	0,0	0,0	0,0	0,0
Scenedesmus opoliensis	0,8	0,0	0,1	0,1	0,0	0,0	0,0
Scenedesmus quadricauda	1,9	2,6	2,3	0,5	0,6	1,7	4,2
Scenedesmus spinosus	0,0	0,0	0,1	0,1	0,1	0,3	0,0
Scenedesmus subispicatus	0,1	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
Tetrastrum heteracanthum	0,1	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
Staurastrum americanum	0,0	0,0	0,1	0,0	0,0	0,0	0,0
Peridinium sp.	1,2	0,6	0,0	0,3	0,1	0,3	2,7
Goniochloris sp.	0,2	0,4	0,2	1,2	1,3	3,8	3,2
Pseudopoliedriopsis sp.	0,0	0,1	0,1	0,0	0,1	0,0	0,0
Mallomonas sp.	0,0	0,0	0,2	0,1	0,0	0,0	0,4
Bacillariophyta não identificada	**20,5**	**15,4**	**20,6**	**19,3**	**15,3**	3,2	2,9
Eunotia sp.	**30,3**	**33,0**	**37,0**	**53,7**	**48,6**	**10,9**	**11,6**
Fragilaria sp.	**15,9**	**12,9**	**12,6**	**6,3**	3,5	1,5	1,9
Navicula sp.	**6,0**	4,3	**6,4**	5,0	4,1	1,7	1,3

Tabela 13 - Abundância relativa (%) do fitoplâncton no tratamento com *runoff* contaminado (RC) durante período de coleta (em negrito, os taxa abundantes)

Tratamento com *runoff* contaminado							
Taxa	**0h**	**3h**	**48h**	**96h**	**144h**	**192h**	**240h**
Aphanocapsa delicatissima	6,0	0,0	0,0	0,0	0,3	0,3	0,0
Geitlerinema acutissimum	0,0	0,2	0,7	2,4	4,1	0,0	3,1
Merismopedia tenuissima	0,0	0,2	0,3	0,0	0,0	0,0	0,0
Phormidium interruptum	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	1,8	0,0
Pseudanabaena minima	0,0	0,0	0,0	0,1	0,0	0,3	0,0
Chlamydomonas sp.	1,1	0,2	0,1	0,3	2,9	0,8	0,4
Acanthosphaera cf. *tenuispina*	**14,9**	**16,1**	**8,2**	0,7	1,8	0,5	1,3
Ankistrodesmus falcatus	0,0	0,0	0,1	0,0	0,0	0,0	0,0
Coelastrum proboscideum	0,3	0,0	0,6	1,0	**5,9**	**17,8**	**7,0**
Coelastrum reticulatum	0,0	0,2	1,3	0,8	1,2	0,8	0,4
Coenochloris pyrenoidosa	1,0	0,7	0,3	1,4	2,6	3,7	6,6
Crucigenia sp.	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,4
Eutetramorus fottii	0,0	0,0	0,0	0,0	0,3	0,3	0,0
Kirchneriella sp.	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,3	0,0
Monoraphidium contortum	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,5	0,4
Monoraphidium minutum	**6,9**	**9,0**	**6,0**	**11,9**	**31,8**	**31,5**	**21,0**
Oocystis marssoonii	0,0	0,0	0,1	0,0	0,0	0,0	0,0
Pediastrum duplex	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,3	0,0
Pediatrum tetras	0,4	0,2	0,1	0,1	0,0	0,0	0,0
Scenedesmus acuminatus	0,0	0,0	0,0	0,0	0,3	0,0	0,0
Scenedesmus opoliensis	0,4	0,0	0,0	0,6	0,0	0,8	0,0
Scenedesmus quadricauda	1,7	2,8	1,2	1,5	2,1	**7,6**	5,2
Scenedesmus spinosus	0,3	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
Tetrastrum heteracanthum	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,3	0,0
Staurastrum americanum	0,0	0,0	0,0	0,1	0,0	0,0	0,0
Peridinium sp.	0,4	0,0	0,6	0,0	0,6	0,8	1,3
Goniochloris sp.	0,0	0,0	1,5	2,5	4,1	**10,2**	**8,7**
Pseudopoliedriopsis sp.	0,1	0,0	0,0	0,0	0,3	0,0	0,0
Mallomonas sp.	0,0	0,0	0,6	0,4	0,9	1,6	0,0
Bacillariophyta não identificada	**22,3**	**21,0**	**17,3**	**16,6**	**7,4**	2,1	**6,6**
Eunotia sp.	**26,4**	**33,6**	**34,1**	**43,0**	**20,0**	**13,4**	**23,6**
Fragilaria sp.	**12,4**	**10,6**	**20,7**	**12,7**	**11,5**	3,7	**11,4**
Navicula sp.	5,2	5,0	6,0	3,9	2,1	0,8	2,6

Tabela 14 - Abundância relativa (%) do fitoplâncton no tratamento com Vertimec® (V) durante período de coleta (em negrito, os taxa abundantes; sombreado, os taxa dominantes)

Tratamento com Vertimec							
Taxa	**0h**	**3h**	**48h**	**96h**	**144h**	**192h**	**240h**
Aphanocapsa delicatissima	1,2	4,1	2,4	**6,0**	5,7	0,0	0,0
Geitlerinema acutissimum	0,0	0,0	0,1	0,2	1,4	0,3	1,2
Phormidium interruptum	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,1
Pseudanabaena minima	0,0	0,0	0,0	0,2	0,3	0,0	0,0
Chlamydomonas sp.	0,8	0,6	0,6	0,5	2,6	1,5	0,9
Acanthosphaera cf. *tenuispina*	4,6	**17,3**	**8,1**	**27,8**	**11,3**	1,8	2,7
Coelastrum proboscideum	0,3	0,1	0,5	1,0	3,1	0,0	0,6
Coenochloris pyrenoidosa	1,1	0,8	0,1	0,6	0,7	0,1	0,4
Crucigenia sp.	0,1	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
Eutetramorus fottii	0,1	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
Micractinium pusillum	0,2	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
Monoraphidium contortum	0,3	0,1	0,2	0,3	0,0	0,2	0,0
Monoraphidium minutum	**6,9**	**11,9**	5,6	**9,1**	**62,2**	**91,2**	**84,4**
Oocystis marssoonii	0,0	0,0	0,0	0,0	0,2	0,0	0,0
Pediatrum tetras	0,3	0,5	0,1	0,2	0,0	0,0	0,1
Scenedesmus opoliensis	0,1	0,7	0,1	0,0	0,0	0,0	0,1
Scenedesmus quadricauda	1,0	1,0	0,5	1,4	2,4	0,3	0,6
Scenedesmus spinosus	0,1	0,2	0,1	0,0	0,2	0,0	0,0
Peridinium sp.	0,5	0,8	0,3	0,6	2,9	2,3	2,0
Goniochloris sp.	0,3	0,1	0,0	0,3	0,2	0,7	0,1
Pseudopoliedriopsis sp.	0,1	0,2	0,0	0,0	0,0	0,1	0,0
Mallomonas sp.	0,0	0,0	0,0	0,6	1,4	0,3	0,3
Bacillariophyta não identificada	**19,4**	**16,0**	**18,7**	**9,2**	1,0	0,1	1,2
Eunotia sp.	**42,6**	**31,0**	**45,9**	**31,6**	3,3	0,5	3,0
Fragilaria sp.	**12,4**	**9,6**	**11,5**	**8,3**	1,4	0,6	1,8
Navicula sp.	**7,4**	5,1	4,7	2,2	0,0	0,1	0,6

Tabela 15 - Abundância relativa (%) do fitoplâncton no ponto aleatório (A), durante período de coleta (em negrito, os taxa abundantes)

Ponto aleatório (A)							
Taxa	**0h**	**3h**	**48h**	**96h**	**144h**	**192h**	**240h**
Aphanocapsa delicatissima	1,9	5,2	**4,6**	0,8	0,4	0,1	0,0
Geitlerinema acutissimum	0,0	0,0	0,7	0,1	0,1	0,0	0,2
Phormidium interruptum	0,1	0,0	0,1	0,1	0,1	0,0	0,1
Pseudanabaena minima	0,0	0,0	0,1	0,0	0,1	0,2	0,1
Chlamydomonas sp.	1,0	1,3	0,8	1,3	1,2	1,2	1,3
Acanthosphaera cf. *tenuispina*	**8,6**	**12,0**	**7,4**	3,0	2,0	4,1	3,2
Coelastrum proboscideum	1,5	0,9	1,5	1,4	4,0	2,7	1,5
Coenochloris pyrenoidosa	1,8	2,1	0,9	1,6	2,2	**4,6**	3,1
Eutetramorus fottii	0,1	0,0	0,1	0,0	0,0	0,0	0,1
Monoraphidium contortum	1,2	0,0	0,4	0,4	0,2	0,1	0,3
Monoraphidium minutum	3,8	**13,5**	**11,7**	**15,4**	**32,8**	**17,4**	**12,8**
Oocystis marssoonii	0,1	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,2
Pediastrum duplex	0,0	0,0	0,0	0,1	0,0	0,8	0,2
Pediatrum tetras	0,2	0,4	0,4	0,3	0,0	0,5	0,3
Scenedesmus acuminatus	0,0	0,1	0,1	0,1	0,0	0,2	0,0
Scenedesmus opoliensis	0,6	0,5	0,7	0,3	0,3	0,0	0,5
Scenedesmus quadricauda	2,7	3,8	4,9	**6,1**	**8,9**	**21,5**	**15,6**
Scenedesmus spinosus	0,2	0,3	1,1	0,6	1,0	1,3	1,4
Tetrastrum heteracanthum	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,1	0,0
Peridinium sp.	0,6	0,0	1,8	1,2	1,2	**6,4**	**7,6**
Goniochloris sp.	0,3	0,2	0,4	0,5	1,1	3,8	2,0
Pseudopoliedriopsis sp.	0,2	0,0	0,1	0,0	0,3	0,2	0,4
Mallomonas sp.	0,0	0,0	0,0	0,0	0,6	1,3	0,2
Bacillariophyta não identificada	**17,0**	**11,7**	**12,6**	**15,2**	4,1	1,6	1,0
Eunotia sp.	**37,0**	**32,2**	**32,1**	**31,9**	**15,1**	**5,2**	3,4
Fragilaria sp.	**17,1**	**10,9**	**12,8**	**16,1**	**23,2**	**25,1**	**44,0**
Navicula sp.	3,9	5,0	**4,9**	3,7	1,1	1,5	0,8

6.3.2.3. Índices ecológicos

Com base nos valores de densidade da comunidade fitoplanctônica, foram calculados a riqueza (d) e os índices de diversidade (H'), dominância (D') e equitabilidade (J'), os quais estão apresentados na Figura 27 e também no Anexo A (Tabelas 59 a 62).

Pelos resultados obtidos, verifica-se que os valores de riqueza foram bem próximos entre si, variando, em média, entre 15 (no tratamento RC) a 22 (no tratamento Controle). Avaliando os tratamentos, observa-se ainda que os valores médios de riqueza, apesar de

próximos entre si, foram menores nos tratamentos RNC (19), RC (15) e V (17), sendo mais elevados e similares em C (22) e A (21).

Com relação à diversidade, houve pouca variação entre os tratamentos ao longo do experimento, exceto no tratamento com Vertimec®, com valores entre 0,48 e 1,98 bits.ind.$^{-1}$. No entanto, considerando os valores médios obtidos em cada tratamento, durante todas as coletas, verifica-se que os menores valores de diversidade ocorreram em RNC (1,66 bits.ind.$^{-1}$) e V (1,45 bits.ind^{-1}), sendo mais próximos em C (2,18 bits.ind^{-1}), RC (2,01 bits.ind^{-1}) e A (2,06 bits.ind^{-1}).

O índice de dominância também apresentou pequena variação no período amostral nos tratamentos C (de 0,77 a 0,88), RC (0,75 a 0,86) e no ponto A (0,76 a 0,85). No entanto, no tratamento RNC houve redução contínua desde o início do experimento (de 0,82 para 0,46), com pequeno aumento do índice no final (0,63). No tratamento V redução somente foi acentuada a partir de 144h (variando de 0,75 no início do experimento a 0,17 e 0,28 nas últimas coletas). Os valores médios obtidos durante o período amostral demonstram essas diferenças, com índice de dominância de 0,83 em C, de 0,69 em RNC, de 0,81 em RC, de 0,59 em V e de 0,81 em A, o que foi uma tendência similar ao observado no índice de diversidade de Shannon.

Para equitabilidade foi observado um aumento no tratamento controle e no ponto aleatório no tempo 48h, enquanto nos demais tratamentos houve redução dos valores. Porém, em todos os tratamentos a equitabilidade final (0,31 em C; 0,26 em RNC; 0,13 em V e 0,29 em A) foi menor que a inicial (0,37 em C; 0,38 em RNC; 0,29 em V e 0,35 em A), exceto no tratamento RC, cujo valor final (0,58) foi maior que o inicial (0,47). Os valores médios de equitabilidade obtidos nos tratamentos e períodos de coleta demonstram maiores diferenças quando se compara os tratamentos C (0,41), RC (0,43) e A (0,38) com os tratamentos RNC (0,28) e V (0,26).

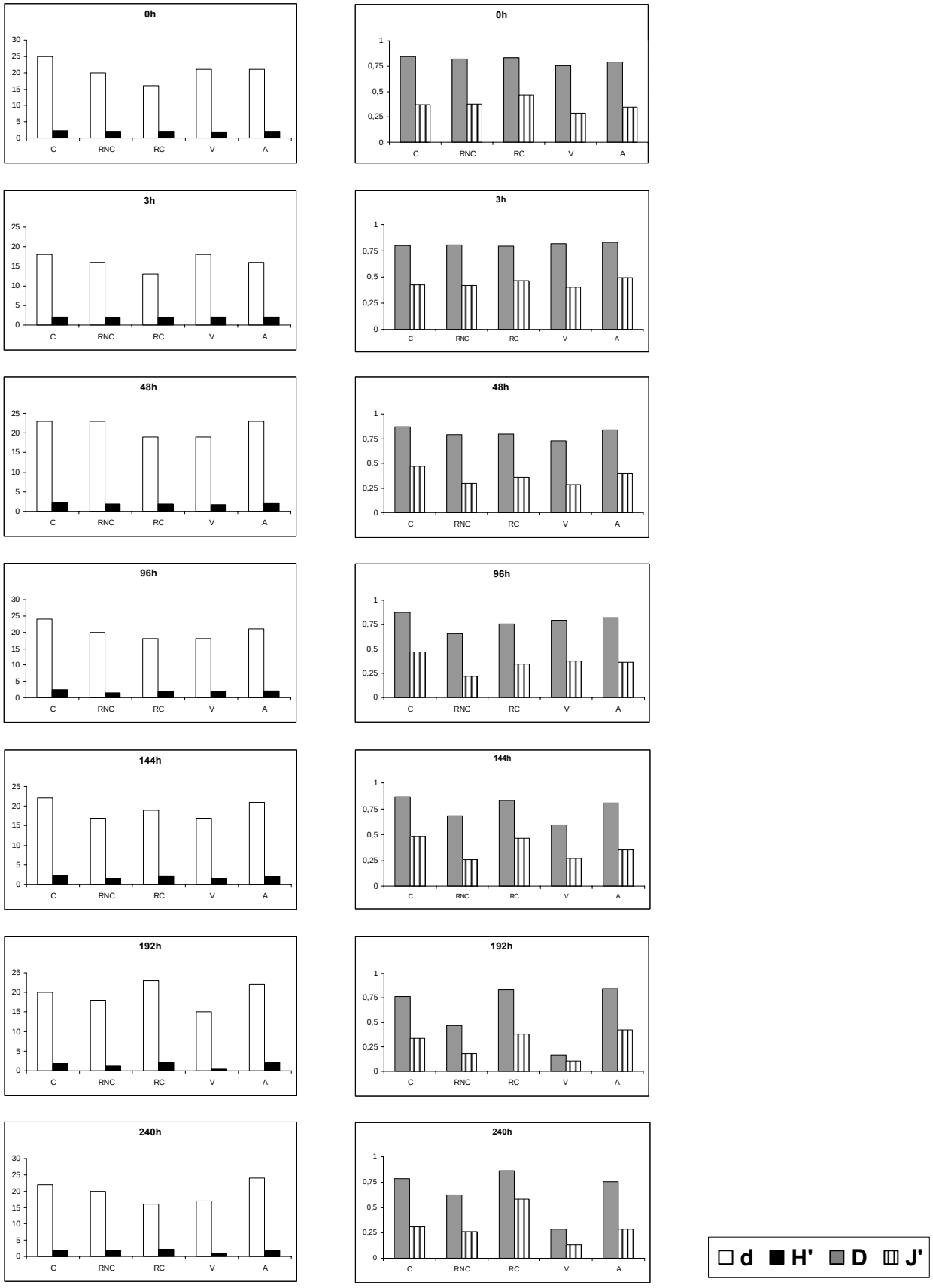


Figura 27. Índices ecológicos calculados para a comunidade fitoplanctônica nos diferentes tratamentos durante o período amostral, sendo C: controle, RNC: *runoff* não contaminado, RC: *runoff* contaminado, V: Vertimec® e A: aleatório

6.3.3. Testes de toxicidade com *Pseudokirchneriella subcapitata* com a água dos mesocosmos

Na Figura 28 e nas Tabelas 63 e 64, do Anexo A, estão apresentados os valores de densidade celular e concentração de clorofila *a* de *P. subcapitata* após 96h de exposição à água proveniente dos mesocosmos.

Conforme mencionado no item materiais e métodos, foram realizados três ensaios de toxicidade, sendo a água coletada nos mesocosmos no tempo 3h (1º dia de experimento, 3 horas após a contaminação), no tempo 120h (5º dia de experimento) e 240h (10º e último dia do experimento). Um controle laboratorial foi montado para avaliar a viabilidade do teste, porém, como referência para os diferentes tratamentos foi usado o resultado proveniente do controle de campo, ou seja, o tratamento C.

No entanto, o tratamento C apresentou as menores densidades de *P. subcapitata* (150.000, 440.000 e 816.667 cel.mL^{-1}, no tempo 3h, 120h e 240h do experimento) quando comparado aos demais tratamentos em todos os dias amostrados, impossibilitando a sua utilização como Controle no teste de Dunnett. O tratamento que permitiu o maior crescimento de *P. subcapitata* foi o RC (1.560.000 a 4.976.667 cel.mL^{-1}), seguido pelos tratamentos RNC (1.166.667 a 1.663.333 cel.mL^{-1}) e V (760.000 a 1.620.000 cel.mL^{-1}). Verifica-se, pelos dados obtidos, que em RNC e RC ocorreu um estímulo ao crescimento das algas, o que pode ter ocorrido em decorrência do aporte de nutrientes ao meio de cultura, sendo que em V as densidades forma menores comparativamente a RNC e RC, indicando um efeito maior do agrotóxico, embora ainda tenha sido maior que a densidade encontrada em C.

As concentrações de clorofila *a* obtidas também seguiram o mesmo padrão da densidade celular, com maiores valores nos tratamento RNC (de 2.047,9 a 3.373,6 µg.L^{-1}), RC (de 2.105,4 a 2.881,2 µg.L^{-1}) e V (de 1967,4 a 3.306,5 µg.L^{-1}), em relação ao tratamento C (de 1.680,1 a 3.691,6 µg.L^{-1}).

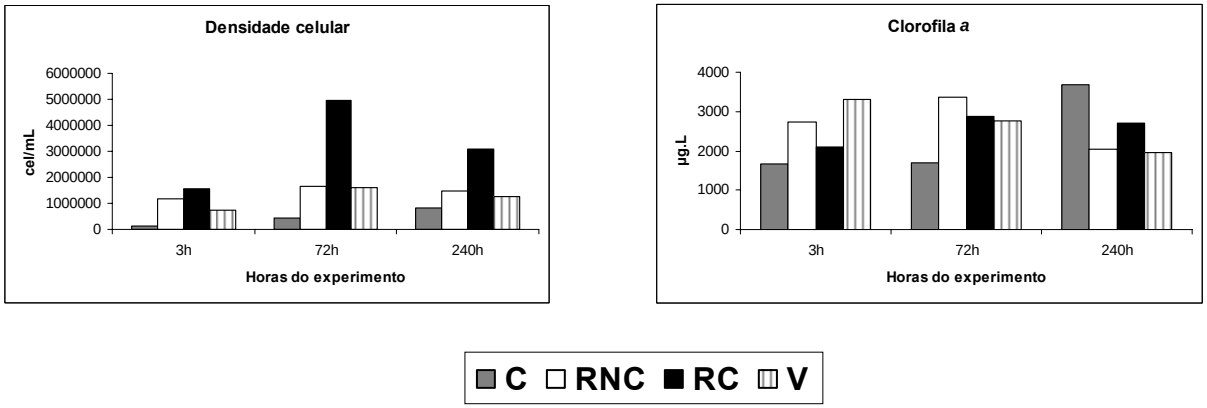


Figura 28. Densidade celular e concentração de clorofila *a* de *P. subcapitata* para os diferentes tratamentos testados, sendo C: controle, RNC: *runoff* não contaminado, RC: *runoff* contaminado e V: Vertimec®

6.4. Testes de toxicidade com abamectina

Foram realizados dois testes de toxicidade com abamectina, sendo que os valores de CI50 para *P. subcapitata* variaram entre 15,19 e 15,76 $mg.L^{-1}$, conforme descrito na Tabela 16. Para os testes realizados, obteve-se um valor médio para a CE(I)50;96h de 15,5 $mg.L^{-1}$ de abamectina, correspondendo a um limite superior de 16,28 $mg.L^{-1}$ e inferior de 14,67 $mg.L^{-1}$, com coeficiente de variação de 2,6%. Os resultados da densidade celular em ambos os testes podem ser avaliados nas Tabelas 65 e 66, do Anexo A.

Os resultados demonstraram, através do teste de Dunnett (Tabelas 67 a 70, do Anexo A), que não houve diferença significativa ($p<0,05$) entre o controle e o controle com solvente (Figura 29), portanto a acetona não foi a responsável pela redução do crescimento algáceo, mas sim a abamectina. Assim, para a determinação da CI50, foi considerado como controle para o teste o controle com a maior concentração do solvente (200 µL de acetona), ao invés do controle apenas com meio L.C. Oligo.

Tabela 16 - Valores de CI50; 96h obtidos nos testes de toxicidade com abamectina com *P. subcapitata*

Ensaio	**CI50; 96h ($mg.L^{-1}$)**
1	15,19
2	15,76
Média	15,5
Limite inferior ($mg.L^{-1}$)	14,67
Limite superior ($mg.L^{-1}$)	16,28
Coeficiente de variação (%)	2,6

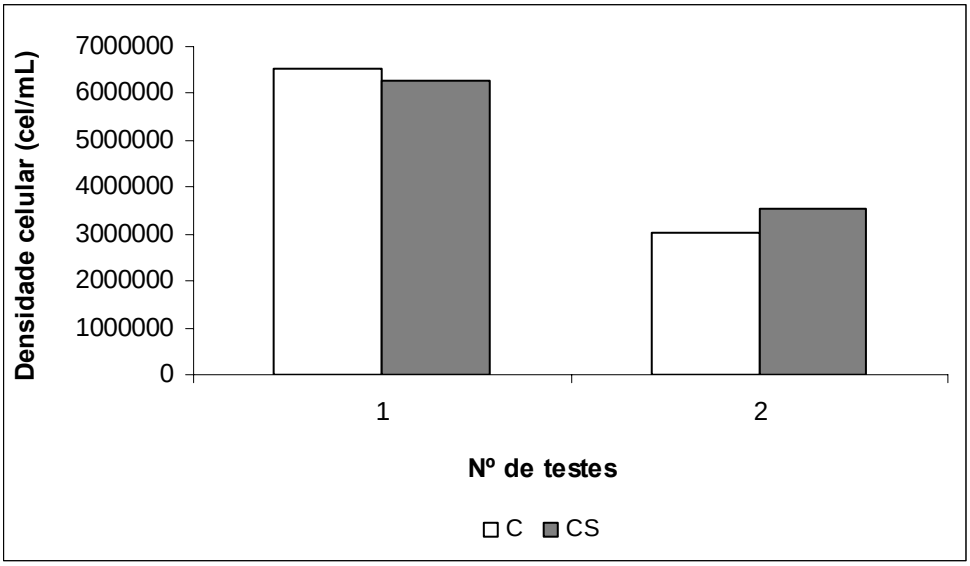


Figura 29. Comparação do crescimento algáceo entre o controle (C) e o controle com solvente (CS). Diferença estatisticamente não significativa (Teste de Dunnett; $p<0,05$).

A análise cromatográfica demonstrou que no início dos ensaios crônicos as concentrações reais de abamectina nas amostras-teste estavam bem próximas as concentrações nominais, sendo que as concentrações reais das amostras ficaram entre 87 e 99% da concentração nominal. Como a análise cromatográfica foi realizada somente com as amostras do 2º ensaio crônico, optou-se por utilizar no texto a concentração nominal de abamectina. Verifica-se, com os dados obtidos, que após 96h de exposição mais de 98% da concentração inicial de abamectina tinha sido degradada, o que significa que o tempo de permanência do composto no ambiente é relativamente curto (Tabela 17).

Tabela 17 - Concentração real de abamectina nas amostras-teste no início dos ensaios crônicos com *P. subcapitata* e após 96h de exposição (LD: limite de detecção; LQ: Limite de quantificação).

Amostras testadas (concentração nominal)	**Concentração real ($mg.L^{-1}$) no início do teste**	**Concentração real ($mg.L^{-1}$) após 96 horas**
Controle	0	< LD
1 $mg.L^{-1}$ de abamectina	0,867	< LQ
5 $mg.L^{-1}$ de abamectina	4,953	0,012
10 $mg.L^{-1}$ de abamectina	9,548	0,018
15 $mg.L^{-1}$ de abamectina	13,585	0,097
20 $mg.L^{-1}$ de abamectina	18,866	0,155

7. DISCUSSÃO

7.1. Avaliação dos efeitos do Vertimec® sobre o crescimento, volume celular e conteúdo de carbono de *Pseudokirchneriella subcapitata* a partir dos experimentos do *runoff*

Os resultados dos ensaios ecotoxicológicos para avaliação dos efeitos do *runoff* sobre a densidade celular de *P. subcapitata* demonstram um aumento na densidade celular com o aumento da diluição do *runoff*, tanto para a amostra proveniente do *runoff* não contaminado (RNC) como para o contaminado (RC). Desta forma, verifica-se que as diferenças obtidas ocorreram mais em função da turbidez (com valores entre 37 e 930 NTU em RNC e entre 30 e 890 NTU em RC, representando diluições de 3,12 a 100%, respectivamente) do que o agrotóxico utilizado no experimento. Ou seja, independente do tratamento (RNC e RC) e da diluição ocorreram reduções na densidade celular em relação ao controle, ressaltando-se, inclusive, que as densidades médias nas amostras do *runoff* contaminado (RC) foram maiores do que aquelas do não contaminado (RNC).

Os efeitos da turbidez têm sido relatados em diversos estudos experimentais laboratoriais e também sobre comunidades naturais, indicando que os efeitos físicos, como a limitação da luz, entre outros, têm conseqüências importantes sobre a dinâmica das populações. Moreira-Santos et al. (2005), por exemplo, em ensaios com a alga *P. subcapitata,* em microcosmos tratados com diferentes concentrações de *runoff* não contaminado e *runoff* contaminado com o inseticida deltametrina, verificaram que o crescimento algáceo foi menor no tratamento preparado com a mais alta porcentagem de *runoff*. Para os autores, o decréscimo no crescimento de *P. subcapitata,* mesmo em níveis elevados de nutrientes, ocorreu em função da turbidez, verificando-se uma relação inversa entre o aumento da concentração do *runoff* e a densidade celular. Para os autores, a presença de uma elevada

quantidade de partículas suspensas restringiu a penetração de luz, impedindo o desenvolvimento da alga.

Os resultados obtidos por Moreira-Santos *et al* (2005) são similares aos observados no presente estudo e àqueles registrados por outros autores, em situações experimentais em lagos, demonstrando os efeitos adversos da turbidez sobre organismos fotossintetizadores (MEYER; HERITAGE, 1941; MARZOLF; ARRUDA, 1980; LLOYD, 1985; McCUBBIN et al., 1990), uma vez que a turbidez impede a penetração de luz dentro do corpo d'água, dificultando a fotossíntese.

Meyer e Heritage (1941), por exemplo, em um estudo *in situ*, demonstraram a redução progressiva da fotossíntese da macrófita aquática *Ceratophyllum demersum* com a submersão na água, concluindo que esta redução era muito mais acentuada com o aumento da turbidez. Davies-Colley et al. (1992) observaram que a descarga de argila proveniente de atividade mineradora reduziu a biomassa de algas bentônicas e o conteúdo fototrófico do epilíton. Em estudos realizados por Chandler (1942), o autor menciona que a turbidez influenciou a composição, tamanho, duração e hora da ocorrência de pulsos de fitoplâncton, além da taxa de fotossíntese em várias profundidades do lago estudado. Dokulil (1994) observou, em um sistema natural, que a concentração de clorofila *a* diminuiu exponencialmente com o aumento da concentração de sólidos suspensos e Garnier et al. (2008) também observaram que a produção fitoplânctonica foi muito baixa devido à limitação de luz causada por sólidos suspensos.

Os estudos de Lind et al. (1992) também demonstraram que a produção fitoplânctonica anual foi muito baixa em um algo tropical, sendo governada pela turbidez inorgânica, situação que é agravada nos períodos de chuvas, devido à enxurrada de partículas de argilas proveniente da bacia hidrográfica. Resultados similares são apresentados por McCubbin et al. (1990), que descrevem a redução total da produtividade em ambientes aquáticos devido ao efeito deletério da turbidez sobre algas verdes; por Lloyd (1985), que

concluiu que um aumento de 25 NTU na turbidez em sistemas de águas rasas e claras pode potencialmente reduzir de 13 a 50% a produtividade fitoplanctônica e por Marzolf e Arruda (1980), que verificaram que a inibição fotossintética causada pela turbidez persistia inclusive em corpos d'água com alta carga de nutrientes.

Assim, considerando-se a alta turbidez das amostras e baseando-se nos testes de toxicidade realizados que demonstraram que a CI50 para *Pseudokirchneriella subcapitata* exposta a abamectina é de 15,5 $mg.L^{-1}$, fica evidente que a concentração de abamectina presente no *runoff* foi insuficiente para causar toxicidade a alga, uma vez que esta concentração foi de 40 $\mu g.L^{-1}$ na amostra não diluída, sendo mais reduzida nas maiores diluições. Como todas as diluições do *runoff*, contaminado ou não, foram diferentes do controle de laboratório, a toxicidade das amostras pode realmente ser atribuída à alta turbidez, devido a lavagem do solo, sendo, portanto, mais um efeito físico que químico.

A ausência de efeitos tóxicos da abamectina (nas concentrações testadas) no crescimento de microalgas observado no presente estudo está de acordo com investigações de outros autores. Estudos que submeteram algas a abamectina e⁄ou ivermectina demonstraram que estas são menos sensíveis ao produto do que outras espécies aquáticas, como por exemplo, o zooplâncton. Em um estudo realizado com ivermectina, Garric et al. (2007) obtiveram um valor de CE50;72h de 4 $mg.L^{-1}$ para *P. subcapitata*, enquanto que para o cladócero *Daphnia magna* a CL50;48h foi de 5,7 $ng.L^{-1}$. Tišler e Eržer (2006) reportaram um valor de CE50;72h de 4,4 $mg.L^{-1}$ para a alga verde *Scenedesmus subspicatus* e CL50;48h de 0,25 $\mu g.L^{-1}$ para *D. magna*.

Estes estudos demonstram que a toxicidade da abamectina para as algas é geralmente muito baixa, no entanto, não descartam o risco de alterações na comunidade fitoplânctonica, uma vez que essas mudanças (na abundância e composição da comunidade) podem ocorrer como resultado de efeitos tóxicos diretos sobre a pressão de *grazing* do zooplâncton, levando, conseqüentemente, a um distúrbio no equilíbrio do sistema.

Além da análise na densidade, procurou-se avaliar outros possíveis efeitos, entre eles as alterações no biovolume e no conteúdo de carbono orgânico. Os resultados obtidos para ambos demonstram que não houve diferença significativa entre as amostras testadas (RNC e RC) e o controle laboratorial, exceto na concentração de 50% do *runoff* contaminado.

Ausência de alterações no biovolume também foi reportada por Pérez et al. (2007) em experimentos em mesocosmos tratados com o herbicida glifosato. Os autores observaram que os tratamentos contaminados apresentaram diminuição na abundância do fitoplâncton quando comparados ao tratamento controle, porém não foram observadas diferenças significativas entre os tratamentos quando a quantidade de fitoplâncton foi expressa em biovolume.

No entanto, resultados contrários têm sido relatados por alguns autores para diferentes químicos testados. Tang et al. (1998), por exemplo, observaram uma correlação significativa entre o tamanho celular e a toxicidade de atrazina para as diferentes espécies de algas estudadas. Essa correlação sugere que os diferentes graus de acumulação de atrazina podem contribuir para as diferenças na toxicidade de atrazina e que bioconcentração poderia ser um pré-requisito para a toxicidade. Para os autores, o mais forte indicador de sensibilidade das algas foi o biovolume, sendo que quanto menor o biovolume, menor os níveis de atrazina internas necessárias para evocar inibição.

Asselborn e Domitrovic (2002a) também relataram aumentos no biovolume de *P. subcapitata* expostas ao inseticida orgafosforado clorpirifós. Os autores observaram um aumento significativamente maior no biovolume celular das células expostas ao inseticida quando comparados ao tratamento controle, além de uma coloração verde pálida das células, deformação celular e aumento no tamanho dos grânulos citoplasmáticos.

Enquanto para os agrotóxicos ainda existe maior carência de estudos, para contaminação por metais já existem diversos relatos de aumento do volume celular em células expostas ao contaminante. Entre esses, pode ser citado o trabalho de Stauber e Florence (1987), que avaliaram a toxicidade do cobre na diatomácea marinha *Nitzschia closterium*,

observando que o tratamento com cobre causou inchaço celular. Rodgher (2005) também relatou aumento no biovolume e no conteúdo de carbono orgânico em células de *P. subcapitata* expostas a cádmio e cromo. Todos os autores anteriormente mencionados acima atribuíram este aumento celular ao alargamento dos vacúolos.

Alguns autores relacionam as alterações dos vacúolos com a compartimentalização dos metais ocasionada pelo processo de detoxificação, como Nishikawa et al. (2003), que em seus ensaios com a clorofícea *Chlorella acidophila* expostas aos metais cádmio e cromo verificaram alterações no tamanho das células algáceas com aumento dos vacúolos.

Informações adicionais sobre o processo também são mencionadas por Parshikova et al. (2009), que observaram aumento do volume celular em diferentes espécies de *Chlamydomanas* quando expostas a dicromato de potássio. Para os autores esse aumento ocorreu em função do atraso na esporulação das microalgas, bem como a danos no plasmalema causados pela substância tóxica, podendo ainda ser atribuído, em parte, a desaceleração da divisão celular, causada pela inibição geral do metabolismo celular ou por danos no mecanismo de divisão; ou ainda como uma resposta de proteção a célula, que entram em estado de repouso, não se dividem, mas ativamente acumulam potencial de energia necessária para a divisão.

No presente estudo, como não houve alteração no biovolume e conteúdo de carbono das células expostas ao *runoff* (tanto contaminado como não contaminado), exceto na concentração de 50% do RC, e baseando-se no fato de que a toxicidade das amostras testadas foi em função da alta turbidez e não do químico testado, os resultados evidenciam que os efeitos da exposição ao *runoff* ocorreram mais em relação à inibição de crescimento da população.

Deve-se salientar, no entanto, que na diluição de 3,12% de ambos os tratamentos (*runoff* contaminado e não contaminado), o biovolume e conteúdo de carbono orgânico total foram mais elevados em relação ao controle de laboratório. Apesar da diferença existente, este

aumento no volume celular provavelmente se deve as características nutricionais da amostra, uma vez que a lavagem do solo pode ter aumentado a concentração de nutrientes em relação ao controle de laboratório, permitindo assim um aumento no volume celular das células expostas a essa diluição. Esse incremento nutricional, associado à menor turbidez (por ser a amostra com menor concentração de *runoff*), pode ter ocasionado a diferença observada, embora esta não tenha sido estatisticamente significativa (teste de Dunnett).

7.2. Avaliação dos efeitos diretos e indiretos do Vertimec® sobre o crescimento de *Pseudokirchneriella subcapitata* a partir dos experimentos em mesocosmos

De forma a complementar os experimentos anteriores, procurou-se, nesta etapa da pesquisa, avaliar os efeitos diretos (adição do Vertimec®) e indiretos (*runoff*) sobre o crescimento de *P. subcapitata*, utilizando, para esta finalidade, os experimentos em mesocosmos, com tratamentos diferenciados (C: controle, RNC: *runoff* não contaminado; RC: *runoff* contaminado e V: Vertimec®).

Os resultados obtidos, em tempos diferenciados (3h, 120h e 240h do experimento), indicam o maior crescimento de *P. subcapitata* no tratamento RC (1.560.000 a 4.976.667 cél.mL^{-1}), seguido pelo tratamento RNC (1.166.667 a 1.663.333 cél.mL^{-1}) e V (760.000 a 1.620.000 cél.mL^{-1}), verificando-se menor crescimento no tratamento Controle em relação aos demais. Portanto, observa-se que o produto testado (Vertimec®) não inibiu o crescimento de *P. subcapitata* quando avaliado em relação ao tratamento Controle, embora tenha apresentado menores valores de densidade quando comparado à RNC e RC.

A ausência de toxicidade do Vertimec® (presente nos tratamentos RC e V) a *P. subcapitata* pode ser explicada baseando-se nos testes de toxicidade, realizados neste estudo, com o ingrediente ativo puro, a abamectina. Nestes testes, a concentração de abamectina necessária para causar a CI50 em *P. subcapitata* foi de 15,5 mg.L^{-1}, e nos tratamentos

experimentais a concentração de abamectina estava bem abaixo deste faixa (0,04 $mg.L^{-1}$ no tratamento V). Por outro lado, o maior crescimento algáceo nos tratamentos RC e RNC pode ter ocorrido em função das condições nutricionais dos mesocosmos, uma vez que houve um aumento na concentração de nutrientes do sistema após a adição do *runoff*, o que não ocorreu nos tratamentos C e V. Sendo assim, a adição do *runoff* fez com que as concentrações de nutrientes em ambos os tratamentos (RC e RNC) fossem superiores ao meio de cultivo e também a C e V, o que justifica um maior crescimento de *P. subcapitata.*

Realmente, nas análises limnológicas dos mesocosmos é possível observar que após a adição da água do *runoff* ocorreu o aumento nas concentrações de nitrogênio e fósforo, sendo esse nutriente proveniente da lavagem do solo, o que poderia favorecer a redução da toxicidade pela adsorção do contaminante às partículas de solo, adicionalmente ao aumento de nutrientes. Muitos estudos têm demonstrado a diminuição da toxicidade de compostos químicos devido à adição de nutrientes. Stauber e Florence (1989), por exemplo, observaram que a toxicidade de cobre e zinco para alga marinha *Nitzschia closterium* dependia da composição do meio de ensaio. Em meios de cultivo não enriquecidos nutricionalmente, a CI50,72h para *N. closterium* exposta ao cobre foi de 10 $\mu g.L^{-1}$, enquanto que em meio enriquecido a CI50 foi maior que 200 $\mu g.L^{-1}$de Cu. O mesmo foi observado para zinco, cuja CI50 aumentou de 75 $\mu g.L^{-1}$ para cerca de 850 $\mu g.L^{-1}$ em meio enriquecido.

Asselborn e Domitrovic (2002b) verificaram situação semelhante, ao observarem um estimulo do crescimento das microalgas *P. subcapitata* e *Ankistrodesmus gracilis* quando expostas à amostras de uma lagoa que recebia efluentes têxteis. Segundo os autores, o estímulo do crescimento ocorreu em apenas um dos ensaios realizados no estudo, sendo que nos demais houve inibição. Para os autores, o aumento no crescimento ocorreu em função do aumento da carga nutricional do sistema devido a maior contribuição de matéria orgânica na lagoa, já que a coleta que apresentou estes resultados foi realizada no período chuvoso, o que propiciou um aporte maior de material orgânico alóctone para dentro da lagoa.

Os resultados obtidos por Moreira-Santos et al. (2005) também demonstram situação similar, uma vez que os autores verificaram que a adição de nutrientes na água aumentou significativamente o crescimento *P. subcapitata* em praticamente todos os tratamentos. Os experimentos foram conduzidos para avaliar o crescimento da alga mediante duas condições laboratoriais a partir do *runoff*: somente água dos microcosmos e água dos microcosmos enriquecida com os nutrientes do meio de cultivo algáceo (meio MBL).

No presente estudo, como já descrito nos Materiais e Métodos, a água proveniente dos mesocosmos, e utilizada nos ensaios ecotoxicológicos, foi previamente enriquecida com os nutrientes do meio L.C Oligo antes da montagem do ensaio. Portanto, as amostras dos diferentes tratamentos receberam a mesma concentração de nutrientes em laboratório, porém as amostras que foram tratadas em campo com o *runoff* possuíam uma concentração maior de nutrientes, proveniente da lavagem do solo, permitindo assim um maior crescimento algáceo nestas amostras (RNC e RC) quando comparado aos demais tratamentos.

7.3. Avaliação dos efeitos diretos e indiretos do Vertimec® sobre a estrutura da comunidade de fitoplâncton

Os testes de toxicidade laboratoriais são concebidos para proporcionar resultados consistentes e que possam ser reproduzidos. Contudo, eles não são projetados para prever os efeitos na espécie testada ao químico sob condições naturais, portanto o regime de exposição não representa as condições de exposição do mundo real (GRANEY et al., 1995), além de não possibilitar uma análise conjunta e seqüencial em outras espécies que compõem a estrutura biológica de um ecossistema aquático.

Assim, a principal razão para realizar testes *in situ*, especialmente na avaliação de produtos químicos agrícolas, é fornecer um regime de exposição mais realista do que a informação gerada nos de testes laboratoriais. Nesse sentido, os estudos *in situ* são

indispensáveis quando se deseja avaliar os riscos ambientais de um produto químico, pois os dados de toxicidade derivados de laboratório não são indicativos de que esses efeitos ocorrerão no campo (GRANEY et al., 1995). Além disso, efeitos diretos e indiretos do contaminante podem ser avaliados, expressando respostas mais reais em nível de cadeia alimentar.

Nesse sentido, diversos estudos têm sido conduzidos no sentido de avaliar as diferenças existentes entre os experimentos laboratoriais e *in situ*. Tonissi e Espíndola (2002), por exemplo, realizaram bioensaios em campo e em laboratório com o objetivo de avaliar a qualidade da água e do sedimento do Reservatório de Salto Grande, Americana/SP. Nos bioensaios de toxicidade realizados em laboratório os autores verificaram ausência de mortalidade do organismo-teste (*Danio rerio*) em todo o período de coleta. No entanto, para o bioensaio *in situ* verificou-se que as estações de coleta amostradas apresentaram potencial tóxico, causando a mortalidade dos peixes expostos, demonstrando claramente uma subestimativa dos efeitos reais adversos causados pelos poluentes nos bioensaios em laboratório. Dornfeld et al. (2006) também demonstraram as diferenças entre os testes de toxicidade realizados *in situ* e os laboratoriais, utilizando a espécie bentônica *Chironomus xanthus* como organismo-teste. Os autores realizaram os experimentos *in situ* no rio Monjolinho, um ecossistema que drena trechos urbanos e rurais do município de São Carlos/ SP, considerando os períodos seco e chuvoso, utilizando como parâmetros de avaliação a deformidade, peso e comprimento. Os resultados obtidos pelos autores demonstraram efeitos subletais nos experimentos *in situ*, sendo menos expressivos ou ausentes nos testes laboratoriais. De forma similar, os estudos de Fracácio et al. (2009), no mesmo sistema avaliado por Dornfeld et al. (2006), indicaram diferenças significativas entre a mortalidade, peso e alterações histológicas em brânquias de *D. rerio* quando esses foram expostos diretamente no rio Monjolinho e em testes laboratoriais.

Apesar das inúmeras vantagens, a principal crítica da utilização de ensaios em mesocosmos se deve à baixa replicabilidade dos testes, a qual se refere à habilidade de duas unidades testes, que receberam a mesma dose de um contaminante, produzirem os mesmos resultados (GUSMÃO, 2004).

Na literatura é comum encontrar trabalhos onde as respostas entre as réplicas de um mesmo tratamento são diferentes. Massutti (2004), por exemplo, em experimentos em mesocosmos, observou diferenças significativas nos parâmetros estudados entre as réplicas dos tratamentos. Em relação às variáveis avaliadas na água superficial, as maiores variações ocorreram entre as réplicas do tratamento controle. Estas diferenças foram observadas para pH, oxigênio dissolvido, material em suspensão total, material em suspensão orgânico, fósforo total, nitrato, silicato, e clorofila. Com relação à comunidade biológica, como não foram analisadas réplicas das amostras, a reprodutibilidade da metodologia empregada não pôde ser avaliada quanto a esse aspecto. A autora, que também realizou experimentos em microcosmos, reportou que comparando-se a variabilidade entre as réplicas dos mesocosmos e dos microcosmos, foi observado o aumento da variabilidade com o aumento das escalas espacial e temporal, de acordo com o já relatado pela literatura (CAIRNS, 1995).

Em experimentos realizados por Roche et al. (1993) foram utilizados duas réplicas por tratamento, sendo que em somente uma das réplicas de cada tratamento houve florescência da diatomácea *Nitzschia*; da mesma maneira o organismo bentônico *Chaoborus* só esteve presente em uma das réplicas de determinado tratamento. Para os autores as diferenças entre as réplicas influenciaram, de maneira diferencial, os componentes do sistema. Como exemplo os autores mencionam a diminuição no número de Crustácea somente no mesocosmo com *Chaoborus*. Apesar da variabilidade entre as réplicas, os resultados obtidos foram importantes na compreensão do efeito de predação sobre organismos zooplanctônicos.

Petersen et al. (1999), em uma revisão bibliografia sobre aspectos estruturais de experimentos em mesocosmos, observaram um número elevados de trabalhos (37%) que não

possuía réplicas para os tratamentos testados. Nesta revisão a freqüência de artigos publicados diminuiu com o aumento do número de repetições por tratamento, o que reforça a idéia comum da diferença entre as réplicas.

Ainda relacionado à questão da replicabilidade, o alto custo da construção e manutenção do experimento muitas vezes torna proibitivo o desenvolvimento de réplicas no trabalho (PETERSEN et al., 1999; ROCHE et al., 2005). Para Gusmão (2004) o alto custo de execução destes experimentos, associados à facilidade de perda de estruturas experimentais por danos e interferências indesejadas, dificultam ainda mais a replicação do experimento.

Para Graney et al. (1995), a divergência dos sistemas irá ocorrer ao longo do tempo, tornando questionável o uso de repetições. Ainda conforme este autor, a ausência de réplicas não invalida o estudo, significando apenas que o pesquisador deve interpretar seus resultados dentro dos limites do seu *design* experimental. Deste modo, no presente estudo a decisão de se utilizar apenas uma das réplicas dos diferentes tratamentos testados não invalida o trabalho, pois os resultados obtidos estão adequados aos objetivos propostos da pesquisa.

Considerando que as respostas das comunidades biológicas advém previamente (e as vezes simultaneamente) de alterações na estrutura e funcionamento do sistema em função do próprio *design* experimental, as análises físicas e químicas são importantes para subsidiar a interpretação dos resultados obtidos, permitindo ao pesquisador distinguir efeitos diretos e indiretos da adição de um contaminante ao ecossistema. Dentro deste contexto, as análises limnológicas realizadas no presente estudo permitiram reconhecer alguns desses efeitos, os quais podem ocorrer mediante a ação individual ou sinérgica de um conjunto de variáveis.

Em todos os mesocosmos, inclusive no controle, observou-se um aumento do pH e oxigênio dissolvido logo após a adição dos contaminantes, com posterior diminuição destes parâmetros no decorrer do experimento. No tratamento com Vertimec® verificou-se ainda uma maior tendência ao pH alcalino, enquanto nos demais os valores indicaram um pH mais ácido. Para condutividade elétrica, os tratamentos que receberam o *runoff* apresentaram

redução logo após a adição a *runoff*; porém, com o decorrer do experimento, os valores de condutividade destes tratamentos equipararam-se aos demais, embora tenham sido mais elevados nas coletas realizadas na área externa aos mesocosmos, indicando um possível efeito do barramento da água (*enclosure*), com favorecimento a sedimentação de materiais. No entanto, as maiores alterações nas variáveis limnológicas ocorreram nas formas nitrogenadas, fosfatadas e material em suspensão, sendo que os tratamentos que receberam o *runoff* apresentaram as maiores variações, sendo favorecidos pelo maior aporte de nutrientes e partículas inorgânicas, favorecendo o aumento de ambos e, conseqüentemente, contribuindo para diversas modificações na estruturação física, química e biológica de cada tratamento.

A concentração de nutrientes é um importante fator que controla o crescimento fitoplanctônico (TRAIN et al., 2005), uma vez que os nutrientes são materiais inorgânicos necessários para vida, cuja oferta é potencialmente limitante para atividade biológica nos ecossistemas aquáticos. Embora muitos dos macro e micronutrientes sejam necessários para a atividade enzimática e síntese de proteínas, fósforo e nitrogênio são os nutrientes primários que limitam a atividade biológica (VAN DE BUND et al., 2004).

Muitos autores concordam que a produtividade de um sistema é diretamente proporcional ao aumento nas concentrações de nutrientes. Para alguns, esse aumento na produtividade é causado tanto pelo aumento nas concentrações de fósforo e nitrogênio, quanto pela adição de matéria orgânica no sistema (CALIJURI et al., 1999), o que pode alterar a composição de espécies. Van de Bund et al. (2004), por exemplo, em ensaios realizados em mesocosmos, constataram um aumento na contribuição de clorofíceas na biomassa total do fitoplâncton quando os níveis mais elevados de nutrientes foram testados.

Os resultados da presente pesquisa também demonstram que o aporte do *runoff* no sistema aquático elevou a concentração de nutrientes, contribuindo para o aumento de dominância de clorofíceas. Porém, apesar das condições nutricionais do sistema terem favorecido a permanência ou densidade de algumas espécies fitoplanctônicas, os efeitos

diretos da adição do *runoff* na seleção ou participação das espécies não puderam ser observados, provavelmente devido à duração do experimento. Vale ressaltar, no entanto, que em sistema natural a entrada de material alóctone, associado ao carreamento de agrotóxico, pode selecionar espécies neste ambiente e provocar mudanças nas interações tróficas.

Além do aporte de nutrientes, o aumento da concentração de material em suspensão na água pode ocasionar diversas interferências nas respostas fotossintéticas da comunidade fitoplânctonica devido à redução da zona eufótica, uma vez que na coluna de água a luz é atenuada exponencialmente por meio de absorção e dispersão. Entretanto, a porção fotossinteticamente ativa do espectro não é absorvida igualmente. Inicialmente ocorre a absorção da luz azul, depois da vermelha e por último da verde. A maior eficiência fotossintética ocorre sob a luz vermelha, que normalmente tem a menor atenuação em água turva (DOKULIL, 1994). Desta forma, a quantidade de material em suspensão pode reduzir, consideravelmente, a penetração de luz no sistema aquático (CALIJURI et al., 1999).

No presente estudo, observou-se um aumento na concentração dos sólidos suspensos após a adição do *runoff* na água dos mesocosmos. A interferência desse aumento na turbidez do sistema fica evidente ao considerar os dados de clorofila *a* dos tratamentos, onde é possível verificar que o tratamento Controle e o ponto Aleatório não sofreram interferência, apresentando as maiores concentrações de clorofila *a*, enquanto os tratamentos que receberam o *runoff* tiveram uma redução da concentração de clorofila *a*, sendo mais evidente no tratamento que recebeu o *runoff* contaminado, provavelmente devido ao efeito combinado da turbidez com o agrotóxico.

Deve-se mencionar ainda que no presente estudo não foram feitas adições repetidas do agrotóxico ou da água proveniente do *runoff,* procurando-se identificar apenas uma ocorrência pontual. No entanto, no atual modelo de plantio, os pesticidas são geralmente aplicados repetidamente nas lavouras para assegurar uma proteção suficiente das suas colheitas. Assim, os ecossistemas aquáticos próximos aos campos agrícolas estão sujeitos a repetidas cargas de

pesticidas, influenciando a biota aquática de forma direta ou indireta, o que, aliado a outros eventos (como precipitação, vento, circulação interna e presença de outros contaminantes) promovem uma cadeia de acontecimentos que podem ter efeitos deletérios ou não as espécies presentes, em função de sua capacidade de assimilação, sensibilidade e resistência (DENOYELLES et al., 1982).

Os estudos de Hanazato eYasuno (1990), por exemplo, demonstram de forma clara o aumento na magnitude dos efeitos sobre a comunidade do zooplâncton em tanques experimentais após aplicações repetidas em comparação com uma única aplicação do inseticida carbaril, indicando que alterações estruturais e funcionais estão ocorrendo em função do tempo, bem como da dosagem do contaminante e de sua interação com outros compostos presentes no sistema.

No presente estudo, apesar de ter sido adotada uma única aplicação, os efeitos em termos de densidade de organismos do fitoplâncton foram bem perceptíveis, verificando-se que, em relação ao controle, todos os demais tratamentos apresentaram uma menor densidade 3h após a contaminação. Apesar das diferenças iniciais existentes nos tratamentos, com maiores valores em RNC e A e maior similaridade entre C, RC e V, verifica-se que em todos os tratamentos ocorreram reduções na densidade numérica do fitoplâncton, sendo mais acentuada em RNC e RC, o que indica o efeito físico (turbidez e sedimentação), químico (alterações nutricionais e efeito do agrotóxico) ou biológico (competição e *grazing*), ou ainda o efeito combinado de todos eles.

Com relação às classes fitoplanctônicas, independente do tratamento houve maior abundância de Bacillariophyta até o tempo 48h, com um gradativo aumento na abundância de Chlorophyceae, sendo que esta classe teve a maior abundância em todos os tratamentos no tempo 192h. Este aumento de Chlolophyceae foi mais evidente no tratamento com Vertimec®, seguidos pelos tratamentos que receberam o *runoff*. Esta relação inversamente proporcional entre Bacillariophyta e Chlorophyceae se torna mais evidente a partir do tempo 48h. Neste

tempo, em todos os tratamentos, exceto no controle, houve redução na abundância de clorofíceas e aumento nas diatomáceas (no tratamento controle esta relação foi inversa, com redução de diatomácea e aumento de clorofíceas). A partir de 196h até 240h há gradativo aumento nas clorofíceas, com redução na participação das diatomáceas. No tratamento V, a classe Chlrophyceae representou 80,5% e 93,7% da abundância total nos tempos 144 e 192h, respectivamente, enquanto que Bacillariophyta representava 5,5% e 1,2% no mesmo período. No último dia amostrado (240h), a proporção entre as classes começa a se restabelecer, diminuindo clorofíceas e aumentando diatomáceas, exceto no tratamento controle, onde as proporções são novamente inversas.

Masutti (2004) obteve resultados similares em um experimento com os metais cromo e cobre na mesma área de estudo do presente trabalho. A autora observou que na coleta inicial, antes da adição dos contaminantes, a diatomácea *Aulacoseira granulata* era a espécie de maior abundância em todos os tratamentos, inclusive no tratamento controle, chegando a representar 53% da densidade total de indivíduos. No decorrer do experimento, que teve duração de 168h, a classe Chlorophyceae tornou-se a mais abundante, sendo que as demais classes praticamente desapareceram. A autora relacionou a diminuição da contribuição de *A. granulata* à redução do material em suspensão, o que pode ter implicado na sedimentação da espécie.

A taxa de sedimentação das diatomáceas realmente é uma das maiores dentre o fitoplâncton, em razão das características morfológicas e, sobretudo, por terem densidades geralmente superiores à da água (REYNOLDS, 1994; MELÃO et al., 2005). Assim, a substituição das diatomáceas por outros grupos é uma conseqüência da deposição de primeiras, e não exige suposições especiais sobre a ação de substâncias químicas dissolvidas no ambiente ou o desenvolvimento de interações bióticas (MARGALEF, 1983).

Considerando esse aspecto, a influência de fatores externos, como o vento, torna-se fundamental para ressuspender o material sedimentado, incluindo as algas como as

diatomáceas. Nesse sentido, Tundisi e Hino (1981) reportam que a ressuspensão de diatomáceas para as camadas mais superficiais da represa do Lobo somente ocorria em razão da turbulência causada pelo vento. No presente estudo, a diminuição na abundância diatomáceas no decorrer do experimento, provavelmente se deve a sedimentação das espécies, levando, portanto, a diminuição na contribuição deste grupo no decorrer do experimento. Como o sistema ficava mais protegido da ação do vento, os efeitos desses foram minimizados no decorrer do experimento.

Com relação às clorofíceas, essas algas têm uma distribuição ubíqua, sendo comum nos mais diversos ambientes (WETZEL, 1993). No presente estudo os seguintes gêneros de clorofíceas foram abundantes nos mesocosmos: *Coelastrum*, *Scenedesmus*, *Monoraphidium*, *Acanthosphaera*, *Coenochloris*. Todos esses gêneros pertencem à ordem de algas verdes denominada Chlorococcales. De acordo com Margalef (1983), as Chlorococcales são freqüentemente encontradas em ambientes tropicais de águas rasas. Para Sant'Anna et al. (2006), esse grupo de algas é comum e bem representado em termos de riqueza de espécies em águas tropicais.

Numa discussão sobre a ficoflora do Lago das Garças (Parque Estadual das Fontes do Ipiranga, São Paulo/SP), Bicudo et al. (1999) cita que em todos os estudos feitos no Lago, a classe Chlorophyceae foi dominante, com 45% do total dos taxa identificados, sendo que a ordem Chlorococcales representou 96,9% das algas verdes identificadas. Segundo os autores as Chlorophyceae correspondem a quase metade dos gêneros na listagem do fitoplâncton tropical, sendo que a ordem Chlorococcales apresentam a maior riqueza de espécies de grande parte dos lagos do Brasil.

Com relação à dominância das espécies, o gênero *Monoraphidium* foi dominante nos tratamentos RNC, no tempo 192 e 240h, e no tratamento V a partir do tempo 144h. Resultados semelhantes foram obtidos por Oliveira Neto (2000), que avaliou amostras da comunidade fitoplânctonica do Reservatório do Lobo e observou a dominância pelo grupo das

diatomáceas (contribuindo com 74% do total de indivíduos) e pela classe Chlorophyceae (com 23% da abundância total), sendo que neste grupo a espécie *M. minutum* representou 9% do total. Em outro período amostrado, o autor observou dominância pelo grupo das clorofíceas, que representou 65% do total de indivíduos, com dominância da espécie *M. tortile*, que representou 11% do total. Para Oliveira-Neto (2000), a intensa participação deste gênero se deve as características do grupo, que apresenta crescimento rápido, além de serem espécies comuns de ambientes tropicais. Além disso, espécies com ciclo de vida curto são favorecidas em ambientes com instabilidade ambiental (MELÃO et al., 2005).

Masutti (2004), que também realizou experimentos em microcosmos nas mesmas unidades experimentais utilizadas nesse estudo, mas avaliando os efeitos dos metais cobre e cromo, observou que a espécie *Monoraphidium circinale* apresentou a maior contribuição percentual, atingindo até 91,1% do total de indivíduos.

Alguns estudos têm indicado também que espécies pertencentes ao gênero *Monoraphidium* apresentam tolerância a contaminação. Domitrovic e Asselbor (2002b) realizaram ensaios onde populações naturais de fitoplâncton foram expostas, em laboratório, a amostras de efluentes de uma indústria têxtil e observaram que a espécie *Monoraphidium tortile* foi a espécie numericamente mais importante, indicando um alto grau de tolerância a contaminação. Hanazato e Kasai (1995) realizaram experimentos em mesocomos com o inseticida organofosforado fenthion e observaram que após 30 dias de experimento a alga *Monoraphidium* sp. passou a ser dominante nos tratamentos que receberam o agrotóxico. Os autores atribuíram o aumento da densidade a menor pressão de herbivoria, já que a comunidade zooplanctônica foi fortemente afetada pelo inseticida.

Apesar do reconhecimento dos efeitos de fatores ambientais sobre a dinâmica das populações, os fatores bióticos, como competição por recursos, herbivoria e parasitismo também têm influência sobre a comunidade fitoplânctonica. A herbivoria do zooplâncton sobre essas populações, especialmente microcrustáceos, é um importante fator de controle na

densidade fitoplânctonica, podendo acarretar importantes alterações em sua composição (MELÃO et al., 2005), uma vez que a pastagem de zooplâncton tende a resultar em um deslocamento das espécies de fitoplâncton, favorecendo algas com maiores taxas de crescimento, maior resistência ao pastoreio ou com ambas as características (LEIBOLD, 1989).

Nos ecossistemas aquáticos a densidade populacional e a biomassa dos organismos pode ser regulada pela limitação de recursos que influenciam a competição entre os taxa (efeito *bottom-up*) ou por pastagens e predação (efeito *top-down*). Na maioria dos experimentos com mesocosmos aquáticos não apenas os efeitos tóxicos diretos dos contaminantes são estudados, mas também os efeitos indiretos, devido a mudanças nas interações entre as populações que se tornam aparentes. Na literatura, a redução da pressão de *grazing*, levando a um aumento de fitoplâncton, é freqüentemente relatada para ensaios com agrotóxicos.

Grünwald (2003), por exemplo, realizou ensaios em mesocosmos com o inseticida piretróide cipermetrina e observou que a abundância de algas não seguia um padrão linear com a concentração do insetida, sendo que os efeitos na comunidade fitoplânctonica foram considerados como efeitos indiretos da toxicidade do produto. Como o inseticida reduziu a comunidade de zooplâncton herbívoro nas primeiras três semanas após a aplicação, a abundância das algas aumentou no sistema. Neste período em que a pressão de herbivoria do zooplâncton diminuiu, observou-se um aumento na abundância da classe Chlorophyceae. O autor relatou ainda que a sensibilidade para o inseticida aumentou com o nível trófico (isto é, o predador do topo da cadeia alimentar, já que nos mesocosmos não havia peixes, foi o organismo mais sensível). Dependendo da quantidade de inseticida na água foram observados efeitos nos organismos dos níveis tróficos inferiores da cadeia alimentar, sendo que quanto mais alta a posição ocupada na cadeia alimentar, maiores foram os efeitos transmitidos para os organismos em uma posição inferior.

Van den Brink et al. (2000), em experimentos realizados em microcosmos, observou que em níveis mais elevados de tratamento com o fungicida Derosal® (ingrediente ativo carbendazim) os taxa de Cladocera foram completamente eliminados, enquanto os números de crustáceos foram reduzidos. Devido à pressão de *grazing* reduzida, a abundância de alguns taxa de fitoplâncton aumentou. Van den Brink et al. (2009) também observaram o mesmo efeito quando realizaram experimentos em mesocosmos utilizando o inseticida lindano, registrando aumento da comunidade fitoplânctonica devido à redução do *grazing* zooplanctônico. Fliedner et al. (1997) também relataram alterações na comunidade fitoplânctonica exposta ao pesticida azocyclotin como um efeito indireto da exposição ao agrotóxico. Em experimentos em microcosmos a comunidade zooplanctônica foi gravemente afetada pela inseticida, minimizando assim a pressão de *grazing* sobre o fitoplâncton.

No presente estudo a comunidade zooplanctônica foi avaliada por Novelli (2010, em preparação) e a autora verificou alterações na composição do zooplâncton, com substituição de espécies. A Figura 30, obtida a partir dos resultados da autora, demonstra a densidade dos grupos no início (antes da contaminação) e no último dia (tempo 240h) do experimento, verificando-se que Rotíferos e Copépodos foram altamente afetados nos diferentes tratamentos dos mesocosmos, com especial atenção para os copépodos, que praticamente desapareceram nos tratamentos contaminados com o Vertimec® (tratamento RC e V). Com relação aos cladóceros, não foi possível fazer inferências devido à baixa representatividade do grupo no decorrer do experimento.

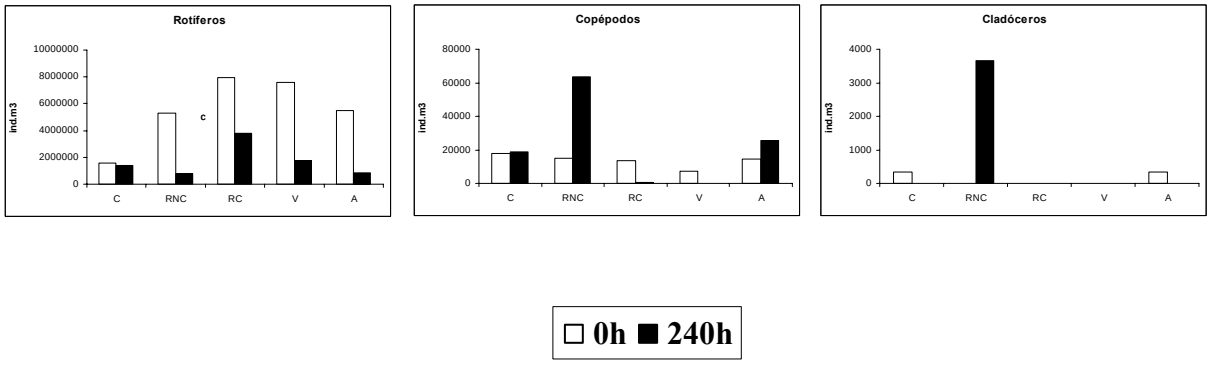


Figura 30. Densidade (ind.m^3) para Rotifera, Copepoda e Cladocera nos tempos 0h e 240h.

No entanto, nesse processo de alimentação muitos critérios estão envolvidos na seleção do alimento pelo predador, como o tamanho da presa, mobilidade, características da superfície, composição bioquímica, entre outros, enquanto muitas características da presa (no caso o fitoplâncton) podem funcionar como eficientes mecanismos de resistência a predação (por exemplo, formação de colônias, presença de mucilagem ou espinhos, produção de toxinas). Embora a faixa de tamanho das algas consumidas possa variar de acordo com a composição taxonômica do zooplâncton, algas com diâmetro menor que 30-35 μm podem ser consideradas como um alimento em potencial para estes organismos, enquanto algas maiores raramente seriam consumidas (LUCINDA, 2007). Nesse sentido, no presente estudo a diminuição da pressão de *grazing* pelo zooplâncton pode ter favorecido o crescimento de clorofíceas, especialmente do gênero *Monoraphidium*, uma vez que esta se tornou dominante nos experimentos, em quase todos os tratamentos. Lucinda (2007), ainda reporta que algas pequenas, como representantes de Chlorophyceae, são consideradas um alimento adequado para o zooplâncton, sendo preferencialmente consumidas por esses organismos. Além disso, as espécies do gênero *Monoraphidium* apresentam crescimento rápido e podem ter sido favorecidas nos tratamentos onde a pressão do *grazing* foi menor.

Deve-se considerar, ainda, que as condições individuais de cada tratamento se diferenciaram no decorrer do experimento, com variações significativas nas concentrações de

nutrientes. Nos experimentos verificou-se um aumento nas concentrações de nitrito e nitrato nos tanques que receberam o *runoff* e na concentração de fósforo em todos os tratamentos, o que pode ter favorecido ou suprimido determinadas espécies de algas, em adição ao efeito do agrotóxico.

Devido ao papel fundamental que desempenham nos ambientes aquáticos, os nutrientes exercem um papel semelhante na seleção de espécies. Assim, existem espécies com maior exigência de um determinado nutriente e que estariam em desvantagem em baixa disponibilidade. Além disso, a absorção de nutrientes difere não apenas entre as espécies de algas, mas também entre os vários nutrientes (REYNOLDS, 1998). Dentro desse contexto, o autor menciona que, em dado momento e em determinadas condições, algumas espécies ou grupos de espécies tendem a aumentar a biomassa mais fortemente do que outros, tornando-se, pelo menos temporariamente, melhor representado.

No presente estudo também se procurou avaliar as respostas do fitoplâncton em relação à concentração de clorofila *a*, verificando-se que os maiores valores de clorofila, durante o experimento, foram observados no tratamento controle e no ponto aleatório. No tratamento RNC, foram verificadas variações acentuadas de clorofila, com valores bem elevados, enquanto que os tratamentos que continham o agrotóxico (RC e V) apresentaram redução, sendo mais acentuada no Tratamento V, que inicialmente apresentava 12,56 $\mu g.L^{-1}$ e no final 6,98 $\mu g.L^{-1}$.

Em função do enriquecimento nutricional do *runoff*, poderia se esperar que houvesse um aumento na concentração de clorofila *a* nos tratamentos RNC e RC, mas isto não foi observado. Apesar da maior concentração de nutrientes quando comparado aos demais, a alta turbidez, devido a elevada concentração de sólidos em suspensão, limitou a produção de clorofila.

Alguns fatores que influenciam a produtividade do fitoplâncton são acentuados em águas turvas. Em sistemas turbulentos, a energia disponível para o crescimento do

fitoplâncton é fortemente regulada pela profundidade da zona eufótica. A taxa de circulação do fitoplâncton, através de um gradiente de luz, pode aumentar a eficiência fotossintética, sendo que esse aumento na eficiência fotossintética com as flutuações de luz foi encontrado sob a luz vermelha, que normalmente tem a menor atenuação em água turva (DOKULIL, 1994). Assim, sistemas turvos muitas vezes têm um elevado potencial de eutrofização, devido à disponibilidade de nutrientes elevada, mas a sua máxima capacidade produtiva não é atingida por causa da forte limitação de luz (DOKULIL, 1994), além do decréscimo que ocorre em função da própria profundidade, como observado por Petersen et al. (1997).

Os estudos desenvolvidos por Petersen et al. (1997) mostraram que em unidades experimentais mais rasas a produtividade primária foi significativamente maior do que no sistema intermediário, que por sua vez foi significativamente mais produtivo que o sistema experimental mais profundo. Os autores ressaltam que nos ecossistemas aquáticos com alta turbidez, a absorção de luz por substâncias abióticas poderia alterar substancialmente esta relação de escala entre a produtividade e profundidade. Portanto, no presente estudo, embora os tratamentos com *runoff* tivessem potencial para o aumento na produção do fitoplâncton devido à disponibilidade de nutrientes, a limitação da luz pelos sólidos suspensos impediu esse crescimento.

Também é importante ressaltar que os tratamentos contaminados com o Vertimec® apresentaram os menores valores de clorofila *a*, contrapondo aos resultados obtidos em laboratório, uma vez que nos ensaios laboratoriais com *P. subcapitata,* exposta a água dos mesocosmos, o tratamento que apresentou o menor crescimento foi o controle, sendo que nos experimento *in situ* este mesmo tratamento apresentou os maiores valores de clorofila. Para os tratamentos RC e V também há discrepância entre os dados laboratoriais e *in situ*. No campo os menores valores de clorofila foram obtidos nesses tratamentos, enquanto que no laboratório o crescimento de *P. subcapitata,* exposta a estas amostras, foi maior que o da amostra do controle.

Assim, observando apenas os dados laboratoriais, os resultados demonstram que o tratamento controle não apresentava condições ótimas para o crescimento algáceo, e que os tratamentos tratados com *runoff* permitiam um estímulo ao crescimento. Com os dados laboratoriais também era possível concluir que a presença de agrotóxico no tratamento V e RC não inibiam o crescimento da alga. No entanto, no ensaio *in situ*, os resultados obtidos são contrários, pois o tratamento controle apresentou as maiores concentrações de clorofila *a*, seguido pelo tratamento RNC. Para os tratamentos com o Vertimec® (RC e V), registrou-se redução na concentração do pigmento, sendo esta diminuição mais acentuada no tratamento V. Portanto, há uma subestimativa dos resultados nos ensaios laboratoriais, o que reforça a importância dos estudos *in situ*. Este "falso" resultado pode ser atribuído a tolerância da espécie testada no laboratório bem como às condições manipuladas no laboratório, uma vez que em ensaios laboratoriais as algas estão sob condições de luz e temperatura controladas, sob agitação contínua, tornando os nutrientes mais disponíveis, o que é uma situação diferente daquela encontrada nos experimentos *in situ* e no ambiente.

7.4. Avaliação dos efeitos tóxicos da abamectina sobre *P. subcapitata*

As primeiras considerações sobre os aspectos ambientais dos efeitos das avermectinas foram relatadas em 1987, quando um estudo da Universidade de Bristol, Reino Unido, mostrou que quando a droga foi dada a bezerros na dose recomendada, grande parte dos insetos benéficos presentes no esterco dos animais tratados foram impactados. Posteriormente, nos Estados Unidos, em 1996, foi realizada uma avaliação dos riscos ambientais de avermectinas. A avaliação ambiental concluiu que *Daphnia magna* era a espécie mais sensível, com uma CL50;48h de 25 $ng.L^{-1}$. Em 2003, um grupo europeu também apresentou alguns resultados sobre a toxicidade de avermectina, estabelecendo a

faixa de sensibilidade para 17 diferentes espécies de crustáceos e moluscos (SANDERSON et al., 2007).

A abamectina é um agente antiparasitário usado há muitos anos na medicina veterinária, além de ser um importante ingrediente ativo de inseticidas e acaricidas usados na produção agrícola. Porém, quando aplicados nas lavouras ou em animais, os resíduos dos produtos podem atingir espécies não-alvo. Nesse sentido, estudos têm demonstrado os efeitos da exposição à abamectina sobre a reprodução, função biológica e sobrevivência de organismos não-alvo aquáticos e terrestres que têm papéis importantes na cadeia alimentar (MOORE et al., 1993).

No presente estudo, o efeito de abamectina na alga *Pseudokirchneriella subcapitata* também foi avaliado em estudos experimentais, verificando-se que com o aumento da concentração de abamectina houve redução da densidade celular de *P. subcapitata*, obtendo-se uma CI50;96 de 15,5 $mg.L^{-1}$.

No entanto, esta concentração de inibição está acima da faixa descrita na literatura. Para Tišler e Eržen (2006) a CE50;72h para *Scenedesmus subspicatus* foi de 4,4 $mg.L^{-1}$ de abamectina. Ma et al. (2002) relataram CE50,96h de 9,89 $mg.L^{-1}$ e 7,31 $mg.L^{-1}$ para *Scenedesmus obliqnus* e *Chlorella pyrenoidosa*, respectivamente. Para Garric et al. (2007) a CE50;72h para *Pseudokirchneriella subcapitata* exposta a invermectina foi maior que 4000 $\mu g.L^{-1}$, sendo a CEO de 1250 $\mu g.L^{-1}$ e o CENO de 391 $\mu g.L^{-1}$, com base nas concentrações nominais. Halley et al. (1989), em ensaios com *Chlorella pyrenoidosa,* observaram que o peso seco das culturas expostas a 9,1 $mg.L^{-1}$ de ivermectina por 14 dias foram significativamente inferiores ao tratamento controle.

Diferentes valores de toxicidade a produtos químicos são reportados dependendo da espécie utilizada, havendo assim diferenças na sensibilidade entre grupos taxonômicos e espécies testadas. Ma et al. (2002) examinaram a relação de duas espécies de algas para 12 pesticidas diferentes e observaram que as espécies de algas variam muito em sua resposta aos

pesticidas, sendo que a sensibilidade diferia cerca de duas ordens de grandeza. Também foi observado que a mesma espécie não era sempre a mais sensível. O mesmo foi avaliado por Rojičková-Padrtová e Maršlek (1999) para sete espécies de algas expostas a 3 compostos metálicos e 3 herbicidas, verificando-se que a variabilidade na sensibilidade diferiu em até 5 ordens de magnitude. Para alguns autores, a alta variabilidade na sensibilidade de diferentes espécies de algas para a mesma substância química se deve as diferenças na morfologia, citologia, fisiologia e genética dos organismos (ROJIČKOVÁ-PADRTOVÁ e MARŠLEK, 1999; RODGHER, 2005).

As algas têm se mostrado menos sensíveis a abamectina quando comparada a organismos de outros níveis tróficos. Em estudo realizado por Garric et al. (2007), a alga *P. subcapitata* foi muito menos sensíveis a invermectina, com efeitos sobre o crescimento detectado apenas em concentração superior a 1250 $\mu g.L^{-1}$, quando comparado a toxicidade do químico para o cladócero *D. magna*, cujos efeitos de exposição prolongada sobre a sobrevivência, reprodução e crescimento ocorreram em concentrações de 0,001 $ng.L^{-1}$. Em exposição de curta duração, a CE50 para *D. magna* foi de 5,7 $ng.L^{-1}$.

Da mesma forma, Tišler e Eržen (2006), ao testar abamectina, observaram que *D. magna* e *Danio rerio* foram muito mais sensíveis do que a alga *Scenedesmus obliqus*, com uma CL50;48 h para *D. magna* de 0,25 $\mu g.L^{-1}$ e CE50;96h para *D. rerio* de 49,3 $\mu g.L^{-1}$, enquanto para a alga a CE50;72h foi de 4,4 $mg.L^{-1}$. Para os autores uma possível razão para a toxicidade elevada de abamectina aos dafinídeos se deve a captação de abamectina via algas durante o processo de filtração alimentar.

Outro fator que pode estar associado à baixa toxicidade de abamectina as algas, e que deve ser levado em conta, é a adsorção do químico ao vidro do recipiente-teste, como já reportado por Tišler e Eržen (2006).

Deve-se considerar também a fotodegradação da abamectina, já que as algas foram intensamente iluminadas durante os ensaios. Halley et al. (1993) reporta que a meia-vida do

químico na água é de 0,5 dia. Em outro estudo Halley et al. (1989) estimam que a meia-vida da abamectina no solo é de apenas 3 horas. Em contrapartida, Tišler e Eržen (2006) não consideram que a fotodegradação desempenha um importante papel na eliminação de abamectina, já que nos seus ensaios as concentrações de abamectina no final do experimento foram essencialmente as mesmas dos ensaios com *Daphnia magna*, que não foram iluminados, sendo a diminuição da concentração de abamectina entre 23 e 33%.

No presente estudo, a anáise cromatográfica realizada no final do ensaio com *P. subcapitata* (após 96h), demonstrou que mais de 98% da concentração inicial de abamectina foi degradada, portanto a fotodegradação pode sim estar associada à baixa toxicidade de abamectina em ensaios laboratoriais quando comparado a outros organismos-teste.

Além disso, por se tratar de um inseticida acaricida de ação neurotóxica, os valores de toxicidade sempre serão menores para as algas quando comparados a espécies animais, uma vez que a ação tóxica do produto ocorre devido à ligação do químico aos receptores do neurônio pós-sináptico (neurônio posterior), estimulando uma maior liberação do neurotransmissor ácido gama-aminobutírico (GABA) no neurônio pré-sináptico (neurônio anterior). Esta ligação do GABA nos receptores pós-sinápticos hiperpolariza o potencial de repouso normal das células pós-sinápticas, tornando mais difícil a neurotransmissão dos estímulos e, conseqüentemente, a contração muscular, o que resulta na paralisia e morte dos organismos (CAMPBELL, 1989).

A abamectina pode também ligar-se ao glutamato nos canais de cloro, levando ao aumento da permeabilidade aos íons cloreto, hiperpolarização, paralisia e, finalmente, a morte (CAMPBELL, 1989). Portanto, é esperada uma menor toxicidade de abamectina às algas, já que as mesmas não apresentam sistema nervoso. Ainda assim, apesar das algas serem mais tolerantes a abamectina, diversos estudos têm demonstrado a toxicidade deste composto para diferentes organismos.

Nos estudos desenvolvidos por Jensen et al. (2007), a abamectina causou toxicidade significativa sobre o crescimento de minhocas *Eisenia fetida* , com concentrações crescentes até 5 mg.Kg, sendo que parâmetro mais sensível foi a reprodução (produção de casulos e eclosão), uma vez que o número de casulos foi reduzido em concentrações acima de 0,25 mg.Kg. Para os organismos terrestres *Folsomia candida*, *Enchytraeus crypticus*, *Porcellio scaber* e *Eisenia andrei*, expostos a solo tratado com abamectina, a CL50 foi de 67 $mg.kg^{-1}$, 111 $mg.kg^{-1}$, 69 $mg.kg^{-1}$ e 18 $mg.kg^{-1}$, respectivamente (KOLAR et al., 2008). Neste mesmo estudo a abamectina apresentou maior toxicidade do que doramectina (composto da família das avermectinas) para os organismos testados. Davies (1998), em ensaios com os organismos bentônicos marinhos *Corophium volutator* e *Asterias rubens*, expostos por 10 dias a invermectina, obteve valores da CL50 de 0,18 $mg.kg^{-1}$e 23,6 $mg.kg^{-1}$, respectivamente, para os organismos testados.

Alguns estudos também demonstram a toxicidade das avermectinas, quando após aplicação do químico em bovinos e ovinos permanecem resíduos do composto nas fezes dos animais. Experimentos realizados por Chiu et al. (1990) evidenciaram que 60 a 80% da dose de invermectina aplicada em bovinos e ovinos é eliminado nas fezes, independentemente da via de administração. Strong (1993) observou toxicidade aguda em larvas e adultos de insetos quem vivem em esterco, com o rompimento da metamorfose e interferência na reprodução.

Os riscos decorrentes de avermectinas a organismos não-alvo dependem da sua degradação no meio ambiente. Dados sobre a degradação das avermectinas nas fezes e no solo mostram uma maior persistência do composto em ambientes terrestres. Na água, as avermectinas são rapidamente fotodegradadas, sendo que a meia-vida de degradação no verão é de 0,5 dias ou menos para ivermectina e de 4 a 6 h para abamectina (ERŽEN et al., 2005).

A persistência dos resíduos de avermectinas no ambiente, bem como seus impactos ambientais, depende dos processos de degradação física (luz solar, temperatura, precipitação e perturbação mecânica) e da quantidade dos resíduos liberados no ambiente (ERŽEN et al.,

2005). No entanto, as informações quanto a toxicidade e a persistência de abamectina no ambiente ainda são controversas, demonstrando a necessidade de maiores estudos sobre a taxa de degradação e a distribuição de avermectinas no ambiente. Quanto à toxicidade, fica evidente, através dos resultados deste estudo, que a abamectina representa um risco a estrutura e funcionamento dos ecossistemas aquáticos.

8. CONCLUSÕES

- Nos ensaios ecotoxicológicos realizados em laboratório com o *runoff*, a concentração de abamectina presente na água não causou toxicidade a alga *Pseudokirchneriella subcapitata*, sendo que a inibição do crescimento algáceo foi causada mais pela turbidez do *runoff*.

- Nos ensaios ecotoxicológicos com a água dos mesocosmos verificou-se um estímulo ao crescimento de *Pseudokirchneriella subcapitata* nos tratamentos que receberam o *runoff*, indicando o efeito do aporte de nutrientes ao meio de cultura. No tratamento que recebeu o Vertimec® diretamente na água ocorreu um crescimento menor do organismo-teste, porém ainda superior ao tratamento Controle, o que foi contrário ao observado para a comunidade fitoplanctônica.

- No experimento *in situ* verificou-se alterações mais acentuadas nas características físicas e químicas da água (pH, oxigênio dissolvido, turbidez, condutividade e nutrientes) nos tratamentos que receberam o *runoff*, contaminado ou não, com implicações diretas e indiretas para a comunidade fitoplanctônica.

- Alterações na densidade e composição da comunidade fitoplânctonica foram verificadas em todos os tratamentos, com maior evidência na redução da abundância de Bacillariophyta e no aumento de Chlorophyceae. Além disso, a produção de clorofila *a* pelos organismos fitoplanctônicos foi reduzida nos tratamentos que receberam o *runoff* e o Vertimec® diretamente na água, sendo mais evidentes naquele tratamento com adição direta do contaminante.

- A alga verde *Monoraphidium minutum* foi a espécie com maior contribuição na abundância total do fitoplâncton durante o período experimental, com participação mais expressiva no tratamento que recebeu o agrotóxico diretamente na água, indicando o favorecimento da espécie (competição por recursos, maior taxa de crescimento e menor pressão de *grazing*) em relação às demais.

- Nos ensaios laboratoriais com a alga *Pseudokirchneriella subcapitata,* uma concentração maior de abamectina foi necessária para causar toxicidade à alga, quando comparada à concentração utilizada nos ensaios em mesocosmos, demonstrando que a toxicidade do Vertimec® não é causada apenas pelo princípio ativo do produto, mas também pelos outros componentes presentes na formulação.

- As diferenças observadas nos resultados obtidos entre os testes de laboratório e o experimento *in situ* indicam a necessidade da avaliação da toxicidade em condições mais próximas ao ambiente natural, demonstrando que os estudos em mesocosmos são ferramentas importantes para o reconhecimento da toxicidade de produtos químicos e de seus efeitos aos organismos aquáticos.

9. [1]REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AMERICAN PUBLIC HEALTH ASSOCIATION (APHA). **Standard Methods for Examination Water and Wastewater**. 19th ed. Washington: DC, 1995. 1368p.

ARMAS, E.D. et al. Diagnóstico espaço-temporal da ocorrência de herbicidas nas águas superficiais e sedimentos do Rio Corumbataí e principais afluentes. **Química Nova**, v. 30, n. 5, p. 1119-1127, 2007.

ASSELBORN, V.M.; DOMITROVIC, Y.Z.P.E. Efectos del insecticida organosfosforado clorpirifos sobre el crecimiento y morfología de *Selenastrum capricornutum* Printz (Chlrophyta). 2002(a). In: ESPÍNDOLA, E.L.G et al. **Ecotoxicologia. Perperctivas para o Século XXI**. São Carlos: RiMa, 2002. p. 281-292.

___. Aplicación de bioensayos uniespecificos para evaluar los efectos de um efluente textil y la calidad del agua de una laguna receptora (Corrientes, Argentina). 2002(b). In: ESPÍNDOLA, E.L.G et al. **Ecotoxicologia. Perperctivas para o Século XXI**. São Carlos: RiMa, 2002(b). p. 353-364.

ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS **NBR 6023**: Informação e documentação: referências: elaboração. Rio de Janeiro, 2002. 24 p.

___. **NBR 12468**: Ecotoxicologia aquática - toxicidade crônica - método de ensaio com algas (Chlorophyceae). Rio de Janeiro, 2005. 24p.

BANSE, K. Experimental marine ecosystems in histoncal perspective. In: Grice, G.D.; REEVE, M.R. **Marine mesocosms**. New York: Springer Verlag, 1982. p. 10-24.

BARTLETT, L.; RABE, R.W.; FUNK, W.H. Effects of copper, zinc and cadmium on *Selenastrum capricornutum*. **Water Research**, v. 8, p. 179-185, 1974.

BEJARANO, A.C. et al. Atrazine effects on meiobenthic assemblages of a modular estuarine mesocosm. **Marine Pollution Bulletin**, v. 50, p. 1398–1404, 2005.

BICUDO, C.E.M; BICUDO, R.M.T. **Algas de águas continentais Brasileiras**. São Paulo: Editora Universidade de São Paulo, 1970. 228p.

[1] De acordo com a Associação Brasileira de Normas Técnicas. NBR 6023.

BICUDO, C.E.M. et al. Dinâmica de populações fitoplanctônicas em ambiente eutrofizado: o Lago das Garças, São Paulo. In: HENRY, R. **Ecologia de reservatórios: estrutura, função e aspectos sociais**. Botucatu: FUNDIBIO FAPESP, 1999. p 449-508.

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

BOTTREL, H.H. et al. A review of some problems in zooplankton production studies. **Norwegian Journal of Zoology**, v. 24, p. 419-456, 1976.

BOYLE, T.P.; FAIRCHILD, J.F. The role of mesocosm studies in ecological risk analysis. **Ecological Applications**, v. 7, n. 4, p. 1099–1102, 1997.

BRASIL. Lei nº 7.802, de 11 de julho de 1989. Dispõe sobre a pesquisa, a experimentação, a produção, a embalagem e rotulagem, o transporte, o armazenamento, a comercialização, a propaganda comercial, a utilização, a importação, a exportação, o destino final dos resíduos e embalagens, o registro, a classificação, o controle, a inspeção e a fiscalização de agrotóxicos. Disponível em: < http://www.brad.ac.uk/acad/sbtwc/btwc/nat_imp/leg_reg/brazil/Lei_7802.pdf>. Acesso em: 10 mai. 2008.

BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução n. 4704, de 21 de fevereiro de 2002. Disponível em: <http://www.anvisa.org.br>. Acesso em: 08 mai. 2008.

BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução n. 470, de 21 de fevereiro de 2008. **Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil**, Poder Executivo, Brasília, DF, 25 fev. 2008. p. 1. Disponível em: <http://www.anvisa.org.br>. Acesso em: 15 out. 2009.

BROCK, T.C.M. et al. Aquatic risks of pesticides, ecological protection goals, and common aims in European Union legislation. **Integrated Environmental Assessment and Management**, v. 2, n. 4, p. 20-46, 2006.

BURATINI, S.V.; BRANDELLI, A. Bioacumulação. In: ZAGATTO, P.A.; BERTOLETTI, E. **Ecotoxicologia aquática**. São Carlos: Rima, 2006. p. 55-87.

BURG, R.W. et al. Avermectins, new family of potent anthelmintic agents: producing organism and fermentation. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**, v. 15, n. 3, p. 361-367, 1979.

CÁCERES, T.; MEGHARAJ, M.; NAIDU, R. Toxicity and transformation of fenamiphos and its metabolites by two micro algae *Pseudokirchneriella subcapitata* and *Chlorococcum* sp. **Science of the total Environment**, v. 398, p. 53-59, 2008.

CAIRNS, J.J. NIEDERLEHNER, B.R. **Ecological toxicity testing**. London: Lewis Publishers, 1995. 228p.

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

CALIJURI, M.C.; DEBERT, G.L.B.; MINOTI, R.T. A produtividade primária pelo fitoplâncton na Represa de Salto Grande. In: HENRY, R. **Ecologia de reservatórios: estrutura, função e aspectos sociais**. Botucatu: FUNDIBIO FAPESP, 1999. P 109-148.

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

CAMPBELL, W. **Ivermectin and Abamectin**. New York: Springer Verlag, 1989. 363p.

CARNEIRO, L.S.; ATTAYDE, J.L.; BOZELLI, R.L. Experimentos em mesocosmos: o caminho do meio. **Boletim da Sociedade Brasileira de Limnologia**, v. 34, p. 4-6, 2005.

CARRILLO, P.; MEDINA-SANCHEZ, J.M.; VILLAR-ARGAIZ, M. Neither with nor without you: a complex algal control on bacterioplankton in a high mountain lake. **Limnology and Oceanography**, v. 49, n. 5, p. 1722-1733, 2004.

CAQUET, T. et al. Outdoor experimental ponds (mesocosms) designed for long-term ecotoxicological studies in aquatic environment. **Ecotoxicology Environmental Safety**, v. 34, p. 125-133, 1996.

CAQUET, T.; LAGADIC, L.; SHEFFIELD, S.T. Mesocosm in ecotoxicology (1): outdoor aquatic systems. **Environmental Contamination and Toxicology**, v. 165, p. 1-38, 2000.

CHANDLER, D.C. Limnological studies of western Lake Erie. II Light penetration and its relation to turbidity. **Ecology**, v. 23, n. 1, p. 41-52, 1942.

CHIU S.H.L. et al. Absorption, tissue distribution, and excretion of tritium-labeled ivermectin in cattle, sheep, and rat. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 38, p. 2072-2078, 1990.

COMAS, A. **Las Chlorococcales dulceacuícolas de Cuba**. Bibl. Phycol, 1996. 228p.

COSTA, C.R. et al. A toxicidade em ambientes aquáticos: discussão e métodos de avaliação. **Química Nova**, v. 31, n. 7, p. 1820-1830, 2008.

DAVIES-COLLEY, R.J. et al. Effects of clay discharges on streams. **Hydrobiologia**, v. 248, p. 215-234, 1992.

DAVIES, I.M. et al. Environmental risk of ivermectin to sediment dwelling organisms. **Aquaculture**, v. 163, p. 29-46. 1998.

DELLAMATRICE, P.M.; MONTEIRO, R.T.R.. Toxicidade de resíduos têxteis tratados por microorganismos. **Journal of the Brazilian Society of Ecotoxicology**, v. 1, n. 1, p. 63-66, 2006.

DENOYELLES, F.; DEAN KETTLE, W.; SINN, D.E. The responses of plankton communities in experimental ponds to atrazine, the most heavily used pesticide in the United States. **Ecology**, v. 63, n. 5, p. 1285-1293, 1982.

DOKULIL, M.T. Environmental control of phytoplankton productivity in turbulent turbid systems. **Hydrobilogia**, v. 289, p. 65-72, 1994.

DORES, E.F.G.C.; DE-LAMONICA-FREIRE, E.M. Contaminação do Ambiente Aquático por Pesticida: Vias de Contaminação e Dinâmica dos Pesticidas no Ambiente Aquático. **Pesticidas: Ecotoxicologia e Meio Ambiente**, v. 9, p. 1-18, 1999.

DORNFELD, C.B. et al. Comparação de bioensaios laboratoriais e *in situ* utilizando *Chironomus xanthus* na avaliação da toxicidade de sedimentos do rio Monjolinho (São Carlos, SP). **Journal Of The Brazilian Society Of Ecotoxicology**, v. 1, p. 161-166, 2006.

EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA (EMBRAPA). **Normas gerais para o uso de agrotóxicos**. ISSN 1678-8796, de janeiro de 2003. Disponível em: <http://sistemasdeproducao.cnptia.embrapa.br/FontesHTML/Banana/BananaPara/agrotoxicos.htm>. Acesso em: 05 out. 2008.

ERŽER, N.K. et al. Degradation of Abamectin and Doramectin on Sheep Grazed Pasture. **Ecotoxicology**, vol. 14, p. 627–635, 2005.

ESPÍNDOLA, E.L.G et al. **Ecotoxicologia. Perperctivas para o Século XXI**. São Carlos: RiMa, 2000. 575p.

ESPÍNDOLA, E.L.G.; BRIGANTE, J. **Projeto Mogi-Guaçu: desenvolvendo ações socioambientais**. São Carlos: RiMa, 2009. 382p.

ETTL, H. Chlorophyta, 1: Phytomonadina. In: ETTL, H.; GERLOFF, J.; HEYNIG, H.; MOLLENHAUER, **D. Süsswasserflora von Mitteleuropa**. v. 9. Stuttgart: Gustav Fischer. 1983. 807p.

___. Die Gattung *Chlamydomonas*. Nova Hedwigia. 1976. 1122p.

FISHER, M.H.; MROZIK, H. Chemistry. In: CAMPBELL, W. **Ivermectin and Abamectin**. New York: Springer Verlag, 1989, p. 1-23.

FLIEDNER, A.et al. Effects of the organotin pesticide azocyclotin in aquatic microcosms. **Chemosphere**, v. 35, n. l/2, p. 209-222, 1997.

FONSECA, A.L. **Avaliação da qualidade da água do rio Piracicaba/SP através de testes de toxicidade com invertebrados**. 1997. 211p. Tese (Doutorado) - Escola de Engenharia de São Carlos, Universidade de São Paulo, São Carlos, 1997.

FRACÁCIO, R. et al. *In situ* and laboratory evaluation of toxicity with *Danio rerio* Buchanan (1822) and *Poecilia reticulate* Peters (1859). **Acta Limnologica Brasiliensia**, v. 21, p. 111-122, 2009.

GARNIER, J. Organic matter dynamics and budgets in the turbidity maximum zone of the Seine Estuary (France). Estuarine, Coastal and Shelf Science, v. 77, p. 150-162, 2008.

GARRIC, J. et al. Effects of the parasiticide ivermectin on the cladoceran *Daphnia magna* and the green alga *Pseudokirchneriella subcapitata*. **Chemosphere**, vol. 69, p. 903–910, 2007.

GAVRILESCU, M. Fate of pesticides in the environment and its bioremediation. **Engineering in Life Sciences**, v. 5, n. 6, p. 497-526, 2005.

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, 1978. 213p.

GRADVOHL, S.T.S. **Avaliação dos riscos ambientais e ecotoxicológicos do reuso de águas residuárias em piscicultura**. 2006. 164p. Dissertação (Mestrado) - Departamento de Engenharia Hidráulica e Ambiental, Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, 2006.

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. Washington: Taylor & Francis, 1995. p 257-305.

GREENE, J.C. et al. Use of *Selenastrum capricornutum* to asses the toxicity potential of surface and ground water contamination caused by chromium waste. **Environmental Toxicology and Chemistry**, v. 7, p. 35-39, 1988.

GRÜNWALD, H.M. Effects of a pesticide mixture on plankton in freshwater mesocosms – from single substance studies to combination impacts. 2003. 231p. Tese (Doutorado) - Wissenschaftszentrum Weihenstephan für Ernährung, Fachgebiet Ökotoxikologie, 2003. 231p.

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

HALLEY, B.A.; JACOB, T.A.; LU, A.Y.H. The environmental impact of the use of ivermectin: environmental effects and fate. **Chemosphere**, p. 18, n. 7-8, p. 1543-1563. 1989.

HALLEY, B.A.; VANDENHEUVEL, W.J.A.; WISLOCKI, P.G. Environmental effects of the usage of avermectins in livestock. **Veterinary Parasitology**, v. 48, p. 109-125, 1993.

HANAZATO, T.; KASAI, F. Effects of the organophosphorus insecticide fenthion on phyto- and zooplankton communities in experimental ponds. **Environmental Pollution**, v. 88, p. 293-298, 1995.

HANAZATO, T.; YASUNO, M. Influence of time of application of an insecticide on recovery patterns of a zooplankton community in experimental ponds. **Archives of Environmental Contamination and Toxicology**, v. 19, p. 77–83, 1990.

HELLAWELL, J.M. **Biological indicators of freshwater pollution and environmental management**. London: Elsevier, 1986. 509 p.

HICKEY, C.W.; BLAISE, C.; COSTAN, G. Microtesting appraisal of ATP and cell recovery toxicity end points after acute exposure of *Selenastrum capricornutum* to selected chemicals. **Environmental Toxicology and Water Quality**, v. 1, p. 383-403, 1991.

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

JAK, R. G.; MAAS, J. L. SCHOLTEN, M. C. T. Evaluation of laboratory derived toxic effect concentrations of a mixture of metals by testing fresh water pankton commnuties in inclusores. **Water Research**, v. 30, n. 5, p. 1215-1227, 1996.

JENSEN, J.; DIAO, X.; SCOTT-FORDSMAND, J.J. Sub-lethal toxicity of the antiparasitic abamectin on earthworms and the application of neutral red retention time as a biomarker. **Chemosphere**, v. 68, p. 744–750, 2007.

KLAINE. S.J.; LEWIS, M.A.; KNUTESON, S.L. Phytotoxicity. In: HOFFMAN, D.J. et al. **Handbook of ecotoxicology**. 2 ed. Boca Raton: New York, 2003. cap. 8.

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

KOMÁREK, J.; ANAGNOSTIDIS, K. Cyanoprokaryota, 1: Chroococcales. In: Ettl, H. et al. **Süsswasserflora von Mitteleuropa**. Stuttgart: Gustav Fischer. 1999. 545p.

___. Cyanoprokaryota, 2: Oscillatoriales. In: Bündel, B. et al. **Süsswasserflora von Mitteleuropa**. München: Elsevier. 2005. 758p.

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. 1983. 1044 p.

KOROLEFF, F. Determination of nutrients. IN: GRASSOHOF, K. **Methods of seawater analysis**. Weinhein: Verlag. Chemie., 1976. 117-181p.

LEIBOLD, M.A. Resource edibility and the effects of predators and productivity on the outcome of trophic interections. The American Naturalist, v. 134, n. 6, p. 922-949, 1989.

LEWIS, M.A. Are laboratory-derived toxicity data for fresh-water algae worth effort? **Environmental Toxicology and Chemistry**, v. 9, p. 1279-1284, 1990.

___. Algae and vascular plant tests. In: RAND, G.M. **Fundamentals of aquatic toxicology**. Effects, environmental fate and risk assessment. Washington: Taylor & Francis, 1995. p. 135-169.

LIND, O.T et al. Clay turbidity: regulation of phytoplankton production in a large, nutrient-rich tropical lake. **Limnology and Oceanography**: v. 37, n. 3, p. 549-565, 1992.

LLOYD, D. S.; KOENINGS, J.P.; LAPERRIERE, J.D. Effects of turbidity in freshwaters of Alaska. **North American J. Fisheries Management**, v. 7, p.18-33, 1987.

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.

LUCINDA, I. **Estudo de comunidades planctônicas (bacterioplâncton, nanoflagelados, fitoplâncton e zooplâncton) em um pequeno reservatório tropical – experimentos com mesocosmos**. 2007. 249p. Tese (Doutorado) – Centro de Ciências Biológicas e da Saúde, Universidade Federal de São Carlos, São Carlos, 2007.

MA, J. et al. Differential sensitivity of two green algae, *Scenedesmus obliqnus* and *Chlorella pyrenoidosa*, to12 pesticides. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 52, p. 57–61, 2002.

MACKERETH, S.J.H., HERON, J., TALLING, J.S. **Water analysis some revised methodsfor limnology**. Kendal, Cumbria. Fresh. Biological Assoc., (Scientific Publication; 36), 1978. 117p.

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

MARGALEF, R. **Limnologia**. Barcelona: Editora Omega, 1983. 1010 p.

MARZOLF, G. R.; ARRUDA, J.A. Roles of materials exported by rivers into reservoirs in the nutrition of cladoceran zooplankton. In: **Restoration of Lakes and Inland Waters, Proceedings of an International Symposium on Inland Waters and Lake Restoration**, Portland, Maine, 1980. p. 53-55.

MASUTTI, M. B. **Distribuição e efeitos de cromo e cobre em ecossistemas aquáticos : uma análise laboratorial e "*in situ*" (experimentos em micro e mesocosmos)**. 2004. 390p. Tese (Doutorado) - Escola de Engenharia de São Carlos, Universidade de São Paulo, São Carlos, 2004. 390p.

McCUBBIN, R.N.; et al. Environmental effects of sediments on aquatic habitats and suggested mitigation. In: Appendix IV. **Resource Road Construction**: Fish Habitat Protection Guidelines, Canadian Forest Service and Department of Fisheries and Oceans, St. John's, Newfoundland. 1990.

MELÃO, M.G.G.; ROCHA, O.; ROCHE, K.F. Produtividade, biomassa, flutuações populacionais e interações biológicas da comunidade planctônica e suas implicações na

transferência de energia na cadeia alimentar de um reservatório raso e oligotrófico. In: ROCHE, K.F.; ROCHA, O. **Ecologia trófica de peixes**. São Carlos: Rima, 2005. p. 93-106.

MELETTI, P.C. **Avaliação da degradação ambiental por meio de testes de toxicidade com sedimento e de análises histopatológicas em peixes**. 2003. 209p. Tese (Doutorado) - Escola de Engenharia de São Carlos, Universidade de São Paulo, São Carlos, 2003. 209 p.

MEYER, B.S.; HERITAGE, A.C. Effect of turbidity and depth on immersion on apparent photosynthesis in *Ceratophyllum demersum*. **Ecology**, v. 22, n. 1, p. 17-22, 1941.

MOORE, J.C.; DERUITER, P.C.; HUNT, H.W. Soil invertebrate/micro-invertebrate interactions: disproportionate effects of species on food web structure and function. **Veterinary Parasitology**, v. 48, p. 247–60, 1993.

MOREIRA-SANTOS, M. et al. In situ and laboratory microalgal assays in the tropics: a microcosm simulation of edge-of-field pesticide runoff. **Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology**, v. 74, p. 48-55, 2005.

NISHIKAWA, K. et al. Ultrastructural changes in Chlamydomonas acidophila (Chlorophyta) induced by heavy metals and polyphosphate metabolism. **FEMS Microbiology Ecology**, v. 44, p. 253-259, 2003.

NORBERG-KING, T.J. **A linear interpolation method for sublethal toxicity: the inhibition concentration (ICp) approach**. Version 2.0 U.S. Duluth: Environmental Protection Agency. 1993. 42 p.

NOVELLI, A. **Distribuição e efeitos de Vertimec® versus abamectina em ecossistemas aquáticos: uma análise laboratorial e "*in situ*" (experimentos em mesocosmos)**. Tese de Doutorado, CRHEA/EESC/USP, São Carlos. (em preparação).

NUSCH, E.A. Comparison of different methods for chlorophyll and phaeopigments determination. **Archiv für Hydrobiologie**, v. 14, p.14-36, 1980.

ODUM, E. P. **Ecologia** . Rio de Janeiro: Editora Guanabara Koogan, 1983. 434p.

___. The mesocosm. **BioScience**, v. 34, n. 9, p. 558-562, 1984.

___. Populações em comunidades. In: ODUM, E.P. **Ecologia**. São Paulo: Guanabara, 1988. p. 258-272.

OLIVEIRA-NETO, A.L. **Toxicidade de alguns metais pesados (Cd, Cr,Pb) em organismos planctônicos lacustres de região tropical**. 2000. 91p. Tese (Doutorado) – Escola de Engenharia de São Carlos, Universidade de São Paulo, São Carlos, 2000. 91p.

ORGANIZAÇÃO PAN-AMERICANA DA SAÚDE (OPAS). OPAS/BRAHEP/002/97. **Manual de vigilância da saúde de populações expostas a agrotóxicos**. Brasília. 1997. 69p.

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

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

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

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

PARSHIKOVA, T.V. et al.. Assessment of different species of the genus *Chlamydomonas* cells resistance to potassium dichromate presence in the medium. **Hydrobiological Journal**, v. 45, n. 2, p. 57-68, 2009.

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

PEÑA-CASTRO, J.M. et al. Phenotypic plasticity in *Scenedesmus incrassatulus* (Chlorophyceae) in response to heavy metals stress. **Chemosphere**, v. 57, n. 4, p. 1629–1636, 2004.

PÉREZ, G.L. et al. Effects of the herbicide roundup on freshwater microbial communities: a mesocosm study. **Ecological Applications**, v. 17, n. 8, p. 2310–2322, 2007.

PETERSEN, J.E.; CHEN, C.C.; KEMP, W.M. Scaling aquatic primary productivity: experiments under nutrient- and light-limited conditions. **Ecology**, v. 78, n. 8, p. 2326–2338. 1997.

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

PFLEEGER, T. et al. A short-term bioassay for whole plant toxicity. In: GORSUCH, J.W. et al. **Plants for toxicity assessment**. 2 ed. Philadelphia: American society for testing and materials, 1991. p. 355-364.

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

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

REYNOLDS, C.S. The long, the short and the stalled: on the attributes of phytoplankton selected by physical mixing in lakes and river. **Hydrlobiologia**, v. 289, p. 9-21, 1994.

___. What factors influence the species composition of phytoplankton in lakes of different trophic status? **Hydrobiologia**, n. 369/370, p. 11–26, 1998.

RIEDER, A. **Aspectos da interação do homem com pesticidas no ambiente: focando a cotonicultura e com ênfase às bordas do Alto Pantanal, Mato Grosso, Brasil**. 2005. 204p. Tese (Doutorado) – Centro de Ciências Exatas e Tecnologia, Universidade Federal de São Carlos, São Carlos, 2005.

ROCHA, O. A poluição química e a biodiversidade. In: VI encontro de ecotoxicologia. "Ecotoxicologia e desenvolvimento sustentável: perspectiva para o século XXI", 2000, São Carlos. **Anais**. São Carlos:USP, 2000. p. 25.

ROCHA, O.; DUNCAN, A. The relationship between cell carbon and cell volume in fushwater algal species used in zooplantonic studies. **Journal of Plankton Research**, v. 7, p. 279-294, 1985.

ROCHE, K.F. et al. Impacto f *Holoshestes heterodon* Eigenmann (Pisces: Characidae) on the plankton communuty of a subtropical reservoir: the importance of predation by *Chaoborus* larvae. **Hydrobiologia**, v. 254. p. 7-20, 1993.

ROCHE, K.F.; ROCHA, O.; ESPÍNDOLA, E.L.G. Impacto do Acará, *Geophagus brasiliensis* (Cichlidae), no plâncton da Represa do Broa: um experimento usando mesocosmos. In: ROCHE, K.F.; ROCHA, O. **Ecologia trófica de peixes**. São Carlos: Rima, 2005. p. 93-106.

RODGHER, S. **Avaliação dos efeitos ecotoxicológicos dos metais cádmio e cromo em organismos planctônicos**. 2005. 251p. Tese (Doutorado) - Escola de Engenharia de São Carlos, Universidade de São Paulo, São Carlos, 2005.

RODRIGUES, L.H.R. et al. Avaliação da sensibilidade de *Raphidocelis subcapitata* (Chlorococcales, Chlorophyta) ao sulfato de cobre e sulfato de zinco através de ensaios de toxicidade crônica. **Biociências**, v. 11, n. 2, p. 137-144, 2003.

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

ROST, T.L. **Botany: a brief introduction to plant biology**. New York: J. Wiley, 1984.

ROUND, F.E. The epipsammon, a relatively unknown freshwater algal association. **Europen Journal of Phycology**, v. 2, n. 6, p. 456-462, 1965a.

___. The biology of the algae. London: Edward Arnold. 1965b. 269p.

___. The taxonomy oh the Chlorophyta, 2. **European Journal of Phycology**, v. 6, n. 2, p. 235-264, 1971.

SABATER, C.; CARRASCO, J.M. Effects of pyridaphenthion on growth of five freshwater species of phytoplankton. A laboratoru study. **Chemosphere**, v. 44, p. 1775-1781, 2001.

SANCHES, S.M. et al. Pesticidas e seus respectivos riscos associados à contaminação da água. **Pesticidas: Ecotoxicolia e Meio Ambiente**, v. 13, p. 53-58, 2003.

SANDERSON, S. et al. Assessment of the environmental fate and effects of ivermectin in aquatic mesocosms. **Aquatic Toxicology**, v. 85, p. 229–240, 2007.

SANT'ANNA, C.L.; GENTIL, R.C.; SILVA, D. Comunidade Fitoplânctonica de pesqueiros da região metropolitana de São Paulo. In: ESTEVES, K.E.; SANT'ANNA, C.L. **Pesqueiros sob uma visão integrada de meio ambiente, saúde publica e manejo**. São Carlos: RiMa, 2006. p. 37-48.

SANTOS, M.A.P.F.; VICENSOTTI. J.; MONTEIRO; R.T.R. Sensitivity of four test organisms (*Chironomus xanthus*, *Daphnia magna*, *Hydra attenuata* and *Pseudokirchneriella subcapitata*) to NaCl: an alternative reference toxicant. **Journal of the Brazilian Society of Ecotoxicology**, v. 2, n. 3, p. 229-236, 2007.

SANTOS, R.L. O uso de praguicidas nas atividades aqüícolas: destino e efeitos após aplicações em tanques experimentais e avaliação nas psciculturas e pesqueiros da bacia do Rio Mogi-Guaçu. 2007. 141p. Tese (Doutorado) - Escola de Engenharia de São Carlos, Universidade de São Paulo, São Carlos, 2007. 141p.

SÃO PAULO. Projeto de lei nº 743, de 28 de agosto de 2009. Dispõe sobre a proibição do uso, no Estado de São Paulo, de agrotóxicos que contenham os princípios ativos que especifica. Disponível em <http://www.al.sp.gov.br/portal/site/Internet/ListaProjetos?vgnextoid=b45fa965ad37d110VgnVCM100000600014acRCRD&tipo=1>. Acesso em: 7 set. 2009.

SICKO-GOAD, L; STOERMER, E. F. Effects of toxicants on phytoplankton with special reference to the Laurentian Great Lakes. In: EVANS, M.S. (Ed.). Toxic contaminants and ecosystem health. A great lakes focus. **Advances in Environmental Science and Technology**, v. 21, p. 1-19, 1988.

SILVA, J.M.; SANTOS, J.R. Toxicologia de agrotóxicos em ambientes aquáticos. **Oecologia Brasiliensis**, v. 11, n. 4, p. 565-573, 2007.

SINDICATO NACIONAL DA INDÚSTRIA DE PRODUTOS PARA DEFESA AGRÍCOLA (SINDAG). Disponível em: <http://www.sindag.com.br>. Acesso em: 03 dez. 2009.

SISTEMA DE INFORMAÇÕES SOBRE AGROTÓXICOS (SIA). Disponível em: <http://www4.anvisa.gov.br>. Acesso em: 2 nov. 2009.

SPRAGUE, J.B. Factors that modify toxicity. In: RAND, G.M; PETROCELLI, S.R. **Fundamentals of aquatic toxicology**: methods and applications. New York: Hemisphere, 1985. p.124-163.

STAUBER, J.L.; FLORENCE, T.M. Mechanism of toxicity of ionic copper and copper complexes to algae. **Marine Biology**, n. 94, p. 511-519, 1987.

___. The effect of culture medium on metal toxicity to the marine diatom *Nitzschia closterium* and the freshwater green alga *Chlorella pyrenoidosa*. **Water Research**, v. 23, n. 7, p. 907-911, 1989.

STEEL, J.W. Pharmacokinetics and metabolism of avermectins in livestock. **Veterinary Parasitology**, v. 48, p. 45-57, 1993.

STRONG, L. Overview: the impact of avermectins on pastureland ecology. **Veterinary Parasitology**, V. 48, p. 3-17, 1993.

TANG, J.; HOAGLAND, K.D.; SIEGFRIED, B.D. Uptake and bioconcentration of atrazine by selected freshwater algae. **Environmental Toxicology and Chemistry**, v. 17, n.6, p. 1085–1090, 1998.

TEIXEIRA, C., TUNDISI, J.G., KUTNER, M.B. Plankton studies in mangrove environmental. II. The standing stock and some ecological factors. **Bol. Inst.Oceanogr.**, v. 24, p. 23-41, 1965.

TERRY, P.A., STONE, W. Biosorption of cadmium and copper contaminated water by *Scenedesmus abundans*. **Chemosphere**, v. 47, p. 249–255, 2002.

TIŠLER, T.; ERŽEN, N.K. Abamectin in the aquatic enviroment. **Ecotoxicology**, n. 15, p. 495-502, 2006.

TONISSI, F.B.; ESPÍNDOLA, E.L.G. Utilização de bioensaios agudos, crônico-parcial e *in situ* com *Danio rerio* para avaliação ecotoxicológica do Reservatório de Salto Grande (Americana, SP). In: ESPÍNDOLA, E.L.G et al. **Ecotoxicologia. Perperctivas para o Século XXI**. São Carlos: RiMa, 2002. p. 483-500.

TRAIN, S. Distribuição espacial e temporal do fitoplâncton em três reservatórios da Bacia do Rio Paraná. In: RODRIGUES et al. **Biocenoses em reservatórios**. Padroes espaciais e temporais. São Carlos: RiMa, 2005. p. 73-86.

TUKAJ, Z. et al. Cadmium effect on the growth, photosynthesis, ultrastructure and phytochelatin content of green microalga *Scenedesmus armatus*: A study at low and elevated CO_2 concentration. **Environmental and Experimental Botany**, v. 60, p. 291–299, 2007.

TUNDISI, J.G.; HINO, K. List of species and growth seasons of phytoplankton in a shallow tropical reservoir. **Revista Brasileira de Biologia**, v. 41, n. 1, p. 63-68, 1981.

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

VAN DEN BRINK, P.J. et al. Impact of the fungicide carbendazim in freshwater microcosms. II. Zooplankton, primary producers and final conclusions. **Aquatic Toxicology**, v. 48, p. 251–264, 2000.

___ . Effects of a herbicide–insecticide mixture in freshwater microcosms: Risk assessment and ecological effect chain. **Environmental Pollution**, v. 157, p. 237–249, 2009.

VAN DE BUND, W.J. et al. Responses of phytoplankton to fish predation and nutrient loading in shallow lakes: a pan-European mesocosm experiment. **Freshwater Biology**, v. 49, p. 1608–1618, 2004.

VOLLENWEIDER, R.A. **A manual on methods for measuring primary production in aquatic environments**. 2 ed. London: Blackwell Scientific Pubication, 1974. 225p.

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

WETZEL, R.G.; LIKENS, G.E. **Limnological analyses**. New York: Springer-Verlag, 1991. 391p.

WETZEL, R.G. **Limnologia**. Lisboa: Fundação Calouste Gulbenkian, 1993. 905p.

ZAGATTO, P.A. Ecotoxicologia. In: ZAGATTO, P.A.; BERTOLETTI, E. **Ecotoxicologia aquática.** São Carlos:Rima, 2006. p. 1-12.

ANEXO A

Tabela 1 - Concentração de inibição de *P. subcapitata* no teste de sensibilidade para diferentes concentrações ($g.L^{-1}$) de NaCl. A tabela foi gerada pelo programa computacional ICp 2.0. (Teste 1)

*** Inhibition Concentration Percentage Estimate ***
Toxicant/Effluent: NaCl
Test Start Date: 12/08/08 Test Ending Date: 16/08/08
Test Species: *P. subcapitata*
Test Duration: 96h
DATA FILE: NaCl

Conc. ID	Number Replicates	Concentration g/L	Response Means	Std. Dev.	Pooled Response Means
1	3	0.000	3170000.000	868101.377	3170000.000
2	3	0.500	2176666.667	92915.732	2176666.667
3	3	2.000	1490000.000	789366.835	1490000.000
4	3	3.500	346666.667	80829.038	346666.667
5	3	5.000	30000.000	26457.513	30000.000
6	3	6.500	30000.000	30000.000	30000.000

The Linear Interpolation Estimate: 3.2233 Entered P Value: 50
Number of Resamplings: 80 80 Resamples Generated
The Bootstrap Estimates Mean: 3.1066 Standard Deviation: 0.6447
Original Confidence Limits: Lower: 2.0238 Upper: 4.2635
Expanded Confidence Limits: Lower: 0.7044 Upper: 5.4077
Resampling time in Seconds: 0.00 Random_Seed: -715141188

Tabela 2 - Concentração de inibição de *P. subcapitata* no teste de sensibilidade para diferentes concentrações ($g.L^{-1}$) de NaCl. Tabela gerada pelo programa computacional ICp 2.0. (Teste 2).

*** Inhibition Concentration Percentage Estimate ***
Toxicant/Effluent: NaCl
Test Start Date: 01/09/08 Test Ending Date: 04/09/08
Test Species: *P. subcapitata*
Test Duration: 96h
DATA FILE: NaCl

Conc. ID	Number Replicates	Concentration g/L	Response Means	Std. Dev.	Pooled Response Means
1	3	0.000	2150000.000	1224295.716	2150000.000
2	3	0.500	1746666.667	785896.516	1746666.667
3	3	2.000	1086666.667	64291.005	1086666.667
4	3	3.500	533333.333	145716.620	533333.333
5	3	5.000	190000.000	81853.528	190000.000
6	3	6.500	56666.667	11547.005	56666.667

The Linear Interpolation Estimate: 2.0316 Entered P Value: 50
Number of Resamplings: 80 80 Resamples Generated
The Bootstrap Estimates Mean: 1.9558 Standard Deviation: 0.6726
Original Confidence Limits: Lower: 0.4604 Upper: 3.0463
Expanded Confidence Limits: Lower: -1.2679 Upper: 4.1624
Resampling time in Seconds: 0.00 Random_Seed: -403641546

Tabela 3 - Concentração de inibição de *P. subcapitata* no teste de sensibilidade para diferentes concentrações ($g.L^{-1}$) de NaCl. Tabela gerada pelo programa computacional ICp 2.0. (Teste 3).

*** Inhibition Concentration Percentage Estimate ***
Toxicant/Effluent: NaCl
Test Start Date: 20-01-09 Test Ending Date: 24-04-09
Test Species: *P. subcapitata*
Test Duration: 96h

Conc. ID	Number Replicates	Concentration mg.L	Response Means	Std. Dev.	Pooled Response Means
1	3	0.000	437.667	40.415	437.667
2	3	0.500	392.667	6.807	392.667
3	3	2.000	199.667	16.503	199.667
4	3	3.500	59.667	7.234	59.667
5	3	5.000	3.000	1.000	3.000
6	3	6.500	0.000	0.000	0.000

The Linear Interpolation Estimate: 1.8510 Entered P Value: 50

Number of Resamplings: 80 80 Resamples Generated
The Bootstrap Estimates Mean: 1.8688 Standard Deviation: 0.0868
Original Confidence Limits: Lower: 1.7203 Upper: 2.0469
Expanded Confidence Limits: Lower: 1.5764 Upper: 2.2623
Resampling time in Seconds: 0.00 Random_Seed: -146126720

Tabela 4 - Concentração de inibição de *P. subcapitata* no teste de sensibilidade para diferentes concentrações ($g.L^{-1}$) de NaCl. Tabela gerada pelo programa computacional ICp 2.0. (Teste 4).

*** Inhibition Concentration Percentage Estimate ***
Toxicant/Effluent: NaCl
Test Start Date: 09-02-09 Test Ending Date: 13-02-09
Test Species: *P. subcapitata*
Test Duration: 96h

Conc. ID	Number Replicates	Concentration mg.L	Response Means	Std. Dev.	Pooled Response Means
1	3	0.000	565.000	18.000	592.000
2	3	0.500	619.000	54.286	592.000
3	3	2.000	499.667	50.718	499.667
4	3	3.500	163.667	25.775	163.667
5	3	5.000	16.333	3.055	16.333
6	3	6.500	1.000	1.000	1.000

The Linear Interpolation Estimate: 2.9092 Entered P Value: 50

Number of Resamplings: 80 80 Resamples Generated
The Bootstrap Estimates Mean: 2.9170 Standard Deviation: 0.0598
Original Confidence Limits: Lower: 2.8007 Upper: 3.0228
Expanded Confidence Limits: Lower: 2.6813 Upper: 3.1478
Resampling time in Seconds: 0.00 Random_Seed: 308439860

Tabela 5 - Concentração de inibição de *P. subcapitata* no teste de sensibilidade para diferentes concentrações ($g.L^{-1}$) de NaCl. Tabela gerada pelo programa computacional ICp 2.0. (Teste 5).

*** Inhibition Concentration Percentage Estimate ***
Toxicant/Effluent: NaCl
Test Start Date: 23-03-09 Test Ending Date: 27-03-09
Test Species: *P. subcapitata*
Test Duration: 96h

Conc. ID	Number Replicates	Concentration mg.L	Response Means	Std. Dev.	Pooled Response Means
1	3	0.000	525.333	27.062	558.667
2	3	0.500	592.000	51.391	558.667
3	3	2.000	483.333	32.747	483.333
4	3	3.500	173.333	8.386	173.333
5	3	5.000	12.333	1.528	12.333
6	3	6.500	1.000	1.732	1.000

The Linear Interpolation Estimate: 2.9871 Entered P Value: 50

Number of Resamplings: 80 80 Resamples Generated
The Bootstrap Estimates Mean: 2.9853 Standard Deviation: 0.0439
Original Confidence Limits: Lower: 2.8997 Upper: 3.0695
Expanded Confidence Limits: Lower: 2.8035 Upper: 3.1602
Resampling time in Seconds: 0.00 Random_Seed: 344451060

Tabela 6 - Concentração de inibição de *P. subcapitata* no teste de sensibilidade para diferentes concentrações ($g.L^{-1}$) de NaCl. Tabela gerada pelo programa computacional ICp 2.0. (Teste 6).

*** Inhibition Concentration Percentage Estimate ***
Toxicant/Effluent: NaCl
Test Start Date: 16-04-09 Test Ending Date: 20-04-09
Test Species: *P. subcapitata*
Test Duration: 96h

Conc. ID	Number Replicates	Concentration mg.L	Response Means	Std. Dev.	Pooled Response Means
1	3	0.000	607.000	32.604	628.500
2	3	0.500	650.000	17.349	628.500
3	3	2.000	624.000	26.287	624.000
4	3	3.500	319.000	8.000	319.000
5	3	5.000	16.333	3.512	16.333
6	3	6.500	1.000	1.000	1.000

The Linear Interpolation Estimate: 3.5235 Entered P Value: 50

Number of Resamplings: 80 80 Resamples Generated
The Bootstrap Estimates Mean: 3.5219 Standard Deviation: 0.0270
Original Confidence Limits: Lower: 3.4680 Upper: 3.5695
Expanded Confidence Limits: Lower: 3.4068 Upper: 3.6201
Resampling time in Seconds: 0.00 Random_Seed: -9053460

Tabela 7 - Concentração de inibição de *P. subcapitata* no teste de sensibilidade para diferentes concentrações ($g.L^{-1}$) de NaCl. Tabela gerada pelo programa computacional ICp 2.0. (Teste 7).

*** Inhibition Concentration Percentage Estimate ***
Toxicant/Effluent: NaCl
Test Start Date: 25_05_09 Test Ending Date: 29-05_09
Test Species: *P. subcapitata*
Test Duration: 96h

Conc. ID	Number Replicates	Concentration mg.L	Response Means	Std. Dev.	Pooled Response Means
1	3	0.000	675.000	7.211	688.833
2	3	0.500	702.667	20.257	688.833
3	3	2.000	608.000	43.093	608.000
4	3	3.500	409.000	34.000	409.000
5	3	5.000	18.333	1.528	18.333
6	3	6.500	1.333	0.577	1.333

The Linear Interpolation Estimate: 3.7480 Entered P Value: 50

Number of Resamplings: 80 80 Resamples Generated
The Bootstrap Estimates Mean: 3.7427 Standard Deviation: 0.0549
Original Confidence Limits: Lower: 3.6298 Upper: 3.8399
Expanded Confidence Limits: Lower: 3.4998 Upper: 3.9411
Resampling time in Seconds: 0.00 Random_Seed: -5188672

Tabela 8 - Concentração de inibição de *P. subcapitata* no teste de sensibilidade para diferentes concentrações ($g.L^{-1}$) de NaCl. Tabela gerada pelo programa computacional ICp 2.0. (Teste 8).

*** Inhibition Concentration Percentage Estimate ***
Toxicant/Effluent: NaCl
Test Start Date: 21_06_09 Test Ending Date: 25_06_09
Test Species: *P. subcapitata*
Test Duration: 96h

Conc. ID	Number Replicates	Concentration mg.L	Response Means	Std. Dev.	Pooled Response Means
1	3	0.000	557.333	13.013	557.333
2	3	0.500	505.667	33.322	511.333
3	3	2.000	517.000	66.843	511.333
4	3	3.500	329.667	45.446	329.667
5	3	5.000	22.000	2.000	22.000
6	3	6.500	1.667	0.577	1.667

The Linear Interpolation Estimate: 3.7486 Entered P Value: 50

Number of Resamplings: 80 80 Resamples Generated
The Bootstrap Estimates Mean: 3.7365 Standard Deviation: 0.0947
Original Confidence Limits: Lower: 3.5386 Upper: 3.8961
Expanded Confidence Limits: Lower: 3.3076 Upper: 4.0583
Resampling time in Seconds: 0.00 Random_Seed: 694438962

Tabela 9 - Concentração de inibição de *P. subcapitata* no teste de sensibilidade para diferentes concentrações ($g.L^{-1}$) de NaCl. Tabela gerada pelo programa computacional ICp 2.0. (Teste 9).

*** Inhibition Concentration Percentage Estimate ***
Toxicant/Effluent: NaCl
Test Start Date: 27_07_09 Test Ending Date: 31-07-09
Test Species: *P. subcapitata*
Test Duration: 96h

Conc. ID	Number Replicates	Concentration mg.L	Response Means	Std. Dev.	Pooled Response Means
1	3	0.000	574.667	82.924	574.667
2	3	0.500	518.667	68.821	518.667
3	3	2.000	477.000	8.544	477.000
4	3	3.500	276.333	32.868	276.333
5	3	5.000	5.333	2.517	5.333
6	3	6.500	0.000	0.000	0.000

The Linear Interpolation Estimate: 3.4178 Entered P Value: 50

Number of Resamplings: 80 80 Resamples Generated
The Bootstrap Estimates Mean: 3.4034 Standard Deviation: 0.1532
Original Confidence Limits: Lower: 3.0980 Upper: 3.6411
Expanded Confidence Limits: Lower: 2.7462 Upper: 3.8867
Resampling time in Seconds: 0.00 Random_Seed: 766826753

Tabela 10 - Concentração de inibição de *P. subcapitata* no teste de sensibilidade para diferentes concentrações ($g.L^{-1}$) de NaCl. Tabela gerada pelo programa computacional ICp 2.0. (Teste 10).

*** Inhibition Concentration Percentage Estimate ***
Toxicant/Effluent: NaCl
Test Start Date: 21_09_09 Test Ending Date: 25_09_09
Test Species: *P. subcapitata*
Test Duration: 96h

Conc. ID	Number Replicates	Concentration mg.L	Response Means	Std. Dev.	Pooled Response Means
1	3	0.000	555.333	63.106	564.889
2	3	0.500	544.000	60.008	564.889
3	3	2.000	595.333	28.378	564.889
4	3	3.500	320.333	36.937	320.333
5	3	5.000	22.333	0.577	22.333
6	3	6.500	2.000	1.000	2.000

The Linear Interpolation Estimate: 3.6907 Entered P Value: 50

Number of Resamplings: 80 80 Resamples Generated
The Bootstrap Estimates Mean: 3.6655 Standard Deviation: 0.0863
Original Confidence Limits: Lower: 3.4980 Upper: 3.8126
Expanded Confidence Limits: Lower: 3.2860 Upper: 3.9467
Resampling time in Seconds: 0.00 Random_Seed: 642690876

Tabela 11 – Valores de CI50;96h ao cloreto de sódio em testes de sensibilidade com *Pseudokirchneriella subcapitata* após 96h de exposição.

Ensaio	**CI50;96h (g.L^{-1})**
1	3,22
2	2,03
3	1,85
4	2,91
5	2,99
6	3,52
7	3,75
8	3,75
9	3,42
10	3,69
Média	3,11
Limite inferior (g.L^{-1})	1,74
Limite superior (g.L^{-1})	4,49
Coeficiente de variação (%)	22,05

Tabela 12 - Valores obtidos para turbidez (NTU) para as diferentes diluições do *runoff* (RNC: *runoff* não contaminado; RC: *runoff* contaminado)

Concentração do teste	**RCN**	**RC**
100%	930	890
50%	550	400
25%	356	262
12,5%	166	128
6,25%	78	68
3,12%	37	30

Tabela 13 - Valores obtidos para condutividade elétrica (µS.cm^{-1}) para as diferentes diluições do *runoff* (RNC: *runoff* não contaminado; RC: *runoff* contaminado)

Concentração do teste	**RCN**	**RC**
100%	25,9	20,5
50%	92,0	86,9
25%	124,8	120,6
12,5%	141,8	139,6
6,25%	151,0	148,3
3,12%	182,6	152,7

Tabela 14 - Valores obtidos para pH para as diferentes diluições do *runoff* (RNC: *runoff* não contaminado; RC: *runoff* contaminado)

Concentração do teste	RCN	RC
100%	6,59	6,36
50%	7,08	6,92
25%	7,38	7,11
12,5%	7,52	7,41
6,25%	7,6	7,5
3,12%	7,71	7,57

Tabela 15 - Valores obtidos para dureza ($mg.L^{-1}CaCO_3$) para as diferentes diluições do *runoff* (RNC: *runoff* não contaminado; RC: *runoff* contaminado)

Concentração do teste	RCN	RC
100%	4	4
50%	24	24
25%	38	32
12,5%	38	36
6,25%	42	44
3,12%	42	42

Tabela 16 - Valores obtidos para oxigênio dissolvido ($mg.L^{-1}$) para as diferentes diluições do *runoff* (RNC: *runoff* não contaminado; RC: *runoff* contaminado)

Concentração do teste	RNC	RC
100%	6,77	6,62
50%	6,81	6,76
25%	6,84	6,76
12,5%	6,82	6,80
6,25%	6,82	6,85
3,12%	6,81	6,81

Tabela 17 - Valores obtidos para material em suspensão total ($mg.L^{-1}$) para as diferentes diluições do *runoff* (RNC: *runoff* não contaminado; RC: *runoff* contaminado)

Concentração do teste	RNC	RC
100%	4111,1	4419,1
50%	900,3	1163,5
25%	381,4	760,6
12,5%	155,7	262,8
6,25	77,9	159,4
3,12%	37,4	50,3

Tabela 18 - Valores obtidos para material em suspensão inorgânico ($mg.L^{-1}$) para as diferentes diluições do *runoff* (RNC: *runoff* não contaminado; RC: *runoff* contaminado)

Concentração do teste	RNC	RC
100%	3371,9	3724,0
50%	754,0	898,4
25%	321,2	633,7
12,5%	132,9	222,4
6,25	64,0	132,0
3,12%	26,2	39,9

Tabela 19 - Valores obtidos para material em suspensão orgânico ($mg.L^{-1}$) para as diferentes diluições do *runoff* (RNC: *runoff* não contaminado; RC: *runoff* contaminado)

Concentração do teste	RNC	RC
100%	739,2	695,1
50%	146,3	265,1
25%	60,2	127,0
12,0%	22,8	40,3
6,25	13,9	27,5
3,12%	11,2	10,4

Tabela 20 - Densidade celular ($cel.mL^{-1}$) para as diferentes diluições do *runoff* (RNC: *runoff* não contaminado; RC: *runoff* contaminado)

Amostra	Réplica 1	Réplica 2	Réplica 3	Média	Desvio padrão
Controle	4940000	5220000	4330000	4830000	455082
RNC 100%	70000	10000	50000	43333	30550
RNC 50%	180000	100000	130000	136666	40414
RNC 25%	190000	250000	860000	433333	370720
RNC 12,5%	970000	2810000	2040000	1940000	924067
RNC 6,25%	2090000	4040000	1170000	2433333	1465481
RNC 3,12%	4130000	1990000	2060000	2726667	1215826
RC 100%	110000	130000	100000	113333	15275
RC 50%	320000	280000	130000	243333	100166
RC 25%	690000	1240000	990000	973333	275378
RC 12,5%	1240000	1360000	4630000	2410000	1923512
RC 6,25%	3000000	4310000	4410000	3906667	786786
RC 3,12%	1470000	2750000	3430000	2550000	995188

Tabela 21 – Concentração de clorofila *a* ($\mu g.L^{-1}$) para as diferentes diluições do *runoff* (RNC: *runoff* não contaminado; RC: *runoff* contaminado)

Amostra	Réplica 1	Réplica 2	Réplica 3	Média	Desvio padrão
Controle	224	207	207	213	10
RNC 100%	218	207	224	216	9
RNC 50%	534	552	914	667	214
RNC 25%	1328	2368	1644	1780	533
RNC 12,5%	2098	2994	1534	2209	736
RNC 6,25%	3948	1747	2149	2615	1172
RNC 3,12%	241	195	264	234	35
RC 100%	402	460	351	404	55
RC 50%	764	1103	1494	1121	365
RC 25%	2385	1626	3454	2489	918
RC 12,5%	3598	2500	3793	3297	697
RC 6,25%	2793	2609	4023	3142	769
RC 3,12%	2856	4466	252	2525	2126

Tabela 22 – Biovolume (μm^3) para as diferentes diluições do *runoff* (RNC: *runoff* não contaminado; RC: *runoff* contaminado)

Amostra	Réplica 1	Réplica 2	Réplica 3	Média	Desvio padrão
Controle	0,92	1,12	0,63	0,89	0,25
RNC 100%	0,67	0,51	0,67	0,61	0,09
RNC 50%	0,50	0,70	0,38	0,53	0,16
RNC 25%	0,59	0,52	0,32	0,48	0,14
RNC 12,5%	0,73	0,41	0,54	0,56	0,16
RNC 6,25%	1,01	0,74	0,45	0,73	0,28
RNC 3,12%	0,64	2,55	1,00	1,40	1,01
RC 100%	0,62	0,85	0,67	0,71	0,12
RC 50%	0,47	0,36	0,30	0,38	0,08
RC 25%	0,53	0,53	0,66	0,57	0,07
RC 12,5%	0,58	1,04	1,30	0,97	0,36
RC 6,25%	0,47	0,60	1,02	0,70	0,29
RC 3,12%	1,13	0,79	0,94	0,95	0,17

Tabela 23 – Carbono orgânico total (pg.cel^{1-}) para as diferentes diluições do *runoff* (RNC: *runoff* não contaminado; RC: *runoff* contaminado)

Amostra	Réplica 1	Réplica 2	Réplica 3	Média	Desvio padrão
Controle	0,11	0,14	0,07	0,11	0,03
RNC 100%	0,08	0,06	0,08	0,07	0,01
RNC 50%	0,06	0,08	0,04	0,06	0,02
RNC 25%	0,07	0,06	0,04	0,06	0,02
RNC 12,5%	0,09	0,05	0,06	0,07	0,02
RNC 6,25%	0,12	0,09	0,05	0,09	0,04
RNC 3,12%	0,08	0,32	0,12	0,17	0,13
RC 100%	0,07	0,10	0,08	0,09	0,02
RC 50%	0,05	0,04	0,03	0,04	0,01
RC 25%	0,06	0,06	0,08	0,07	0,01
RC 12,5%	0,07	0,13	0,16	0,12	0,05
RC 6,25%	0,05	0,07	0,12	0,08	0,04
RC 3,12%	0,14	0,10	0,11	0,12	0,02

Tabela 24 – Teste de Dunnett (* Diferença significativa). Comparação entre a densidade celular do controle laboratorial e as diferentes concentrações de *runoff* não contaminado dos ensaios crônicos com *P. subcapitata*. Tabela gerada pelo programa TOXSTAT 3.4.

DUNNETT'S TEST - TABLE 1 OF 2 Ho:Control<Treatment

GROUP	IDENTIFICATION	TRANSFORMED MEAN	MEAN CALCULATED IN ORIGINAL UNITS	T STAT	SIG
1	controle	2524.667	2524.667		
2	100	212.667	212.667	2.880	*
3	50	216.333	216.333	2.875	*
4	25	666.667	666.667	2.314	
5	12,5	1780.000	1780.000	0.928	
6	6,25	2208.667	2208.667	0.394	
7	3,12	2614.667	2614.667	-0.112	

Dunnett table value = 2.53 (1 Tailed Value, P=0.05, df=14,6)

DUNNETT'S TEST - TABLE 2 OF 2 Ho:Control<Treatment

GROUP	IDENTIFICATION	NUM OF REPS	Minimum Sig Diff (IN ORIG. UNITS)	% of CONTROL	DIFFERENCE FROM CONTROL
1	controle	3			
2	100	3	2031.217	80.5	2312.000
3	50	3	2031.217	80.5	2308.333
4	25	3	2031.217	80.5	1858.000
5	12,5	3	2031.217	80.5	744.667
6	6,25	3	2031.217	80.5	316.000
7	3,12	3	2031.217	80.5	-90.000

Tabela 25 – Teste de Dunnett (* Diferença significativa). Comparação entre a densidade celular do controle laboratorial e as diferentes concentrações de *runoff* contaminado dos ensaios crônicos com *P. subcapitata*. Tabela gerada pelo programa TOXSTAT 3.4.

DUNNETT'S TEST - TABLE 1 OF 2 Ho:Control<Treatment

GROUP	IDENTIFICATION	TRANSFORMED MEAN	MEAN CALCULATED IN ORIGINAL UNITS	T STAT	SIG
1	controle	2524.667	2524.667		
2	100	233.333	233.333	2.895	*
3	50	404.333	404.333	2.679	*
4	25	1120.333	1120.333	1.774	
5	12,5	2488.333	2488.333	0.046	
6	6,25	3297.000	3297.000	-0.976	
7	3,12	3141.667	3141.667	-0.779	

Dunnett table value = 2.53 (1 Tailed Value, P=0.05, df=14,6)

DUNNETT'S TEST - TABLE 2 OF 2 Ho:Control<Treatment

GROUP	IDENTIFICATION	NUM OF REPS	Minimum Sig Diff (IN ORIG. UNITS)	% of CONTROL	DIFFERENCE FROM CONTROL
1	controle	3			
2	100	3	2002.773	79.3	2291.333
3	50	3	2002.773	79.3	2120.333
4	25	3	2002.773	79.3	1404.333
5	12,5	3	2002.773	79.3	36.333
6	6,25	3	2002.773	79.3	-772.333
7	3,12	3	2002.773	79.3	-617.000

Tabela 26 – Teste de Dunnett (* Diferença significativa). Comparação entre o biovolume celular do controle laboratorial e as diferentes concentrações de *runoff* não contaminado dos ensaios crônicos com *P. subcapitata*. Tabela gerada pelo programa TOXSTAT 3.4.

DUNNETT'S TEST - TABLE 1 OF 2 Ho:Control<Treatment

GROUP	IDENTIFICATION	TRANSFORMED MEAN	MEAN CALCULATED IN ORIGINAL UNITS	T STAT	SIG
1	controle	0.890	0.890		
2	100	0.617	0.617	0.792	
3	50	0.527	0.527	1.053	
4	25	0.477	0.477	1.198	
5	12,5	0.560	0.560	0.957	
6	6,25	0.733	0.733	0.454	
7	3,12	1.397	1.397	-1.469	

Dunnett table value = 2.53 (1 Tailed Value, P=0.05, df=14,6)

DUNNETT'S TEST - TABLE 2 OF 2 Ho:Control<Treatment

GROUP	IDENTIFICATION	NUM OF REPS	Minimum Sig Diff (IN ORIG. UNITS)	% of CONTROL	DIFFERENCE FROM CONTROL
1	controle	3			
2	100	3	0.873	98.1	0.273
3	50	3	0.873	98.1	0.363
4	25	3	0.873	98.1	0.413
5	12,5	3	0.873	98.1	0.330
6	6,25	3	0.873	98.1	0.157
7	3,12	3	0.873	98.1	-0.507

Tabela 27 – Teste de Dunnett (* Diferença significativa). Comparação entre o biovolume celular do controle laboratorial e as diferentes concentrações de *runoff* contaminado dos ensaios crônicos com *P. subcapitata*. Tabela gerada pelo programa TOXSTAT 3.4.

DUNNETT'S TEST - TABLE 1 OF 2 Ho:Control<Treatment

GROUP	IDENTIFICATION	TRANSFORMED MEAN	MEAN CALCULATED IN ORIGINAL UNITS	T STAT	SIG
1	controle	0.890	0.890		
2	100	0.713	0.713	0.992	
3	50	0.377	0.377	2.883	*
4	25	0.573	0.573	1.778	
5	12,5	0.973	0.973	-0.468	
6	6,25	0.697	0.697	1.086	
7	3,12	0.953	0.953	-0.356	

Dunnett table value = 2.53 (1 Tailed Value, P=0.05, df=14,6)

DUNNETT'S TEST - TABLE 2 OF 2 Ho:Control<Treatment

GROUP	IDENTIFICATION	NUM OF REPS	Minimum Sig Diff (IN ORIG. UNITS)	% of CONTROL	DIFFERENCE FROM CONTROL
1	controle	3			
2	100	3	0.451	50.6	0.177
3	50	3	0.451	50.6	0.513
4	25	3	0.451	50.6	0.317
5	12,5	3	0.451	50.6	-0.083
6	6,25	3	0.451	50.6	0.193
7	3,12	3	0.451	50.6	-0.063

Tabela 28 – Teste de Dunnett (* Diferença significativa). Comparação entre o conteúdo de carbono orgânico do controle laboratorial e as diferentes concentrações de *runoff* não contaminado dos ensaios crônicos com *P. subcapitata*. Tabela gerada pelo programa TOXSTAT 3.4.

DUNNETT'S TEST - TABLE 1 OF 2 Ho:Control<Treatment

GROUP	IDENTIFICATION	TRANSFORMED MEAN	MEAN CALCULATED IN ORIGINAL UNITS	T STAT	SIG
1	controle	0.107	0.107		
2	100	0.073	0.073	0.760	
3	50	0.060	0.060	1.064	
4	25	0.057	0.057	1.140	
5	12,5	0.067	0.067	0.912	
6	6,25	0.087	0.087	0.456	
7	3,12	0.173	0.173	-1.520	

Dunnett table value = 2.53 (1 Tailed Value, P=0.05, df=14,6)

DUNNETT'S TEST - TABLE 2 OF 2 Ho:Control<Treatment

GROUP	IDENTIFICATION	NUM OF REPS	Minimum Sig Diff (IN ORIG. UNITS)	% of CONTROL	DIFFERENCE FROM CONTROL
1	controle	3			
2	100	3	0.111	104.0	0.033
3	50	3	0.111	104.0	0.047
4	25	3	0.111	104.0	0.050
5	12,5	3	0.111	104.0	0.040
6	6,25	3	0.111	104.0	0.020
7	3,12	3	0.111	104.0	-0.067

Tabela 29 – Teste de Dunnett (* Diferença significativa). Comparação entre o conteúdo de carbono orgânico do controle laboratorial e as diferentes concentrações de *runoff* contaminado dos ensaios crônicos com *P. subcapitata*. Tabela gerada pelo programa TOXSTAT 3.4.

DUNNETT'S TEST - TABLE 1 OF 2 Ho:Control<Treatment

GROUP	IDENTIFICATION	TRANSFORMED MEAN	MEAN CALCULATED IN ORIGINAL UNITS	T STAT	SIG
1	controle	0.107	0.107		
2	100	0.083	0.083	1.016	
3	50	0.040	0.040	2.904	*
4	25	0.067	0.067	1.742	
5	12,5	0.120	0.120	-0.581	
6	6,25	0.080	0.080	1.162	
7	3,12	0.117	0.117	-0.436	

Dunnett table value = 2.53 (1 Tailed Value, P=0.05, df=14,6)

DUNNETT'S TEST - TABLE 2 OF 2 Ho:Control<Treatment

GROUP	IDENTIFICATION	NUM OF REPS	Minimum Sig Diff (IN ORIG. UNITS)	% of CONTROL	DIFFERENCE FROM CONTROL
1	controle	3			
2	100	3	0.058	54.4	0.023
3	50	3	0.058	54.4	0.067
4	25	3	0.058	54.4	0.040
5	12,5	3	0.058	54.4	-0.013
6	6,25	3	0.058	54.4	0.027
7	3,12	3	0.058	54.4	-0.010

Tabela 30 - Valores obtidos para temperatura da água (ºC) nos mesocosmos durante o período experimental (C: controle, RNC: *runoff* não contaminado, RC: *runoff* contaminado, V: Vertimec® e A: aleatório)

Horas	**C**	**RNC**	**RC**	**V**	**A**
0	25,2	25,4	25,4	25,4	25,5
3	27,9	27,5	27,6	27,7	27,7
72	23,6	23,6	23,7	23,8	23,8
120	25,0	25,0	25,0	24,9	25,4
168	26,5	26,5	26,4	26,4	26,5
240	22,7	22,6	22,7	22,9	22,8

Tabela 31 - Valores obtidos para pH nos mesocosmos durante o período experimental (C: controle, RNC: *runoff* não contaminado, RC: *runoff* contaminado, V: Vertimec® e A: aleatório)

Horas	C	RNC	RC	V	A
0	7,7	7,9	7,3	7,1	6,8
3	8,5	8,2	7,7	8,4	8,4
72	6,4	6,8	7,2	8,3	7,6
120	6,4	6,7	7,1	8,3	7,2
168	6,7	6,7	5,7	6,8	6,8
240	6,8	6,4	6,5	7,7	6,6

Tabela 32 - Valores obtidos para oxigênio dissolvido ($mg.L^{-1}$) nos mesocosmos durante o período experimental (C: controle, RNC: *runoff* não contaminado, RC: *runoff* contaminado, V: Vertimec® e A: aleatório)

Horas	**C**	**RNC**	**RC**	**V**	**A**
0	6,2	9,4	10,5	10,0	7,9
3	8,9	9,8	9,5	11,7	8,6
72	4,3	5,2	4,8	8,5	7,4
120	2,9	2,7	3,0	6,3	5,0
168	2,5	3,0	2,7	5,4	3,9
240	7,1	5,8	4,7	8,2	6,4

Tabela 33 - Valores obtidos para condutividade elétrica ($\mu S.cm^{-1}$) nos mesocosmos durante o período experimental (C: controle, RNC: *runoff* não contaminado, RC: *runoff* contaminado, V: Vertimec® e A: aleatório)

Horas	**C**	**RNC**	**RC**	**V**	**A**
0	75	72	75	76	83
3	77	66	62	78	83
72	82	72	71	78	89
120	87	80	78	83	95
168	87	86	84	83	105
240	89	92	92	87	111

Tabela 34 - Valores obtidos para nitrogênio total ($mg.L^{-1}$) nos mesocosmos durante o período experimental (C: controle, RNC: *runoff* não contaminado, RC: *runoff* contaminado, V: Vertimec® e A: aleatório)

Horas	C	RNC	RC	V	A
0	0,29	1,26	1,59	1,73	2,19
3	0,23	0,28	0,42	0,28	0,23
72	0,56	0,61	0,93	0,65	0,65
120	0,65	0,7	1,03	0,14	1,21
168	1,17	1,03	0,61	1,12	0,89
240	0,7	0,7	1,07	0,89	0,84

Tabela 35 - Valores obtidos para nitrito ($\mu g.L^{-1}$) nos mesocosmos durante o período experimental (C: controle, RNC: *runoff* não contaminado, RC: *runoff* contaminado, V: Vertimec® e A: aleatório)

Horas	C	RNC	RC	V	A
0	1,88	1,49	2,0	1,17	1,38
3	1,62	11,33	16,01	2,75	1,42
72	2,11	13,78	24,23	1,21	1,71
120	1,16	4,01	13,75	1,0	1,33
168	2,05	2,23	4,39	1,34	1,45
240	1,82	1,49	2,74	1,01	1,52

Tabela 36 - Valores obtidos para nitrato ($\mu g.L^{-1}$) nos mesocosmos durante o período experimental (C: controle, RNC: *runoff* não contaminado, RC: *runoff* contaminado, V: Vertimec® e A: aleatório)

Horas	C	RNC	RC	V	A
0	44,73	19,29	18,48	30,89	27,55
3	25,1	25,46	41,36	19,61	15,52
72	16,25	16,5	16,08	16,61	21,96
120	16,91	12,47	14,52	17,3	18,74
168	14,88	19,65	10,6	9,6	13,59
240	12,48	8,26	11,77	10,88	12,22

Tabela 37 - Valores obtidos para amônia ($\mu g.L^{-1}$) nos mesocosmos durante o período experimental (C: controle, RNC: *runoff* não contaminado, RC: *runoff* contaminado, V: Vertimec® e A: aleatório)

Horas	C	RNC	RC	V	A
0	91,99	20,19	44,76	101,86	58,56
3	63,08	27,01	155,63	20,72	19,14
72	65,48	50,16	64,98	25,56	52,96
120	189,98	7,28	184,6	69,63	84,16
168	134,5	83,61	251,41	24,55	40,02
240	103,8	187,7	367,81	14,35	17,26

Tabela 38 - Valores obtidos para fósforo total ($\mu g.L^{-1}$) nos mesocosmos durante o período experimental (C: controle, RNC: *runoff* não contaminado, RC: *runoff* contaminado, V: Vertimec® e A: aleatório)

Horas	C	RNC	RC	V	A
0	53,21	42,32	51,07	54,19	41,94
3	60,16	40,19	234,89	212,49	89,3
72	63,01	167,21	324,37	174,72	172,79
120	55,98	80,58	171,9	76,1	92,98
168	117,55	103,07	114,58	130,13	139,06
240	89,03	73,46	74,67	93,75	166,03

Tabela 39 - Valores obtidos para fosfato total dissolvido ($\mu g.L^{-1}$) nos mesocosmos durante o período experimental (C: controle, RNC: *runoff* não contaminado, RC: *runoff* contaminado, V: Vertimec® e A: aleatório)

Horas	C	RNC	RC	V	A
0	8,9	9,59	8,77	11,32	12,56
3	6,11	20,04	33,17	9,43	5,49
72	14,79	41,93	66,77	23,42	21,69
120	18,88	28,48	54,02	24,35	25,36
168	17,24	25,04	29,9	24,43	23,05
240	17,13	14,76	23,55	17,24	20,57

Tabela 40 - Valores obtidos para fosfato inorgânico ($\mu g.L^{-1}$) nos mesocosmos durante o período experimental (C: controle, RNC: *runoff* não contaminado, RC: *runoff* contaminado, V: Vertimec® e A: aleatório)

Horas	C	RNC	RC	V	A
0	4,82	4,51	4,69	4,64	4,96
3	5,38	19,3	31,61	6,91	2,88
72	5,23	25,8	41,8	4,68	8,58
120	4,66	7,04	23,84	3,53	6,04
168	3,58	8,32	9,52	3,61	5,7
240	2,73	2,76	5,04	2,72	2,16

Tabela 41 - Valores obtidos para silicato ($mg.L^{-1}$) nos mesocosmos durante o período experimental (C: controle, RNC: *runoff* não contaminado, RC: *runoff* contaminado, V: Vertimec® e A: aleatório)

Horas	C	RNC	RC	V	A
0	6,98	6,81	6,65	6,35	6,42
3	11,91	12,01	11,45	12,88	12,13
72	11,36	11,02	11,36	11,96	10,2
120	13,11	10,24	11,65	11,56	11,83
168	11,61	10,39	9,87	11,1	9,41
240	6,65	5,75	5,52	6,0	4,89

Tabela 42 - Valores obtidos para material em suspensão total ($mg.L^{-1}$) nos mesocosmos durante o período experimental (* Amostra perdida) (C: controle, RNC: *runoff* não contaminado, RC: *runoff* contaminado, V: Vertimec® e A: aleatório)

Horas	C	RNC	RC	V	A
0	8,15	11,15	10,3	9,1	8,78
3	8,55	58,16	99,4	8,85	10,45
72	12,15	38	68,75	12,48	10,45
120	6,8	15,23	41,88	7,43	6,85
168	12,3	12,35	9,3	3,2	9,73
240	8,53	8,38	5,53	*	9,03

Tabela 43 - Valores obtidos para material em suspensão inorgânico ($mg.L^{-1}$) nos mesocosmos durante o período experimental (* Amostra perdida) (C: controle, RNC: *runoff* não contaminado, RC: *runoff* contaminado, V: Vertimec® e A: aleatório)

Horas	C	RNC	RC	V	A
0	1,13	2,28	1,9	1,18	1,03
3	0,35	44,93	77,07	0,95	1,88
72	3,38	27,13	46,83	3,4	3,03
120	0,9	9,75	22,93	1,93	2,28
168	2,1	4,78	3,73	*	2,68
240	0,55	0,33	0,88	*	2,55

Tabela 44 - Valores obtidos para material em suspensão orgânico ($mg.L^{-1}$) nos mesocosmos durante o período experimental (* Amostra perdida) (C: controle, RNC: *runoff* não contaminado, RC: *runoff* contaminado, V: Vertimec® e A: aleatório)

Horas	C	RNC	RC	V	A
0	7,03	8,88	8,4	7,93	7,75
3	8,2	13,25	22,33	7,9	8,58
72	8,78	10,88	21,93	9,08	7,43
120	5,9	5,48	18,95	5,5	4,58
168	10,2	7,58	5,58	3,38	7,05
240	7,98	8,05	4,65	*	6,48

Tabela 45 - Valores obtidos para clorofila *a* ($\mu g.L^{-1}$) nos mesocosmos durante o período experimental (C: controle, RNC: *runoff* não contaminado, RC: *runoff* contaminado, V: Vertimec® e A: aleatório)

Horas	C	RNC	RC	V	A
0	13,95	10,46	11,16	12,56	18,14
3	16,54	11,16	11,16	10,46	16,74
72	18,83	13,95	9,77	9,77	20,23
120	18,14	11,86	10,46	5,58	17,44
168	39,06	14,65	12,56	4,19	21,62
240	31,39	13,95	6,28	6,98	24,41

Tabela 46 - Valores obtidos para feofitina ($\mu g.L^{-1}$) nos mesocosmos durante o período experimental (C: controle, RNC: *runoff* não contaminado, RC: *runoff* contaminado, V: Vertimec® e A: aleatório)

Horas	**C**	**RNC**	**RC**	**V**	**A**
0	8,51	5,65	6,42	3,56	4,32
3	8,29	9,02	6,42	5,16	7,18
72	8,02	7,04	6,84	1,46	5,65
120	5,79	6,70	6,63	0	4,53
168	11,23	0,98	3,56	4,12	5,72
240	7,67	5,09	1,05	1,81	2,93

Tabela 47 – Densidade (org.L^{-1}) do fitoplâncton no tratamento controle (C)

TAXA	0h	3h	48h	96h	144h	192h	240h
Cyanophyceae	**56**	**245**	**298**	**118**	**25**	**6**	**14**
Aphanocapsa delicatissima	0	168	126	94	8	0	0
Geitlerinema acutissimum	23	77	153	8	0	0	0
Merismopedia tenuissima	0	0	0	0	0	0	0
Phormidium interruptum	23	0	0	0	0	6	0
Pseudanabaena minima	11	0	18	16	16	0	14
Chlamydophyceae	**192**	**180**	**487**	**353**	**74**	**6**	**5**
Chlamydomonas sp.	192	180	487	353	74	6	5
Chlorophyceae	**2853**	**3029**	**1886**	**1655**	**2108**	**1600**	**1746**
Acanthosphaera cf *tenuispina*	868	709	415	126	98	174	135
Ankistrodesmus falcatus	0	0	0	0	0	0	0
Coelastrum proboscideum	507	232	244	78	238	72	180
Coelastrum reticulatum	0	0	0	0	0	0	0
Coenochloris pyrenoidosa	361	232	180	126	320	150	456
Crucigenia sp.	0	0	0	0	0	0	0
Eutetramorus fottii	34	0	0	0	8	0	0
Kirchneriella sp.	0	0	0	0	0	0	0
Micractinium bornhemiense	11	0	0	0	0	0	0
Micractinium pusillum	56	0	0	16	0	0	5
Monoraphidium contortum	0	0	9	8	0	0	0
Monoraphidium minutum	383	1315	650	714	82	24	0
Oocystis marssoonii	0	0	9	0	0	0	14
Pediastrum duplex	23	0	9	16	16	12	5
Pediatrum tetras	79	64	27	47	33	18	18
Scenedesmus acuminatus	0	0	0	8	8	0	9
Scenedesmus opoliensis	158	103	9	24	66	30	9
Scenedesmus quadricauda	350	361	325	455	1165	1095	898
Scenedesmus sp	0	0	0	0	8	0	14
Scenedesmus spinosus	11	13	9	39	66	18	5
Scenedesmus subispicatus	0	0	0	0	0	0	0
Tetrastrum heteracanthum	0	0	0	0	0	6	0
Tetrastrum triacanthum	11	0	0	0	0	0	0
Zygnemaphyceae	**0**	**0**	**0**	**0**	**0**	**0**	**0**
Staurastrum americanum	0	0	0	0	0	0	0
Oedogonophyceae	**11**	**0**	**0**	**0**	**0**	**0**	**0**
Oedogonium sp.	11	0	0	0	0	0	0
Dinophyceae	**147**	**103**	**81**	**94**	**180**	**204**	**383**
Peridinium sp.	147	103	81	94	180	204	383
Xantophyceae	**101**	**77**	**99**	**94**	**238**	**138**	**95**
Goniochloris sp.	79	77	99	71	205	108	90
Pseudopoliedriopsis sp.	23	0	0	24	33	30	5
Chrysophyceae	**0**	**13**	**18**	**31**	**0**	**247**	**27**
Mallomonas sp.	0	13	18	31	0	247	27
Bacillariophyta	**7623**	**8764**	**3401**	**2118**	**1608**	**1624**	**1556**
Aulacoseira granulata	0	0	0	0	0	0	0
Bacillariophyta não identificada	2109	1856	632	314	279	54	41
Eunotia sp.	3135	4588	1624	737	656	138	95
Fragilaria sp.	1365	1650	920	934	558	1419	1389
Navicula sp.	1015	670	217	133	115	12	32
Pinularia sp.	0	0	9	0	0	0	0

Tabela 48 – Densidade (org.L^{-1}) do fitoplâncton no tratamento com *runoff* não contaminado (RNC)

TAXA	0h	3h	48h	96h	144h	192h	240h
Cyanophyceae	**341**	**60**	**90**	**115**	**238**	**71**	**32**
Aphanocapsa delicatissima	321	0	0	0	208	48	4
Geitlerinema acutissimum	0	0	77	101	30	12	0
Merismopedia tenuissima	0	60	0	0	0	0	0
Phormidium interruptum	0	0	0	0	0	0	4
Pseudanabaena minima	20	0	13	14	0	12	24
Chlamydophyceae	**261**	**90**	**0**	**29**	**30**	**65**	**48**
Chlamydomonas sp.	261	90	0	29	30	65	48
Chlorophyceae	**5233**	**6646**	**3132**	**2281**	**3638**	**3884**	**1520**
Acanthosphaera cf *tenuispina*	2686	3759	1018	72	0	0	4
Ankistrodesmus falcatus	0	0	13	0	0	0	0
Coelastrum proboscideum	281	90	348	87	20	18	60
Coelastrum reticulatum	0	90	103	43	69	24	8
Coenochloris pyrenoidosa	421	331	193	101	69	12	56
Crucigenia sp.	0	0	0	0	0	0	4
Eutetramorus fottii	20	0	13	0	0	6	0
Kirchneriella sp.	0	0	0	14	0	0	0
Micractinium bornhemiense	0	0	0	0	0	0	0
Micractinium pusillum	0	0	13	0	0	0	0
Monoraphidium contortum	0	0	0	0	20	0	40
Monoraphidium minutum	1043	1774	1005	1833	3361	3700	1251
Oocystis marssoonii	0	0	0	0	0	0	0
Pediastrum duplex	20	0	0	0	0	0	0
Pediatrum tetras	120	60	64	14	0	18	8
Scenedesmus acuminatus	0	0	13	0	0	0	0
Scenedesmus opoliensis	180	0	13	14	0	0	0
Scenedesmus quadricauda	421	541	322	87	89	89	88
Scenedesmus sp	0	0	0	0	0	0	0
Scenedesmus spinosus	0	0	13	14	10	18	0
Scenedesmus subispicatus	20	0	0	0	0	0	0
Tetrastrum heteracanthum	20	0	0	0	0	0	0
Tetrastrum triacanthum	0	0	0	0	0	0	0
Zygnemaphyceae	**0**	**0**	**13**	**0**	**0**	**0**	**0**
Staurastrum americanum	0	0	13	0	0	0	0
Oedogonophyceae	**0**	**0**	**0**	**0**	**0**	**0**	**0**
Oedogonium sp.	0	0	0	0	0	0	0
Dinophyceae	**281**	**120**	**0**	**58**	**20**	**18**	**56**
Peridinium sp.	281	120	0	58	20	18	56
Xantophyceae	**40**	**120**	**39**	**202**	**208**	**196**	**68**
Goniochloris sp.	40	90	26	202	188	196	68
Pseudopoliedriopsis sp.	0	30	13	0	20	0	0
Chrysophyceae	**0**	**0**	**26**	**14**	**0**	**0**	**8**
Mallomonas sp.	0	0	26	14	0	0	8
Bacillariophyta	**16399**	**13442**	**10749**	**14550**	**10400**	**892**	**373**
Aulacoseira granulata	0	0	0	0	0	0	0
Bacillariophyta não identificada	4631	3158	2887	3334	2221	167	60
Eunotia sp.	6836	6766	5194	9267	7069	559	245
Fragilaria sp.	3589	2646	1766	1083	516	77	40
Navicula sp.	1343	872	902	866	595	89	28
Pinularia sp.	0	0	0	0	0	0	0

Tabela 49 – Densidade (org.L^{-1}) do fitoplâncton no tratamento com *runoff* contaminado (RC)

TAXA	0h	3h	48h	96h	144h	192h	240h
Cyanophyceae	**928**	**64**	**110**	**203**	**116**	**54**	**37**
Aphanocapsa delicatissima	928	0	0	0	8	6	0
Geitlerinema acutissimum	0	32	78	192	108	0	37
Merismopedia tenuissima	0	32	31	0	0	0	0
Phormidium interruptum	0	0	0	0	0	42	0
Pseudanabaena minima	0	0	0	11	0	6	0
Chlamydophyceae	**168**	**32**	**16**	**23**	**77**	**18**	**5**
Chlamydomonas sp.	168	32	16	23	77	18	5
Chlorophyceae	**3982**	**3963**	**1898**	**1466**	**1203**	**1474**	**515**
Acanthosphaera cf *tenuispina*	2294	2191	863	56	46	12	16
Ankistrodesmus falcatus	0	0	16	0	0	0	0
Coelastrum proboscideum	39	0	63	79	154	409	85
Coelastrum reticulatum	0	32	141	68	31	18	5
Coenochloris pyrenoidosa	155	97	31	113	69	84	80
Crucigenia sp.	0	0	0	0	0	0	5
Eutetramorus fottii	0	0	0	0	8	6	0
Kirchneriella sp.	0	0	0	0	0	6	0
Micractinium bornhemiense	0	0	0	0	0	0	0
Micractinium pusillum	0	0	0	0	0	0	0
Monoraphidium contortum	0	0	0	0	0	12	5
Monoraphidium minutum	1057	1224	628	970	833	722	255
Oocystis marssoonii	0	0	16	0	0	0	0
Pediastrum duplex	0	0	0	0	0	6	0
Pediatrum tetras	64	32	16	11	0	0	0
Scenedesmus acuminatus	0	0	0	0	8	0	0
Scenedesmus opoliensis	64	0	0	45	0	18	0
Scenedesmus quadricauda	258	387	126	124	54	174	64
Scenedesmus sp	0	0	0	0	0	0	0
Scenedesmus spinosus	52	0	0	0	0	0	0
Scenedesmus subispicatus	0	0	0	0	0	0	0
Tetrastrum heteracanthum	0	0	0	0	0	6	0
Tetrastrum triacanthum	0	0	0	0	0	0	0
Zygnemaphyceae	**0**	**0**	**0**	**11**	**0**	**0**	**0**
Staurastrum americanum	0	0	0	11	0	0	0
Oedogonophyceae	**0**	**0**	**0**	**0**	**0**	**0**	**0**
Oedogonium sp.	0	0	0	0	0	0	0
Dinophyceae	**64**	**0**	**63**	**0**	**15**	**18**	**16**
Peridinium sp.	64	0	63	0	15	18	16
Xantophyceae	**13**	**0**	**157**	**203**	**116**	**235**	**106**
Goniochloris sp.	0	0	157	203	108	235	106
Pseudopoliedriopsis sp.	13	0	0	0	8	0	0
Chrysophyceae	**0**	**0**	**63**	**34**	**23**	**36**	**0**
Mallomonas sp.	0	0	63	34	23	36	0
Bacillariophyta	**10195**	**9569**	**8222**	**6214**	**1072**	**457**	**536**
Aulacoseira granulata	0	0	0	0	0	0	0
Bacillariophyta não identificada	3428	2868	1820	1353	193	48	80
Eunotia sp.	4060	4575	3593	3507	524	307	287
Fragilaria sp.	1907	1450	2181	1037	301	84	138
Navicula sp.	799	677	628	316	54	18	32
Pinularia sp.	0	0	0	0	0	0	0

Tabela 50 – Densidade (org.L^{-1}) do fitoplâncton no tratamento com Vertimec® (V)

TAXA	0h	3h	48h	96h	144h	192h	240h
Cyanophyceae	**155**	**611**	**400**	**659**	**369**	**31**	**156**
Aphanocapsa delicatissima	155	611	384	622	284	0	0
Geitlerinema acutissimum	0	0	16	18	69	31	149
Merismopedia tenuissima	0	0	0	0	0	0	0
Phormidium interruptum	0	0	0	0	0	0	7
Pseudanabaena minima	0	0	0	18	17	0	0
Chlamydophyceae	**103**	**97**	**94**	**54**	**129**	**135**	**104**
Chlamydomonas sp.	103	97	94	54	129	135	104
Chlorophyceae	**1907**	**4872**	**2440**	**4186**	**4013**	**8598**	**10700**
Acanthosphaera cf *tenuispina*	580	2582	1271	2878	567	167	327
Ankistrodesmus falcatus	0	0	0	0	0	0	0
Coelastrum proboscideum	39	14	78	108	155	0	67
Coelastrum reticulatum	0	0	0	0	0	0	0
Coenochloris pyrenoidosa	142	125	16	63	34	5	52
Crucigenia sp.	13	0	0	0	0	0	0
Eutetramorus fottii	13	0	0	0	0	0	0
Kirchneriella sp.	0	0	0	0	0	0	0
Micractinium bornhemiense	0	0	0	0	0	0	0
Micractinium pusillum	26	0	0	0	0	0	0
Monoraphidium contortum	39	14	31	36	0	16	0
Monoraphidium minutum	864	1777	886	938	3119	8380	10164
Oocystis marssoonii	0	0	0	0	9	0	0
Pediastrum duplex	0	0	0	0	0	0	0
Pediatrum tetras	39	69	24	18	0	0	7
Scenedesmus acuminatus	0	0	0	0	0	0	0
Scenedesmus opoliensis	13	111	24	0	0	0	7
Scenedesmus quadricauda	129	153	86	144	120	31	74
Scenedesmus sp	0	0	0	0	0	0	0
Scenedesmus spinosus	13	28	24	0	9	0	0
Scenedesmus subispicatus	0	0	0	0	0	0	0
Tetrastrum heteracanthum	0	0	0	0	0	0	0
Tetrastrum triacanthum	0	0	0	0	0	0	0
Zygnemaphyceae	**0**	**0**	**0**	**0**	**0**	**0**	**0**
Staurastrum americanum	0	0	0	0	0	0	0
Oedogonophyceae	**0**	**0**	**0**	**0**	**0**	**0**	**0**
Oedogonium sp.	0	0	0	0	0	0	0
Dinophyceae	**64**	**125**	**47**	**63**	**146**	**213**	**245**
Peridinium sp.	64	125	47	63	146	213	245
Xantophyceae	**52**	**42**	**8**	**27**	**9**	**68**	**15**
Goniochloris sp.	39	14	8	27	9	62	15
Pseudopoliedriopsis sp.	13	28	0	0	0	5	0
Chrysophyceae	**0**	**0**	**0**	**63**	**69**	**31**	**37**
Mallomonas sp.	0	0	0	63	69	31	37
Bacillariophyta	**10220**	**9216**	**12717**	**5314**	**284**	**109**	**788**
Aulacoseira granulata	0	0	0	0	0	0	0
Bacillariophyta não identificada	2423	2387	2942	956	52	5	141
Eunotia sp.	5323	4636	7210	3275	163	42	357
Fragilaria sp.	1547	1430	1812	857	69	57	216
Navicula sp.	928	763	745	226	0	5	74
Pinularia sp.	0	0	8	0	0	0	0

Tabela 51 – Densidade (org.L^{-1}) do fitoplâncton do ponto de coleta aleatório (A)

TAXA	0h	3h	48h	96h	144h	192h	240h
Cyanophyceae	**333**	**522**	**508**	**106**	**63**	**27**	**29**
Aphanocapsa delicatissima	319	522	426	85	36	9	0
Geitlerinema acutissimum	0	0	66	11	9	0	14
Merismopedia tenuissima	0	0	0	0	0	0	0
Phormidium interruptum	14	0	8	11	9	0	7
Pseudanabaena minima	0	0	8	0	9	18	7
Chlamydophyceae	**180**	**133**	**74**	**138**	**117**	**108**	**101**
Chlamydomonas sp.	180	133	74	138	117	108	101
Chlorophyceae	**3595**	**3362**	**2682**	**3216**	**4836**	**4763**	**3125**
Acanthosphaera cf. *tenuispina*	1485	1206	681	329	189	370	253
Ankistrodesmus falcatus	0	0	0	0	0	0	0
Coelastrum proboscideum	264	85	139	149	379	244	123
Coelastrum reticulatum	0	0	0	0	0	0	0
Coenochloris pyrenoidosa	305	209	82	180	207	406	245
Crucigenia sp.	0	0	0	0	0	0	0
Eutetramorus fottii	14	0	8	0	0	0	7
Kirchneriella sp.	0	0	0	0	0	0	0
Micractinium bornhemiense	0	0	0	0	0	0	0
Micractinium pusillum	0	0	0	0	0	0	0
Monoraphidium contortum	208	0	33	42	18	9	22
Monoraphidium minutum	652	1358	1074	1698	3085	1552	1025
Oocystis marssoonii	14	0	0	0	0	0	14
Pediastrum duplex	0	0	0	11	0	72	14
Pediatrum tetras	42	38	41	32	0	45	22
Scenedesmus acuminatus	0	9	8	11	0	18	0
Scenedesmus opoliensis	97	47	66	32	27	0	36
Scenedesmus quadricauda	472	380	451	669	839	1922	1249
Scenedesmus sp	0	0	0	0	0	0	0
Scenedesmus spinosus	42	28	98	64	90	117	115
Scenedesmus subispicatus	0	0	0	0	0	0	0
Tetrastrum heteracanthum	0	0	0	0	0	9	0
Tetrastrum triacanthum	0	0	0	0	0	0	0
Zygnemaphyceae	**0**	**0**	**0**	**0**	**0**	**0**	**0**
Staurastrum americanum	0	0	0	0	0	0	0
Oedogonophyceae	**0**	**0**	**0**	**0**	**0**	**0**	**0**
Oedogonium sp.	0	0	0	0	0	0	0
Dinophyceae	**97**	**0**	**164**	**127**	**117**	**568**	**606**
Peridinium sp.	97	0	164	127	117	568	606
Xantophyceae	**97**	**19**	**41**	**53**	**126**	**361**	**188**
Goniochloris sp.	56	19	33	53	99	343	159
Pseudopoliedriopsis sp.	42	0	8	0	27	18	29
Chrysophyceae	**0**	**0**	**0**	**0**	**54**	**117**	**14**
Mallomonas sp.	0	0	0	0	54	117	14
Bacillariophyta	**12894**	**6011**	**5741**	**7355**	**4105**	**2977**	**3933**
Aulacoseira granulata	0	0	0	0	0	0	0
Bacillariophyta não identificada	2929	1178	1156	1666	388	144	79
Eunotia sp.	6357	3238	2953	3513	1425	460	274
Fragilaria sp.	2942	1092	1181	1772	2183	2237	3515
Navicula sp.	666	503	451	403	108	135	65
Pinularia sp.	0	0	0	0	0	0	0

Tabela 52 - Abundância relativa (%) das classes fitoplanctônicas dos mesocosmos no tempo 0h (C: controle, RNC: *runoff* não contaminado, RC: *runoff* contaminado, V: Vertimec® e A: aleatório)

Classes	**C**	**RNC**	**RC**	**V**	**A**
Cyanobacteria	0,5	1,5	6,0	1,2	1,9
Chlamydophyceae	1,7	1,1	1,1	0,8	1,0
Chlorophyceae	27,2	24,1	26,7	16,0	21,7
Zygnemaphyceae	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
Oedogonophyceae	0,1	0,0	0,0	0,0	0,0
Dinophyceae	1,3	1,2	0,4	0,5	0,6
Xantophyceae	0,9	0,2	0,1	0,4	0,6
Chrysophyceae	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
Bacillariophyta	68,2	71,9	65,7	81,1	74,2

Tabela 53 - Abundância relativa (%) das classes fitoplanctônicas dos mesocosmos no tempo 3h (C: controle, RNC: *runoff* não contaminado, RC: *runoff* contaminado, V: Vertimec® e A: aleatório)

Classes	C	RNC	RC	V	A
Cyanobacteria	1,9	0,3	0,5	4,1	5,1
Chlamydophyceae	1,4	0,4	0,2	0,6	1,3
Chlorophyceae	25,5	32,7	29,2	33,0	34,3
Zygnemaphyceae	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
Oedogonophyceae	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
Dinophyceae	0,8	0,6	0,0	0,8	0,0
Xantophyceae	0,6	0,6	0,0	0,3	0,2
Chrysophyceae	0,1	0,0	0,0	0,0	0,0
Bacillariophyta	69,6	65,4	70,0	61,2	59,1

Tabela 54 - Abundância relativa (%) das classes fitoplanctônicas dos mesocosmos no tempo 48h (C: controle, RNC: *runoff* não contaminado, RC: *runoff* contaminado, V: Vertimec® e A: aleatório)

Classes	**C**	**RNC**	**RC**	**V**	**A**
Cyanobacteria	4,4	0,6	1,0	2,5	5,5
Chlamydophyceae	7,2	0,0	0,1	0,6	0,8
Chlorophyceae	35,1	22,3	18,2	16,0	29,7
Zygnemaphyceae	0,0	0,1	0,0	0,0	0,0
Oedogonophyceae	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
Dinophyceae	1,2	0,0	0,6	0,3	1,8
Xantophyceae	1,5	0,3	1,5	0,0	0,4
Chrysophyceae	0,3	0,2	0,6	0,0	0,0
Bacillariophyta	50,3	76,5	78,0	80,5	61,8

Tabela 55 - Abundância relativa (%) das classes fitoplanctônicas dos mesocosmos no tempo 96h. (C: controle, RNC: *runoff* não contaminado, RC: *runoff* contaminado, V: Vertimec® e A: aleatório)

Classes	C	RNC	RC	V	A
Cyanobacteria	2,4	0,7	2,5	6,3	1,0
Chlamydophyceae	7,3	0,2	0,3	0,5	1,2
Chlorophyceae	41,7	13,4	18,2	40,7	30,1
Zygnemaphyceae	0,0	0,0	0,1	0,0	0,0
Oedogonophyceae	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
Dinophyceae	2,0	0,3	0,0	0,6	1,1
Xantophyceae	2,0	1,2	2,5	0,3	0,5
Chrysophyceae	0,7	0,1	0,4	0,6	0,0
Bacillariophyta	44,0	84,2	76,0	51,0	66,1

Tabela 56 - Abundância relativa (%) das classes fitoplanctônicas dos mesocosmos no tempo 144h (C: controle, RNC: *runoff* não contaminado, RC: *runoff* contaminado, V: Vertimec® e A: aleatório)

Classes	C	RNC	RC	V	A
Cyanobacteria	0,6	1,6	4,3	7,2	0,7
Chlamydophyceae	1,7	0,2	2,9	2,5	1,2
Chlorophyceae	50,7	25,2	47,4	80,5	51,9
Zygnemaphyceae	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
Oedogonophyceae	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
Dinophyceae	4,2	0,1	0,6	2,8	1,2
Xantophyceae	5,5	1,4	4,3	0,2	1,3
Chrysophyceae	0,0	0,0	0,9	1,3	0,6
Bacillariophyta	37,3	71,4	39,7	5,5	43,0

Tabela 57 - Abundância relativa (%) das classes fitoplanctônicas dos mesocosmos no tempo 192h (C: controle, RNC: *runoff* não contaminado, RC: *runoff* contaminado, V: Vertimec® e A: aleatório)

Classes	C	RNC	RC	V	A
Cyanobacteria	0,2	1,4	2,3	0,3	0,3
Chlamydophyceae	0,2	1,3	0,8	1,5	1,2
Chlorophyceae	41,9	76,1	64,6	93,7	53,9
Zygnemaphyceae	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
Oedogonophyceae	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
Dinophyceae	5,3	0,3	0,8	2,3	6,3
Xantophyceae	3,6	3,8	10,2	0,7	4,0
Chrysophyceae	6,4	0,0	1,6	0,3	1,3
Bacillariophyta	42,4	17,2	19,8	1,2	33,0

Tabela 58 - Abundância relativa (%) das classes fitoplanctônicas dos mesocosmos no tempo 240h (C: controle, RNC: *runoff* não contaminado, RC: *runoff* contaminado, V: Vertimec® e A: aleatório)

Classes	C	RNC	RC	V	A
Cyanobacteria	0,4	1,5	3,0	1,3	0,4
Chlamydophyceae	0,1	2,2	0,4	0,9	1,2
Chlorophyceae	45,7	72,8	42,6	88,9	39,8
Zygnemaphyceae	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
Oedogonophyceae	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
Dinophyceae	10,0	2,6	1,3	2,0	7,5
Xantophyceae	2,5	3,2	8,7	0,1	2,3
Chrysophyceae	0,7	0,4	0,0	0,3	0,2
Bacillariophyta	40,6	17,3	43,9	6,5	48,6

Tabela 59 - Riqueza do fitoplâncton nos diferentes tratamentos dos mesocosmos durante o período experimental (C: controle, RNC: *runoff* não contaminado, RC: *runoff* contaminado, V: Vertimec® e A: aleatório)

Amostragem	C	RNC	RC	V	A
0h	25	20	16	21	21
24h	18	16	13	18	16
48h	23	23	19	19	23
96h	24	20	18	18	21
144h	22	17	19	17	21
192h	20	18	23	15	22
240h	22	20	16	17	24

Tabela 60 – Diversidade de Shannon-Weaner (bits.ind^{-1}) do fitoplâncton nos diferentes tratamentos dos mesocosmos durante o período experimental (C: controle, RNC: *runoff* não contaminado, RC: *runoff* contaminado, V: Vertimec® e A: aleatório)

Amostragem	C	RNC	RC	V	A
0h	2,23	2,02	2,01	1,80	1,98
24h	2,04	1,91	1,80	1,98	2,07
48h	2,38	1,92	1,91	1,69	2,20
96h	2,42	1,48	1,82	1,91	2,04
144h	2,36	1,49	2,18	1,52	2,00
192h	1,91	1,17	2,17	0,48	2,23
240h	1,92	1,66	2,23	0,80	1,93

Tabela 61 – Diversidade (Simpson) do fitoplâncton nos diferentes tratamentos dos mesocosmos durante o período experimental (C: controle, RNC: *runoff* não contaminado, RC: *runoff* contaminado, V: Vertimec® e A: aleatório)

Amostragem	C	RNC	RC	V	A
0h	0,85	0,82	0,83	0,75	0,79
24h	0,80	0,81	0,79	0,82	0,83
48h	0,87	0,79	0,80	0,73	0,84
96h	0,88	0,66	0,75	0,80	0,82
144h	0,86	0,68	0,83	0,59	0,80
192h	0,77	0,46	0,83	0,17	0,85
240h	0,78	0,63	0,86	0,28	0,76

Tabela 62 – Equitabilidade do fitoplâncton nos diferentes tratamentos dos mesocosmos durante o período experimental (C: controle, RNC: *runoff* não contaminado, RC: *runoff* contaminado, V: Vertimec® e A: aleatório)

Amostragem	C	RNC	RC	V	A
0h	0,37	0,38	0,47	0,29	0,35
24h	0,43	0,42	0,47	0,40	0,49
48h	0,47	0,30	0,36	0,28	0,39
96h	0,47	0,22	0,34	0,38	0,37
144h	0,48	0,26	0,47	0,27	0,35
192h	0,34	0,18	0,38	0,11	0,42
240h	0,31	0,26	0,58	0,13	0,29

Tabela 63 - Densidade celular (cel.mL^{-1}) de *Pseudokirchneriella subcapitata* após 96 h de exposição a amostras dos diferentes tratamentos dos mesocosmos (C: controle, RNC: *runoff* não contaminado, RC: *runoff* contaminado, V: Vertimec® e A: aleatório)

Tratamento	3h	120h	240h
C	150000	440000	816667
RNC	1166667	1663333	1466667
RC	1560000	4976667	3096667
V	760000	1620000	1250000

Tabela 64 – Concentração de clorofila *a* (µg.L^{-1}) de *Pseudokirchneriella subcapitata* após 96 h de exposição a amostras dos diferentes tratamentos dos mesocosmos (C: controle, RNC: *runoff* não contaminado, RC: *runoff* contaminado, V: Vertimec® e A: aleatório)

	Clorofila *a* (µg.L^{-1})		
Tratamento	1º	5º	10º
C	1680,1	1693,5	3691,6
RNC	2747,1	3373,6	2047,9
RC	2105,4	2881,2	2714,6
V	3306,5	2773,9	1967,4

Tabela 65 - Densidade celular (cel.mL^{-1}) para as diferentes concentrações de abamectina testadas (Teste 1).

Amostra	Réplica 1	Réplica 2	Réplica 3	Média
Controle	1470000	2750000	3430000	2550000
Controle (100 µg.L^{-1} solvente)	7040000	6230000	6380000	6550000
Controle (200 µg.L^{-1} solvente)	8490000	8010000	7230000	7910000
1 mg.L^{-1} abamectina	5980000	6550000	6300000	6276667
5 mg.L^{-1} abamectina	7610000	6050000	5660000	6440000
10 mg.L^{-1} abamectina	3780000	3590000	3970000	3780000
15 mg.L^{-1} abamectina	3000000	3250000	2620000	2956667
20 mg.L^{-1} abamectina	3460000	3360000	3270000	3363333

Tabela 66 - Densidade celular (cel.mL^{-1}) para as diferentes concentrações de abamectina testadas (Teste 2).

Amostra	Réplica 1	Réplica 2	Réplica 3	Média
Controle	2580000	2980000	3550000	3036667
Controle (100 µg.L^{-1} solvente)	3290000	2670000	5280000	3746667
Controle (200 µg.L^{-1} solvente)	3730000	3560000	3360000	3550000
1 mg.L^{-1} abamectina	3310000	3290000	3700000	3433333
5 mg.L^{-1} abamectina	2900000	2790000	3040000	2910000
10 mg.L^{-1} abamectina	2390000	2550000	2220000	2386667
15 mg.L^{-1} abamectina	1580000	2330000	1960000	1956667
20 mg.L^{-1} abamectina	980000	770000	540000	763333

Tabela 67 – Concentração de inibição de *P. subcapitata* no teste de sensibilidade para diferentes concentrações ($g.L^{-1}$) de abamectina. Tabela gerada pelo programa computacional ICp 2.0. (Teste 1).

*** Inhibition Concentration Percentage Estimate ***
Toxicant/Effluent: Abamectina
Test Start Date: 18-03-09 Test Ending Date: 22-03-09
Test Species: *P. subcapitata*
Test Duration: 96h

Conc. ID	Number Replicates	Concentration mg.L	Response Means	Std. Dev.	Pooled Response Means
1	3	0.000	627.667	28.572	627.667
2	3	1.000	606.667	41.525	606.667
3	3	5.000	378.000	19.000	378.000
4	3	10.000	295.667	31.723	316.000
5	3	15.000	336.333	9.504	316.000
6	3	20.000	259.667	37.820	259.667

The Linear Interpolation Estimate: 15.1923 Entered P Value: 50

Number of Resamplings: 80 80 Resamples Generated
The Bootstrap Estimates Mean: 13.2146 Standard Deviation: 3.1520
Original Confidence Limits: Lower: 8.7555 Upper: 16.5986
Expanded Confidence Limits: Lower: 1.6750 Upper: 18.1456
Resampling time in Seconds: 0.00 Random_Seed: -189943380

Tabela 68 – Concentração de inibição de *P. subcapitata* no teste de sensibilidade para diferentes concentrações ($g.L^{-1}$) de abamectina. Tabela gerada pelo programa computacional ICp 2.0. (Teste 2).

*** Inhibition Concentration Percentage Estimate ***
Toxicant/Effluent: Abamectina
Test Start Date: 19_10_09 Test Ending Date: 23_10_09
Test Species: *P. subcapitata*
Test Duration: 96h

Conc. ID	Number Replicates	Concentration mg.L	Response Means	Std. Dev.	Pooled Response Means
1	3	0.000	355.000	18.520	355.000
2	3	1.000	343.333	23.116	343.333
3	3	5.000	291.000	12.530	291.000
4	3	10.000	238.667	16.503	238.667
5	3	15.000	195.667	37.501	195.667
6	3	20.000	76.333	22.008	76.333

The Linear Interpolation Estimate: 15.7612 Entered P Value: 50

Number of Resamplings: 80 80 Resamples Generated
The Bootstrap Estimates Mean: 15.6184 Standard Deviation: 0.6965
Original Confidence Limits: Lower: 13.9691 Upper: 16.7763
Expanded Confidence Limits: Lower: 11.9978 Upper: 17.8930
Resampling time in Seconds: 0.00 Random_Seed: 296805042

Tabela 69 – Teste de Dunnett (* Diferença significativa). Comparação entre a densidade celular do controle laboratorial e dos controles contendo solvente dos ensaios crônicos com *P. subcapitata*. Tabela gerada pelo programa TOXSTAT 3.4. (Teste 1).

DUNNETT'S TEST - TABLE 1 OF 2 Ho:Control<Treatment

GROUP	IDENTIFICATION	TRANSFORMED MEAN	CALCULATED IN ORIGINAL UNITS	T STAT	SIG
1	controle	655.000	655.000		
2	controle 100	791.000	791.000	-3.520	
3	controle 200	627.667	627.667	0.707	

Dunnett table value = 2.34 (1 Tailed Value, P=0.05, df=6,2)

DUNNETT'S TEST - TABLE 2 OF 2 Ho:Control<Treatment

GROUP	IDENTIFICATION	NUM OF REPS	Minimum Sig Diff (IN ORIG. UNITS)	% of CONTROL	DIFFERENCE FROM CONTROL
1	controle	3			
2	controle 100	3	90.408	13.8	-136.000
3	controle 200	3	90.408	13.8	27.333

Tabela 70 – Teste de Dunnett (* Diferença significativa). Comparação entre a densidade celular do controle laboratorial e dos controles contendo solvente dos ensaios crônicos com *P. subcapitata*. Tabela gerada pelo programa TOXSTAT 3.4. (Teste 2)

DUNNETT'S TEST - TABLE 1 OF 2 Ho:Control<Treatment

GROUP	IDENTIFICATION	TRANSFORMED MEAN	CALCULATED IN ORIGINAL UNITS	T STAT	SIG
1	controle	303.667	303.667		
2	controle100	298.667	298.667	0.175	
3	controle200	355.000	355.000	-1.795	

Dunnett table value = 2.34 (1 Tailed Value, P=0.05, df=6,2)

DUNNETT'S TEST - TABLE 2 OF 2 Ho:Control<Treatment

GROUP	IDENTIFICATION	NUM OF REPS	Minimum Sig Diff (IN ORIG. UNITS)	% of CONTROL	DIFFERENCE FROM CONTROL
1	controle	3			
2	controle100	3	66.932	22.0	5.000
3	controle200	3	66.932	22.0	-51.333

ANEXO B

01

02

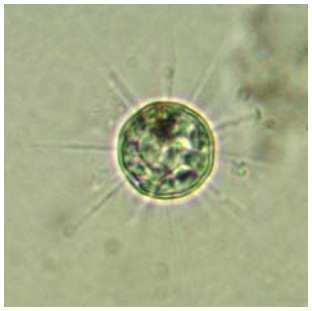
02.1

03

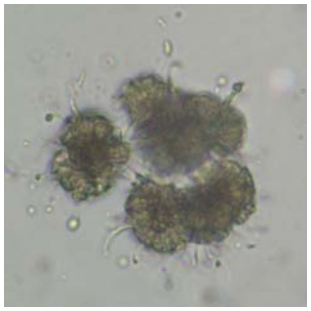
04

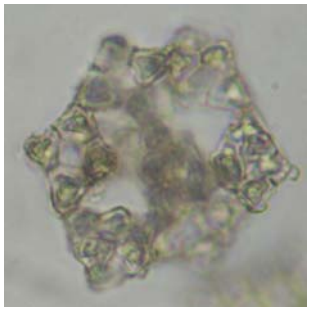
05

06


07

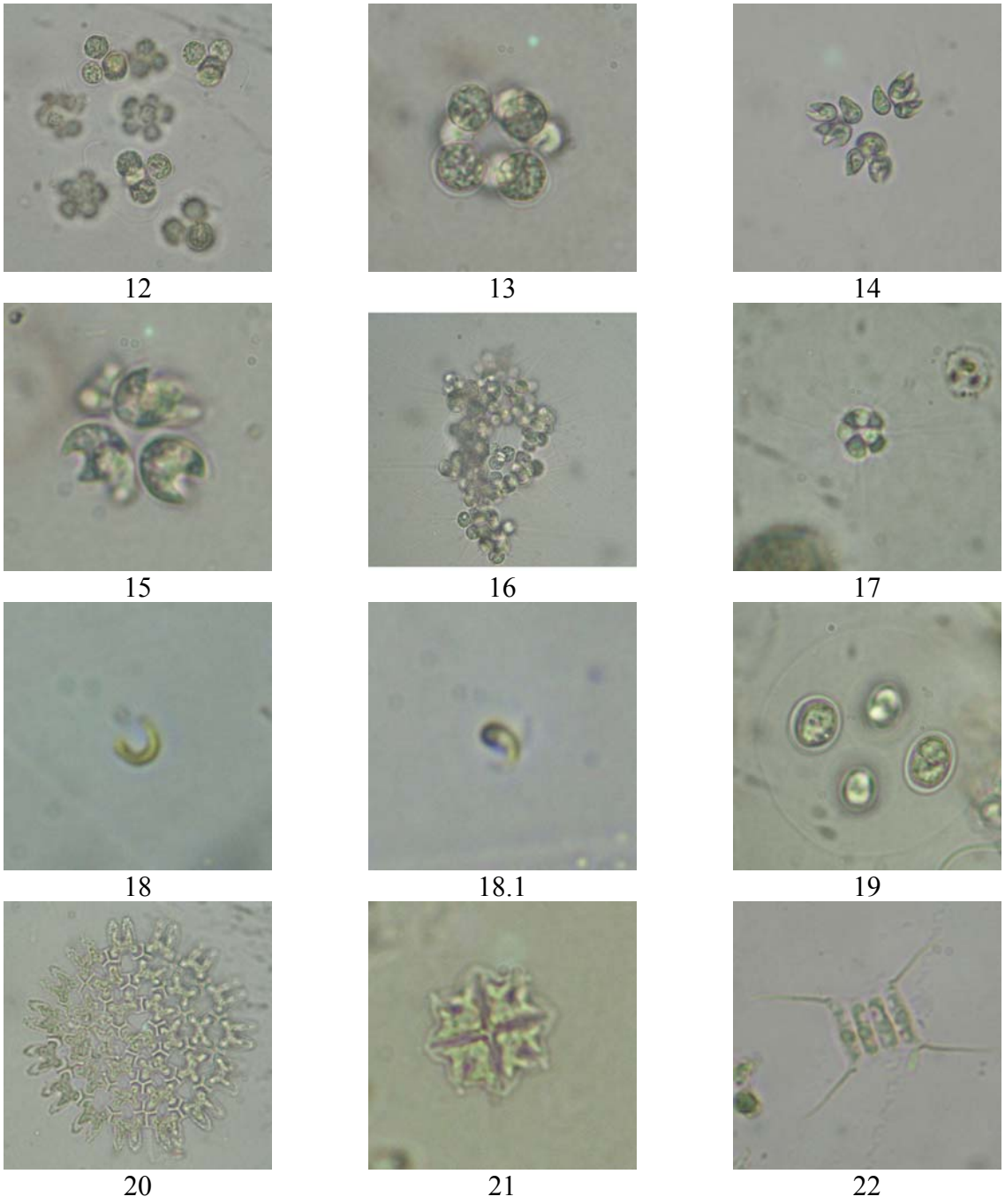
08


09


10

11

Figuras 01–11: 01. *Aphanocapsa delicatissima*. 02 e 02.1. *Geitlerinema acutissimum*. 03. *Merismopedia tenuissima*. 04. *Phormidiidium interruptum*. 05. *Pseudanabaena minima*. 06. *Chamydomonas*. 07 *Acanthosphaera* cf. *tenuispina*. 08 *Ankistrodesmus falcatus*. 09. *Botryococcus terribilis*. 10. *Coelastrum proboscideum*. 11. *Coelastrum reticulatum*.



Figuras 12-22: 12. *Coenochloris pyrenoidosa*. 13. *Eutetramorus fottii*. 14. *Kirchneriella lunaris*. 15. *Kirchneriella obesa*. 16. *Micractinium bornhemiense*. 17. *Micractinium pusillum*. 18 e 18.1. *Monoraphidium minutum*. 19. *Oocystis marssoonii*. 20. *Pediastrum duplex*. 21. *Pediatrum tetras*. 22. *Scenedesmus opoliensis*.

22.1

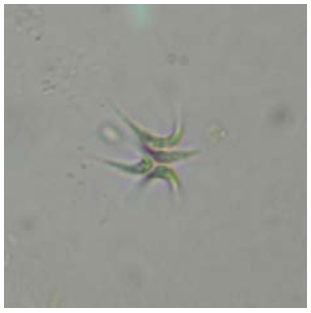
23

24

25

25.1

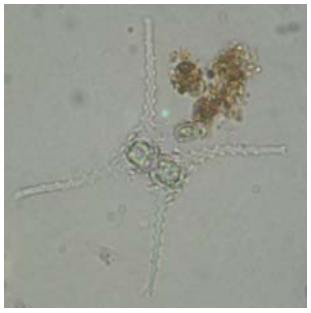
26


27

28

29

29.1


30

31

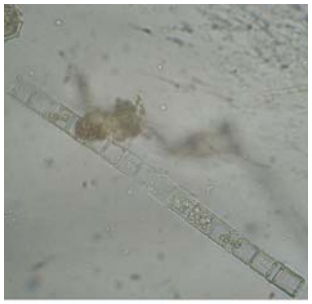
Figuras 22.1-31: 22.1. *Scenedesmus opoliensis*. 23. *Scenedesmus quadricauda*. 24. *Scenedesmus* sp. 25 e 25.1. *Scenedesmus spinosus*. 26. *Scenedesmus subispicatus*. 27. *Selenastrum gracile*. 28. *Tetrastrum heteracanthum*. 29. *Staurastrum americanum*. 29.1. *Staurastrum americanum* (vista apical). 30. *Staurastrum* sp. 31. *Staurodesmus subulatus*.

32

33

34

35

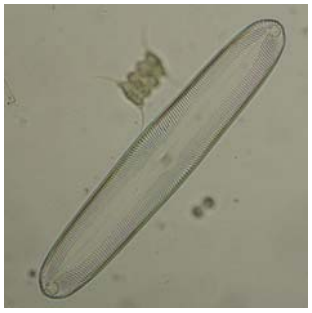

36

37

38

39

40


41

Figuras 32-41: 32. *Phacus helikoides*. 33. *Goniochloris* sp. 34. *Pseudopoliedriopsis* sp. 35. *Mallomonas* sp. 36. *Aulacoseira granulata*. 37. Bacillariophyta não identificada. 38 *Eunotia* sp. 39. *Fragilaria* sp. 40. *Navicula* sp. 41. *Pinularia* sp.