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

JULIANA CRISTINA DE RESENDE

**Efeitos diretos e indiretos do agrotóxico Vertimec[®] 18 CE e
de girinos de *Lithobates catesbeianus* nos ecossistemas de
água doce: um estudo em mesocosmos**

São Carlos - SP
2015

JULIANA CRISTINA DE RESENDE

**Efeitos diretos e indiretos do agrotóxico Vertimec[®] 18 CE e
de girinos de *Lithobates catesbeianus* nos ecossistemas de
água doce: um estudo em mesocosmos**

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

Orientador: Prof. Assoc. Evaldo Luiz Gaeta Espíndola

São Carlos - SP

2015

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

R433e Resende, Juliana Cristina de
 Efeitos diretos e indiretos do agrotóxico Vertimec®
18 CE e de girinos de *Lithobates catesbeianus* nos
ecossistemas de água doce: um estudo em mesocosmos /
Juliana Cristina de Resende; orientador Evaldo Luiz
Gaeta Espíndola. São Carlos, 2015.

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

1. Ecotoxicologia aquática. 2. Mesocosmos. 3.
Comunidade planctônica. 4. Agrotóxicos. 5. Espécies
exóticas. 6. Cadeia trófica. I. Título.

FOLHA DE JULGAMENTO

Candidata: Engenheira **JULIANA CRISTINA DE RESENDE**.

Título da tese: "Efeitos diretos e indiretos do agrotóxico Vertimec® 18 CE e de girinos de *Lithobates catesbeianus* nos ecossistemas de água doce: um estudo em mesocosmos".

Data da defesa: 14/09/2015

Comissão Julgadora:

Resultado:

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

Aprovada

Profa. Dra. **Maria Beatriz Bohrer Morel**
(Universidade Estadual de Campinas/UNICAMP)

Aprovado

Aprovada

Prof. Dr. **Luiz Felipe Mendes de Gusmão**
(Universidade Federal de São Paulo/UNIFESP)

Aprovado

Profa. Dra. **Andréa Novelli**
(Universidade Federal de Sergipe/UFS)

Aprovada

Prof. Dr. **Michiel Adriaan Daam**
(Universidade de Aveiro/Portugal)

Aprovado

Coordenador do Programa de Pós-Graduação em Ciências da Engenharia Ambiental:
Prof. Associado **Frederico Fabio Mauad**

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

AGRADECIMENTOS

Primeiramente, agradeço a Deus por sempre iluminar o meu caminho.

Ao meu orientador, Evaldo Luiz Gaeta Espíndola, pela confiança, apoio, incentivo e pela oportunidade única de aprendizado e crescimento profissional durante esses anos de convívio.

Aos membros da banca avaliadora pela disponibilidade em participar e contribuir para o presente trabalho.

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) pela concessão da bolsa de doutorado direto (Processo nº: 140511/2011-3).

À Ana e à Maressa pela parceria durante o desenvolvimento desta pesquisa.

À Carol, ao Gilberto e à Tati pela colaboração durante a parte experimental dos mesocosmos.

À Ana Letícia pela ajuda na determinação da concentração de abamectina nas amostras de água.

À Lidiane pela ajuda e paciência ao tirar minhas dúvidas na identificação da comunidade zooplânctônica.

À Profa. Maria do Carmo Calijuri por ter permitido a análise das amostras fitoplânctônicas em seu laboratório e a todos do BIOTACE, que me acolheram de maneira tão carinhosa.

Ao Prof. Marcos Gomes Nogueira e à Dra. Maria José Dellamano de Oliveira pelas contribuições apresentadas no exame de qualificação.

Ao Dr. Michiel Daam pelos ensinamentos e valioso aprendizado a respeito dos estudos em mesocosmos.

Ao Prof. José Paulo Sousa pela fundamental ajuda no aprendizado das análises estatísticas utilizadas neste trabalho.

Aos técnicos do NEEA, Amândio e Marcelo, pela ajuda durante as análises laboratoriais e de campo.

A todos os amigos do NEEA pela agradável convivência e ajuda durante todo o período do doutorado.

Aos amigos dos demais núcleos de pesquisa do CRHEA por todos os momentos compartilhados.

Aos funcionários do CRHEA pela disposição em ajudar.

À Gabi e à Joyce por me acolherem com tanto carinho no período final do doutorado.

A todos os meus amigos pelo apoio e por tornarem esse período muito mais leve.

Ao Davi pelo amor, companheirismo, amizade, ânimo e apoio essencial durante todas as etapas do doutorado.

Aos meus familiares, em especial aos meus pais, Celso e Graça, e ao meu irmão, Eduardo, pelo amor incondicional, apoio, compreensão, paciência e incentivo para que eu sempre buscasse os meus objetivos e sonhos.

À minha avó materna (*in memorian*) pelo grande exemplo de vida.

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

"O homem nasceu para aprender, aprender tanto quanto a vida lhe permita."

Guimarães Rosa

RESUMO

RESENDE, J. C. **Efeitos diretos e indiretos do agrotóxico Vertimec® 18 CE e de girinos de *Lithobates catesbeianus* nos ecossistemas de água doce: um estudo em mesocosmos.** 2015. 184 f. Tese (Doutorado) - Escola de Engenharia de São Carlos, Universidade de São Paulo, São Carlos, 2015.

Os ecossistemas aquáticos têm sido afetados pelo uso intensivo de agrotóxicos e pela introdução de espécies exóticas. Para melhor avaliar os efeitos diretos e indiretos dessas atividades sobre as comunidades aquáticas, é essencial a utilização de experimentos em escala mais próxima a real. O objetivo desta pesquisa foi analisar os efeitos do agrotóxico Vertimec® 18 CE, cujo princípio ativo é a abamectina, sobre a comunidade planctônica através de um experimento em mesocosmos com duração de 20 dias. Para reproduzir relações biológicas mais complexas e analisar o impacto da introdução de uma espécie exótica sobre o plâncton, inseriram-se girinos de *Lithobates catesbeianus* em alguns tratamentos. Foram consideradas duas concentrações do agrotóxico ($2 \mu\text{L L}^{-1}$ em dose múltipla e $8 \mu\text{L L}^{-1}$ em dose única) na ausência e presença de girinos, além de dois tratamentos não contaminados (controle com e sem girinos). Variáveis físicas, químicas e biológicas (clorofila *a*, aspectos qualitativos e quantitativos do fitoplâncton e do zooplâncton) da água e do sedimento foram monitoradas. A partir dos resultados obtidos, verificou-se que os girinos causaram um aumento na concentração de nutrientes na água e uma diminuição do oxigênio dissolvido e da densidade planctônica. Nos tratamentos contaminados, como um efeito indireto do incremento da concentração de nutrientes e da mortalidade das espécies de Cladocera e Copepoda, a densidade do fitoplâncton e de algumas espécies tolerantes de Rotifera aumentou. No tratamento com a concentração mais elevada do agrotóxico, registrou-se a morte de todos os girinos, proporcionando um aumento na concentração de nutrientes na água e na densidade de algumas espécies fitoplanctônicas, que alcançaram uma densidade total de $96.919 \text{ ind mL}^{-1}$. Estes resultados indicam que a inserção dos girinos e a adição do agrotóxico causaram efeitos diretos e indiretos sobre a comunidade planctônica e a qualidade da água. Conclui-se que os mesocosmos podem contribuir para a compreensão de tais efeitos e oferecer subsídios ao manejo de ecossistemas de água doce impactados por atividades antrópicas.

Palavras-chave: ecotoxicologia aquática; mesocosmos; comunidade planctônica; agrotóxicos; espécies exóticas; cadeia trófica.

ABSTRACT

RESENDE, J. C. **Direct and indirect effects of the pesticide Vertimec® 18 EC and *Lithobates catesbeianus* tadpoles on freshwater ecosystems: a study in mesocosms.** 2015. 184 p. Thesis (Doctoral) - School of Engineering of São Carlos, University of São Paulo, São Carlos, 2015.

Aquatic ecosystems have been impacted due to the intensive use of pesticides and the introduction of exotic species. It is essential to use more realistic experiments for assessing direct and indirect effects of these activities on aquatic communities. This thesis aimed to analyze the effects of the pesticide Vertimec® 18 EC, whose active ingredient is abamectin, on plankton community through a mesocosm experiment during 20 days. Tadpoles of the species *Lithobates catesbeianus* were introduced in some treatments to simulate complex biological relationships and to evaluate the impact of the introduction of such exotic species on plankton. Different treatments were analyzed, including one case of no contamination (control) and two cases of contamination: 2 $\mu\text{L L}^{-1}$ (multiple dose) and 8 $\mu\text{L L}^{-1}$ (single dose). Such conditions were considered both with absence and presence of tadpoles. Physical, chemical and biological (chlorophyll *a*, qualitative and quantitative aspects of phytoplankton and zooplankton) variables of water and sediment were also monitored. The tadpoles caused an increase in the concentration of nutrients and a decrease of dissolved oxygen concentration and plankton density. In the contaminated treatments, as an indirect effect of the nutrient increase and the mortality of species of Cladocera and Copepoda, the density of phytoplankton and some tolerant species of rotifers increased. In the treatment with the highest concentration of the pesticide, all the tadpoles died. As a result of the death of the tadpoles, there was nutrient enrichment in the water, with an associated increase in the density of some phytoplankton species, reaching a total density of 96,919 ind mL^{-1} . These results suggested that direct and indirect effects occurred on plankton community and water quality through the addition of the contaminant and the tadpoles. We conclude that the mesocosms might contribute to the understanding of these effects and provide subsidies for management of freshwater ecosystems impacted by human activities.

Keywords: aquatic ecotoxicology; mesocosms; plankton community; pesticides; exotic species; food web.

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ABRASCO - Associação Brasileira de Saúde Coletiva

AChE - Acetilcolinesterase

ACP - Análise de Componentes Principais

ANOVA - Análise de Variância Univariada

ANVISA - Agência Nacional de Vigilância Sanitária

APHA - American Public Health Association

bk - peso das espécies apresentadas na PRC

C - Controle

CE - Concentrado emulsionável

CENO - Concentração efetiva de efeito não observado

CE₅₀ - Concentração Efetiva Média - concentração que causa um efeito agudo (por exemplo, imobilidade) a 50% dos organismos-teste

CETESB - Companhia Ambiental do Estado de São Paulo

CG - Controle com girinos

CI₅₀ - Concentração Inibitória Média - concentração que causa a inibição do crescimento de 50% dos organismos-teste

CL - Concentração de clorofila

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

CRHEA - Centro de Recursos Hídricos e Estudos Ambientais

CV - Coeficiente de variação

D - Dominância

DL₅₀ - Dose Letal Média - dose que causa mortalidade de 50% dos organismos-teste

DM - Dose múltipla

DMG - Dose múltipla com girinos

DU - Dose única

DUG - Dose única com girinos

EC - European Commission

EESC - Escola de Engenharia de São Carlos

FO - Frequência de ocorrência

GALD - Maior dimensão linear axial

H' - Diversidade

HPLC - Cromatografia líquida de alta eficiência

IA - Ingrediente ativo

IET - Índice de estado trófico

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

J' - Equitabilidade

LMR - Limite Máximo de Resíduos

MAPA - Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento

MDD - Diferença mínima detectável

MO - Matéria orgânica

MRM - Monitoramento de reações múltiplas

MS - Espectrometria de massas

MVD - Migração vertical realizada por *Daphnia*

NT - Nitrogênio total

OMS - Organização Mundial da Saúde

PA - Princípio ativo

PARA - Programa de Análise de Resíduos de Agrotóxicos em Alimentos

PEAD - Polietileno de alta densidade

PRC - Principal Response Curves

PT - Fósforo total

S - Riqueza

SINITOX - Sistema Nacional de Informações Tóxico-Farmacológicas

USP – Universidade de São Paulo

WHO - World Health Organization

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Transporte de agrotóxicos no ambiente (Adaptado de Gavrilescu, 2005).....	31
Figura 2. Representação esquemática da ordem sequencial de respostas a poluentes em um sistema biológico (Adaptado de Arias et al., 2007).....	34
Figura 3. Representação esquemática das metodologias usadas em ecotoxicologia (Adaptado de Caquet et al., 2000).	40
Figura 4. Fórmula estrutural da abamectina. Fonte: ANVISA (2015).	44
Figura 5. Barril de PEAD utilizado como mesocosmo, com pesos de concreto amarrados em suas laterais. Fonte: Arquivo pessoal (2011).....	51
Figura 6. Esquema da disposição dos mesocosmos no tanque de concreto e suas dimensões em metros.	52
Figura 7. Disposição dos mesocosmos no tanque de concreto localizado próximo ao reservatório do Lobo (Itirapina/Brotas). Fonte: Arquivo pessoal (2011).....	52
Figura 8. Mesocosmo após ter sido posicionado no tanque de concreto, já com o cesto de sombrite e o sistema de aeração. Fonte: Arquivo pessoal (2011).	53
Figura 9. Girino da espécie <i>Lithobates catesbeianus</i> . Fonte: Arquivo pessoal (2011).	55
Figura 10. Coleta das amostras da comunidade fitoplanctônica. Fonte: Arquivo pessoal (2011).	60
Figura 11. Coleta das amostras da comunidade zooplanctônica. Fonte: Arquivo pessoal (2011).	61
Figura 12. Temperatura da água (°C), pH, oxigênio dissolvido (mg L^{-1}) e condutividade ($\mu\text{S cm}^{-1}$) (média $\pm$ desvio padrão, $n=3$) dos diferentes tratamentos durante todo o período experimental.	68
Figura 13. Concentração de nitrogênio total (mg L^{-1}), nitrito ($\mu\text{g L}^{-1}$), nitrato ($\mu\text{g L}^{-1}$) e amônio ($\mu\text{g L}^{-1}$) (média $\pm$ desvio padrão, $n=3$) dos diferentes tratamentos durante todo o período experimental.	69
Figura 14. Concentração de fósforo total ($\mu\text{g L}^{-1}$), fosfato inorgânico ($\mu\text{g L}^{-1}$), fosfato total dissolvido ($\mu\text{g L}^{-1}$) e silicato (mg L^{-1}) (média $\pm$ desvio padrão, $n=3$) dos diferentes tratamentos durante todo o período experimental.	71

Figura 15. Turbidez (UNT) e concentração de clorofila <i>a</i> ($\mu\text{g L}^{-1}$) (média $\pm$ desvio padrão, n=3) dos diferentes tratamentos durante todo o período experimental.	72
Figura 16. Análise de componentes principais (ACP) das variáveis físicas, químicas e biológica (clorofila <i>a</i>) da água considerando todos os tratamentos e coletas. Porcentagem total de variabilidade explicada pelos dois primeiros eixos: 64,9%. C: controle; CG: controle com girinos; DM: dose múltipla; DMG: dose múltipla com girinos; DU: dose única; DUG: dose única com girinos; Temp: temperatura; OD: oxigênio dissolvido; Cond: condutividade; Turb: turbidez; NT: nitrogênio total; NH ₄ : amônio; PT: fósforo total; POI: fosfato inorgânico; PTD: fosfato total dissolvido; SiO ₂ : silicato; Clorof: clorofila <i>a</i>	74
Figura 17. Concentração de nitrogênio total (%), fósforo total ($\mu\text{g g}^{-1}$) e matéria orgânica (%) no sedimento (média $\pm$ desvio padrão, n=3) dos diferentes tratamentos antes da primeira contaminação por Vertimec® 18 CE e no último dia do experimento. *: tratamentos que apresentaram diferença significativa entre a concentração observada no início e no final do experimento.	76
Figura 18. Densidade fitoplanctônica média (ind mL^{-1}) nos diferentes tratamentos durante todo o período experimental.	81
Figura 19. Valores médios de riqueza, diversidade (bits ind^{-1}), dominância e equitabilidade do fitoplâncton nos diferentes tratamentos durante todo o período experimental.	83
Figura 20. Abundância relativa média (%) dos táxons fitoplanctônicos nos diferentes tratamentos durante todo o período experimental.	85
Figura 21. Abundância relativa média (%) dos principais grupos funcionais fitoplanctônicos nos diferentes tratamentos durante todo o período experimental.	87
Figura 22. Principal Response Curves (PRC) resultante da análise dos dados de densidade das espécies fitoplanctônicas durante todo o período experimental. De toda a variância, 34,9% pode ser atribuída aos tratamentos considerados e 11,4%, ao tempo. O peso das espécies (bk) pode ser interpretado como a afinidade de cada espécie com a PRC. Permutações de Monte Carlo demonstraram que uma parte significativa da variância pode ser explicada pelos diferentes tratamentos apresentados no gráfico (p=0,002).	88
Figura 23. Densidade zooplanctônica média (ind L^{-1}) nos diferentes tratamentos durante todo o período experimental.	91

Figura 24. Valores médios de riqueza, diversidade (bits ind ⁻¹), dominância e equitabilidade do zooplâncton nos diferentes tratamentos durante todo o período experimental.	92
Figura 25. Abundância relativa média (%) dos táxons zooplancônicos nos diferentes tratamentos durante todo o período experimental.	95
Figura 26. <i>Principal Response Curves</i> (PRC) resultante da análise dos dados de densidade das espécies zooplancônicas durante todo o período experimental. De toda a variância, 43,9% pode ser atribuída aos tratamentos considerados e 35,2%, ao tempo. O peso das espécies (bk) pode ser interpretado como a afinidade de cada espécie com a PRC. Permutações de Monte Carlo demonstraram que uma parte significativa da variância pode ser explicada pelos diferentes tratamentos apresentados no gráfico (p=0,002).	96
Figura 27. Resumo esquemático da cadeia hipotética de efeitos diretos e indiretos causados pela inserção de girinos de <i>Lithobates catesbeianus</i> sobre a qualidade da água e sobre as comunidades fitoplanctônica e zooplanctônica.	98
Figura 28. Resumo esquemático da cadeia hipotética de efeitos diretos e indiretos causados pela aplicação do Vertimec® 18 CE em dose múltipla (2 µL L ⁻¹) e em dose única (8 µL L ⁻¹) sobre a qualidade da água e sobre as comunidades fitoplanctônica e zooplanctônica.	104
Figura 29. Resumo esquemático da cadeia hipotética de efeitos diretos e indiretos causados pela inserção de girinos de <i>Lithobates catesbeianus</i> e pela aplicação do Vertimec® 18 CE em dose múltipla (2 µL L ⁻¹) sobre a estrutura e funcionamento do ecossistema.	108
Figura 30. Resumo esquemático da cadeia hipotética de efeitos diretos e indiretos causados pela inserção de girinos de <i>Lithobates catesbeianus</i> e pela aplicação do Vertimec® 18 CE em dose única (8 µL L ⁻¹) sobre a estrutura e funcionamento do ecossistema. Obs.: A variável matéria orgânica está acompanhada pelo símbolo (?) por ter sido a única variável do esquema não determinada diretamente no presente trabalho.	109
Figura 31. Distribuição dos coeficientes de variação (%) encontrados durante todo o período experimental, considerando todos os tratamentos e variáveis analisadas (variáveis abióticas da água e do sedimento, clorofila <i>a</i> e densidades fitoplanctônica e zooplanctônica). Total de coeficientes calculados: 633.	117
Figura 32. Boxplot dos coeficientes de variação (%) encontrados para cada uma das variáveis analisadas, considerando todo o período experimental e todos os tratamentos. *: outliers; NT: nitrogênio total; PT: fósforo total; MO: matéria orgânica.	118

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Classificação dos agrotóxicos segundo a OMS com base nos valores de DL ₅₀ (mg kg ⁻¹) para ratos expostos por via oral ou dérmica (WHO, 2010).	28
Tabela 2. Cronograma de coleta de amostras de água, sedimento, fitoplâncton e zooplâncton nos mesocosmos.	56
Tabela 3. Metodologia de análise das variáveis físicas, químicas e biológica da água dos mesocosmos.....	57
Tabela 4. Metodologias e referências utilizadas nas análises das variáveis físicas e químicas do sedimento dos mesocosmos.....	58
Tabela 5. Classificação do estado trófico segundo o índice de Carlson, modificado por Lamparelli (2004) para ambientes lênticos (CETESB, 2014).	59
Tabela 6. Índices ecológicos calculados, suas respectivas fórmulas e descrições.	64
Tabela 7. Concentrações de abamectina (princípio ativo do Vertimec [®] 18 CE) determinadas por HPLC/MS/MS para ambas as dosagens testadas no experimento.	66
Tabela 8. Índice de Estado Trófico (IET) e classificação dos diferentes tratamentos em relação ao grau de trofia durante todo o período experimental. Os valores foram calculados segundo o Índice de Carlson, modificado por Lamparelli (2004) para ambientes lênticos. Supereutrófico: vermelho; Hipereutrófico: roxo.	72
Tabela 9. Porcentagem total de variância explicada pelos componentes principais (1 e 2) e correlações entre esses componentes e as variáveis da água.	73
Tabela 10. Composição taxonômica do fitoplâncton, frequência de ocorrência (FO) e classificação funcional das espécies registradas durante todo o período experimental, considerando todos os tratamentos. **: grupo funcional não identificado.....	77
Tabela 11. Composição taxonômica do zooplâncton, frequência de ocorrência (FO) e classificação funcional das espécies registradas durante todo o período experimental, considerando todos os tratamentos. FP: filtrador pequeno; FM: filtrador médio; FG: filtrador grande; P: predador.....	89
Tabela 12. Sensibilidade de diferentes espécies ao agrotóxico Vertimec [®] 18 CE ou ao seu princípio ativo (abamectina). Todas as concentrações são apresentadas em função do princípio	

ativo (μg abamectina L^{-1}) para facilitar a comparação. Para <i>Chaoborus</i> sp. foram encontrados, na mesma referência, mais de um valor para o endpoint considerado, sendo apresentado o intervalo de valores (mínimo - máximo).....	105
Tabela 13. Variáveis climatológicas durante todo o período experimental. Os dados foram obtidos através da estação climatológica localizada no CRHEA (EESC - USP), em Itirapina (SP) (Cód. ANA 2247196).....	150
Tabela 14. Temperatura da água ($^{\circ}\text{C}$), pH, oxigênio dissolvido (mg L^{-1}) e condutividade ($\mu\text{S cm}^{-1}$) (média $\pm$ desvio padrão, $n=3$) dos diferentes tratamentos durante todo o período experimental.....	151
Tabela 15. Turbidez (UNT) e concentração de clorofila <i>a</i> (média $\pm$ desvio padrão, $n=3$) dos diferentes tratamentos durante todo o período experimental.	152
Tabela 16. Concentração de nitrogênio total (mg L^{-1}) e fósforo total ($\mu\text{g L}^{-1}$) (média $\pm$ desvio padrão, $n=3$) dos diferentes tratamentos durante todo o período experimental.	152
Tabela 17. Concentração de nitrito ($\mu\text{g L}^{-1}$), nitrato ($\mu\text{g L}^{-1}$) e amônio ($\mu\text{g L}^{-1}$) (média $\pm$ desvio padrão, $n=3$) dos diferentes tratamentos durante todo o período experimental.....	153
Tabela 18. Concentração de fosfato inorgânico ($\mu\text{g L}^{-1}$) fosfato total dissolvido ($\mu\text{g L}^{-1}$) e silicato (mg L^{-1}) (média $\pm$ desvio padrão, $n=3$) dos diferentes tratamentos durante todo o período experimental.....	154
Tabela 19. Concentração de nitrogênio total (%), fósforo total ($\mu\text{g g}^{-1}$) e matéria orgânica (%) no sedimento (média $\pm$ desvio padrão, $n=3$) dos diferentes tratamentos antes da primeira contaminação por Vertimec [®] 18 CE (0h) e no último dia do experimento.	155
Tabela 20. Densidade (ind mL^{-1}), riqueza, diversidade (bits ind^{-1}), dominância e equitabilidade da comunidade fitoplanctônica (média $\pm$ desvio padrão, $n=3$) nos diferentes tratamentos durante todo o período experimental.....	158
Tabela 21. Densidade média (ind mL^{-1}) das espécies fitoplanctônicas no tratamento Controle (C) durante todo o período experimental.	159
Tabela 22. Densidade média (ind mL^{-1}) das espécies fitoplanctônicas no tratamento Controle com girinos (CG) durante todo o período experimental.	161
Tabela 23. Densidade média (ind mL^{-1}) das espécies fitoplanctônicas no tratamento Dose múltipla (DM) durante todo o período experimental.	163

Tabela 24. Densidade média (ind mL ⁻¹) das espécies fitoplanctônicas no tratamento Dose múltipla com girinos (DMG) durante todo o período experimental.....	165
Tabela 25. Densidade média (ind mL ⁻¹) das espécies fitoplanctônicas no tratamento Dose única (DU) durante todo o período experimental.....	167
Tabela 26. Densidade média (ind mL ⁻¹) das espécies fitoplanctônicas no tratamento Dose única com girinos (DUG) durante todo o período experimental.....	169
Tabela 27. Densidade (ind L ⁻¹), riqueza, diversidade (bits ind ⁻¹), dominância e equitabilidade da comunidade zooplanctônica (média ± desvio padrão, n=3) nos diferentes tratamentos durante todo o período experimental.....	172
Tabela 28. Densidade média (ind L ⁻¹) das espécies zooplanctônicas no tratamento Controle (C) durante todo o período experimental.....	173
Tabela 29. Densidade média (ind L ⁻¹) das espécies zooplanctônicas no tratamento Controle com girinos (CG) durante todo o período experimental.....	175
Tabela 30. Densidade média (ind L ⁻¹) das espécies zooplanctônicas no tratamento Dose múltipla (DM) durante todo o período experimental.....	177
Tabela 31. Densidade média (ind L ⁻¹) das espécies zooplanctônicas no tratamento Dose múltipla com girinos (DMG) durante todo o período experimental.....	179
Tabela 32. Densidade média (ind L ⁻¹) das espécies zooplanctônicas no tratamento Dose única (DU) durante todo o período experimental.....	181
Tabela 33. Densidade média (ind L ⁻¹) das espécies zooplanctônicas no tratamento Dose única com girinos (DUG) durante todo o período experimental.....	183

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO.....	25
2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	27
2.1. Agrotóxicos	27
2.2. Dinâmica ambiental dos agrotóxicos.....	29
2.3. Agrotóxicos e seus efeitos sobre os organismos e sobre a saúde humana	31
2.4. O impacto das espécies exóticas nos ecossistemas aquáticos.....	35
2.5. A ecotoxicologia na avaliação ambiental	36
2.6. Estudo da comunidade em mesocosmos	40
2.7. A substância teste utilizada: Vertimec® 18 CE	44
3. JUSTIFICATIVA	47
4. OBJETIVOS	49
4.1. Objetivo geral.....	49
4.2. Objetivos específicos	49
5. HIPÓTESES.....	50
6. MATERIAIS E MÉTODOS.....	51
6.1. Contextualização do trabalho	51
6.2. Caracterização do experimento em mesocosmos	51
6.3. Tratamentos analisados, dosagem e aplicação do Vertimec® 18 CE.....	53
6.4. Girinos de <i>Lithobates catesbeianus</i>	55
6.5. Período e frequência de amostragem	56
6.6. Variáveis climatológicas	56
6.7. Coleta, preservação e análise das amostras de água e de sedimento.....	57
6.8. Índice de estado trófico (IET)	58
6.9. Coleta, preservação e análise do fitoplâncton	59
6.10. Coleta, preservação e análise do zooplâncton	61
6.11. Análise dos dados.....	62
6.11.1. Índices ecológicos dos estudos em mesocosmos	62
6.11.2. Tratamento estatístico dos resultados	64
7. RESULTADOS	66
7.1. Condições climáticas durante o experimento	66
7.2. Concentração de abamectina nas amostras.....	66
7.3. Variáveis físicas, químicas e biológica (clorofila <i>a</i>) da água	67
7.4. Variáveis físicas e químicas do sedimento	75
7.5. Comunidade fitoplanctônica	76
7.6. Comunidade zooplanctônica	88

8. DISCUSSÃO	97
8.1. Efeitos da inserção de girinos de <i>Lithobates catesbeianus</i> sobre as comunidades zooplanctônica e fitoplanctônica	97
8.2. Impacto da aplicação única e múltipla do agrotóxico Vertimec® 18 CE nas comunidades zooplanctônica e fitoplanctônica.....	102
8.3. Efeitos combinados do agrotóxico Vertimec® 18 CE e da inserção de girinos de <i>Lithobates catesbeianus</i> sobre as comunidades zooplanctônica e fitoplanctônica	107
8.4. Estudos em mesocosmos versus estudos em laboratório	113
9. CONCLUSÕES	120
10. CONSIDERAÇÕES FINAIS E RECOMENDAÇÕES.....	122
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	125
<i>Apêndice A - Variáveis climatológicas e variáveis abióticas e bióticas (clorofila a) da água e do sedimento.....</i>	<i>149</i>
<i>Apêndice B - Comunidade fitoplanctônica</i>	<i>157</i>
<i>Apêndice C - Comunidade zooplanctônica</i>	<i>171</i>

1. INTRODUÇÃO

As interferências antrópicas na estrutura e funcionamento dos ecossistemas, por meio da crescente expansão demográfica, agrícola e industrial, têm causado um gradativo comprometimento das águas continentais superficiais. Isto se deve, principalmente, à falta de gerenciamento e planejamento ambiental e à utilização irracional dos recursos naturais, causando sérios problemas ambientais, sociais e econômicos.

Dentre as diversas interferências antrópicas, as atividades agrícolas, comumente baseadas na utilização intensiva de agrotóxicos, têm sido consideradas um dos principais fatores de preocupação em nível mundial, sobretudo nos países em desenvolvimento (GUNNELL et al., 2007; KÖHLER; TRIEBSKORN, 2013). Ainda que não se possa negar que os agrotóxicos possibilitaram o aumento da produtividade agrícola e contribuíram para a eliminação de vetores transmissores de doenças, seu uso indiscriminado é responsável por impactos significativos ao ambiente, uma vez que não afetam somente os organismos-alvo.

Assim, os agrotóxicos podem promover a eliminação de organismos benéficos, a redução da biodiversidade, a seleção biológica de organismos indesejáveis, e a alteração da ciclagem de nutrientes e de matéria orgânica, induzindo a um desequilíbrio biológico (CHAGNON et al., 2015; HUA; RELYEA, 2014; KÖHLER; TRIEBSKORN, 2013). Adicionam-se, ainda, os efeitos ocasionados à saúde humana como, por exemplo, os neurológicos (MEYER-BARON et al., 2015; WESSELING et al., 2002) e mutagênicos (MILIGI et al., 2006; SALEEM et al., 2014), além de outros efeitos decorrentes da exposição direta (manuseio, preparo e estocagem do produto), como amplamente discutido por Wilson e Tisdell (2001).

Impactos significativos nos ecossistemas aquáticos também têm ocorrido devido à propagação de espécies exóticas. O número de invasões biológicas nos ecossistemas de água doce em todo o mundo tem apresentado uma tendência de crescimento tanto em número de espécies invasoras como na extensão geográfica abrangida (DODDS; WHILES, 2010; DUDGEON et al., 2006). Essas espécies, muitas vezes, representam uma ameaça para a biodiversidade autóctone, podendo causar mudanças em larga escala nas populações nativas, na estrutura da comunidade e nos processos ecossistêmicos (JOHNSON et al., 2009). Para a maioria das espécies invasoras, no entanto, o conhecimento sobre os impactos ecológicos ocasionados ainda é bastante limitado (PYŠEK et al., 2008).

Frente aos potenciais impactos das invasões biológicas e da contaminação por agrotóxicos, faz-se necessária a realização de programas de monitoramento mais efetivos. Esses programas não devem estar limitados exclusivamente ao levantamento das espécies exóticas e nem à avaliação isolada dos efeitos produzidos pelos ingredientes ativos dos agrotóxicos, uma vez que são os produtos comerciais que são disponibilizados (NOVELLI et al., 2012b). Além disso, quando se avalia a toxicidade de uma amostra ambiental, os efeitos nem sempre dependem de um único contaminante, mas sim da interação de diversos contaminantes (efeito sinérgico) e das condições físicas, químicas e biológicas do meio, resultando na redução ou maximização dos efeitos tóxicos individuais (KÖHLER; TRIEBSKORN, 2013). Esses efeitos, em geral, não podem ser mensurados apenas com a quantificação da concentração dos poluentes no meio, sendo necessária a adoção de outras ferramentas, como os testes de toxicidade, que possibilitam uma análise causa-efeito em diferentes níveis de exposição e de organização biológica.

Verifica-se assim a relevância dos testes ecotoxicológicos para um melhor diagnóstico da saúde dos ecossistemas. Nos últimos anos, é crescente a adoção de estudos ecotoxicológicos em nível de comunidade, a partir da utilização de unidades experimentais maiores como, por exemplo, os mesocosmos. Nesses ensaios, é possível avaliar as respostas estruturais, funcionais e comportamentais da comunidade mediante a introdução de uma espécie exótica ou de um contaminante em condições mais próximas às observadas no ambiente natural, o que pode facilitar a análise dos efeitos diretos e das implicações ecológicas indiretas, subsidiando a avaliação dos efeitos em diferentes níveis de organização biológica (CAQUET et al., 2000). Para Pestana et al. (2010), a avaliação do risco de substâncias tóxicas em ambientes que apresentam estressores naturais é essencial para compreender os seus efeitos tóxicos diretos e indiretos (como, por exemplo, os propagados por predadores e competidores), e assim melhorar a previsão dos impactos da contaminação na estrutura da comunidade e no ecossistema como um todo.

Nesse contexto, a proposta dessa pesquisa foi avaliar, por meio de estudos experimentais em mesocosmos, os efeitos diretos e indiretos da adição do agrotóxico Vertimec[®] 18 CE e de girinos de *Lithobates catesbeianus* nos ecossistemas aquáticos. Pretende-se assim contribuir para a melhor compreensão dos impactos causados pelos agrotóxicos e pela inserção de espécies exóticas no ambiente em diferentes níveis de organização biológica (indivíduo, população e comunidade).

2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1. Agrotóxicos

De acordo com a Lei 7.802, de 11 de julho de 1989, os agrotóxicos e afins são produtos e agentes destinados ao uso nos setores de produção, armazenamento e beneficiamento de produtos agrícolas, nas pastagens, na proteção de florestas e de outros ecossistemas, e também de ambientes urbanos, cuja finalidade seja alterar a composição da flora ou da fauna, a fim de preservá-las da ação danosa de seres vivos considerados nocivos, bem como as substâncias e produtos empregados como desfolhantes, dessecantes, estimuladores e inibidores de crescimento (BRASIL, 1989).

Segundo Gavrilesco (2005), o uso de agrotóxicos é uma prática muito antiga, com registros desde 1000 A.C. No entanto, foi somente no século XX que começaram a surgir maiores preocupações em relação aos efeitos adversos que esses produtos podem causar ao meio ambiente e ao homem. Segundo o autor, na década de 1920, houve uma grande preocupação por parte da opinião pública depois de ter sido demonstrado que algumas frutas e vegetais apresentavam resíduos de agrotóxicos. Ainda assim, após a Segunda Guerra Mundial, verificou-se um aumento tanto no desenvolvimento como no uso de agrotóxicos na agricultura (para controle de pragas) e na saúde pública (para controle de vetores de doenças).

No Brasil, os primeiros registros de utilização de agrotóxicos estão relacionados com os programas de saúde pública direcionados à eliminação de vetores e parasitas. A utilização dos agrotóxicos na agricultura fez parte de um conjunto de tecnologias associadas ao processo de modernização da área ocorrido a partir da década de 1960. Esse processo ficou conhecido como “Revolução Verde” e teve como premissa o aumento da produtividade com o intuito de atender à crescente demanda mundial por alimentos (NUNES et al., 2009).

De acordo com os dados da Associação Brasileira de Saúde Coletiva (ABRASCO), em 2008 o Brasil passou a ser o maior mercado consumidor de agrotóxicos do mundo (CARNEIRO et al., 2015). Segundo o Instituto Brasileiro do Meio Ambiente e dos Recursos Naturais Renováveis (IBAMA), as vendas de agrotóxicos e afins no Brasil cresceram 194,09% entre os anos de 2000 e 2012 (IBAMA, 2013). Em 2013, houve um aumento de 3,8% na venda de ingredientes ativos no país em relação a 2012, alcançando o valor de 495.764,55 toneladas vendidas no ano (IBAMA, 2014).

Os agrotóxicos podem ser classificados com base em diferentes critérios. Quanto a sua origem, por exemplo, os mesmos podem ser inorgânicos (produzidos a partir de compostos de mercúrio, bário, enxofre e cobre), orgânicos (possuem átomos de carbono em sua estrutura) ou de origem vegetal, bacteriana e fúngica (antibióticos, fitocidas e piretrinos) (SANCHES et al., 2003). De acordo com seu modo de ação, eles são divididos em 21 classes, sendo os maiores grupos formados pelos inseticidas, fungicidas, herbicidas, rodenticidas e fumigantes (GAVRILESCU, 2005).

Em relação ao potencial de periculosidade ambiental de um agrotóxico e seus componentes, eles foram alocados pelo IBAMA em quatro classes. Para a realização dessa classificação, foram atribuídas 19 características individuais a cada produto como, por exemplo, sua persistência no ambiente, suas características físicas e químicas, sua toxicidade a diferentes organismos e a capacidade de deslocamento do mesmo, o que resultou na seguinte classificação final (IBAMA, 2009):

- Classe I - Altamente perigoso;
- Classe II - Muito perigoso;
- Classe III - Perigoso;
- Classe IV - Pouco perigoso.

Em função dos riscos para a saúde humana, os agrotóxicos são classificados pela Organização Mundial da Saúde (OMS) de acordo com o valor da dose média letal (DL_{50}) para ratos expostos por via oral ou dérmica. Os valores de DL_{50} representam a quantidade de produto tóxico por quilo de peso vivo que é necessária para matar 50% dos organismos-teste em um teste de toxicidade laboratorial (Tabela 1).

Tabela 1. Classificação dos agrotóxicos segundo a OMS com base nos valores de DL_{50} ($mg\ kg^{-1}$) para ratos expostos por via oral ou dérmica (WHO, 2010).

Classes OMS	Classificação	DL_{50} para ratos ($mg\ kg^{-1}$)	
		Oral	Dérmica
Ia	Extremamente tóxicos	< 5	< 50
Ib	Altamente tóxicos	5-50	50-200
II	Medianamente tóxicos	50-2000	200-2000
III	Pouco tóxicos	2000-5000	
U	Risco agudo não provável	≥ 5000	

Autores como Dawson et al. (2010) e Miller e Bhalla (2010), no entanto, têm questionado a classificação proposta pela OMS, uma vez que ela se baseia em respostas obtidas em experimentos realizados predominantemente com ratos, que possuem mecanismos diferentes do ser humano para metabolizar um agrotóxico após a ingestão ou contato com o mesmo. Dados obtidos pelos autores demonstraram que muitos agrotóxicos considerados como pouco ou medianamente tóxicos para ratos podem ser altamente tóxicos para o ser humano. Tais resultados têm promovido, de forma crescente, uma rediscussão do modelo de produção agrícola adotado, sugerindo a eliminação, redução e substituição de produtos por similares, e maior divulgação de informações a respeito de sua toxicidade, entre outras medidas com efeitos a curto, médio e longo prazo (GUNNELL; EDDLESTON, 2003).

Apesar de reconhecer a importância da classificação toxicológica dos agrotóxicos para prover informações adequadas sobre o potencial tóxico do produto, Garcia et al. (2005) também questionaram a sua aplicação prática, uma vez que essa classificação não influencia diretamente as restrições de uso dos agrotóxicos de maior periculosidade. Para os autores, a classificação toxicológica também deveria ser utilizada como parâmetro para a definição de medidas de controle e de gerenciamento de riscos através, por exemplo, de restrições à comercialização dos agrotóxicos mais perigosos e da definição de taxas e preços diferenciados.

2.2. Dinâmica ambiental dos agrotóxicos

A ampla utilização de agrotóxicos no processo de produção agropecuária tem sido responsável por uma série de modificações ambientais. Segundo Peres et al. (2003), estas modificações estão relacionadas não apenas com a eliminação direta de determinadas espécies (efeito agudo), mas também com alterações a médio e longo prazo, com implicações crônicas para a comunidade biológica, o que resulta em alterações estruturais e funcionais do ecossistema.

Os efeitos da aplicação dos agrotóxicos não são somente locais e monoespecíficos, uma vez que diversos processos promovem a distribuição do contaminante entre diferentes compartimentos e espécies. Assim, uma quantidade significativa dos produtos aplicados em campo é dissipada para o ambiente. De acordo com Pimentel (1991), a porção do agrotóxico aplicado que de fato atinge o organismo-alvo é menor que 0,3%. Já Gavrilescu (2005) afirmou que as perdas para as áreas não alvo são menores. Segundo o autor, 45% da

quantidade de produto aplicada se mantêm na área-alvo e os demais 55% se perdem devido à deriva, má aplicação, volatilização, percolação e transporte superficial.

As diferenças observadas em relação às concentrações de agrotóxicos que se mantêm na área de aplicação ou que chegam a determinado ecossistema se devem ao fato de que o destino desses compostos e o seu transporte são influenciados por uma série de processos físicos, químicos e biológicos, como infiltração, evapotranspiração, volatilização, adsorção, dessorção e biodegradação. A dissipação dos agrotóxicos é determinada por uma combinação entre esses processos, as condições ambientais (temperatura, pluviosidade, ventos), a topografia do terreno, as propriedades físicas e químicas das substâncias envolvidas e do solo (pH, teor de matéria orgânica e argila, umidade), bem como a prática agrícola adotada (ALLEN-KING et al., 2000; BROWN et al., 2006; DORES; DE-LAMONICA-FREIRE, 1999; GAVRILESCU, 2005).

Assim, diferenças podem ser observadas, por exemplo, na distribuição dos agrotóxicos nas regiões tropical e temperada. De acordo com Sanchez-Bayo e Hyne (2011), a elevada precipitação pluviométrica nos trópicos aumenta a importância relativa dos processos de escoamento superficial e lixiviação do solo nessas regiões, o que potencializa o fluxo de partículas e compostos adsorvidos ou dissolvidos para os corpos d'água. No entanto, segundo os autores, ambientes mais quentes e úmidos apresentam taxas de dissipação mais rápidas, o que pode resultar em exposições mais curtas e altas taxas de recuperação dos organismos afetados em regiões tropicais.

As propriedades físicas, químicas e toxicológicas de cada agrotóxico também podem diferir significativamente entre os compostos de diferentes classes químicas e, inclusive, para os de uma mesma classe, o que torna extremamente difícil fazer generalizações sobre os destinos e impactos ambientais dos mesmos. Portanto, um fator isolado não é capaz de prever a distribuição de um agrotóxico, sendo esta resultante da interação entre as propriedades do mesmo e as condições ambientais no local de aplicação.

O ecossistema aquático é considerado o principal destino final desses produtos, uma vez que eles podem alcançar os corpos d'água por meio de diferentes rotas. Como exemplo, pode-se citar a aplicação intencional, deriva e escoamento superficial a partir de áreas onde ocorrem aplicações, lançamento de esgoto municipal e industrial, e descarte inadequado de embalagens usadas (BROCK et al., 2006; SILVA; SANTOS, 2007). De acordo com Lerch e Blanchard (2003) e Schulz (2004), o escoamento superficial é a maior fonte de poluição difusa de agrotóxicos nas águas superficiais.

Após alcançarem os ecossistemas aquáticos, os resíduos dos agrotóxicos interagem continuamente com os sedimentos e a coluna de água, o que possibilita que os organismos estejam expostos aos compostos tóxicos por mais tempo. Essa interação depende, dentre outros fatores, do grau de turbulência e da temperatura da água. Assim, como demonstrado na Figura 1, os agrotóxicos podem ser aderidos ao material em suspensão, depositados no sedimento, absorvidos pela biota, transportados por difusão nas correntes de água ou nos corpos de algumas espécies ou, ainda, volatilizados para a atmosfera (TOMITA; BEYRUTH, 2002).

Figura 1. Transporte de agrotóxicos no ambiente (Adaptado de Gavrilescu, 2005).

2.3. Agrotóxicos e seus efeitos sobre os organismos e sobre a saúde humana

Como afirmou a Organização Mundial da Saúde, os agrotóxicos são por natureza potencialmente tóxicos a organismos alvo e não alvo, incluindo humanos, e precisam ser usados com cuidado e dispostos de maneira adequada (WHO, 2015). Todavia, a elevada

toxicidade de alguns agrotóxicos, o uso desordenado dos mesmos (aplicação de dosagens mais elevadas que as recomendadas, falta de utilização de equipamentos de proteção e elevada frequência de aplicação, por exemplo) e a existência de mecanismos de vigilância pouco efetivos têm sido responsáveis por uma série de impactos tanto para o meio ambiente como para a saúde humana.

Inclui-se nos efeitos à saúde humana, a intoxicação ocasionada pelo consumo de água e alimentos contaminados, pela exposição direta dos trabalhadores rurais e pelo uso intencional do produto para suicídio, como vem sendo amplamente discutido em diversas instâncias, principalmente em relação aos países em desenvolvimento (BERTOLOTE et al., 2006; EDDLESTON, 2000; EDDLESTON et al., 2002; FARIA et al., 2014; GUNNELL; EDDLESTON, 2003; LONDON et al., 2005; LOVISI et al., 2009; MILLER; BHALLA, 2010). Gunnell et al. (2007) estimaram que aproximadamente 259.000 casos de suicídios ocorram no mundo por ano através da ingestão de agrotóxicos, o que representa um percentual entre 27% e 37% do total de casos de suicídio. Segundo os autores, a maioria dos casos ocorre em países da África, da América Central e do Sul, e da Ásia, mediante a utilização intencional de agrotóxicos organofosforados e/ou organoclorados.

No Brasil, devido às suas características de país com elevada produção agrícola e com estrutura social insuficiente para controle desta situação, os dados de contaminação da população rural e urbana por agrotóxicos têm indicado a gravidade da situação em relação à saúde pública (FARIA et al., 2014). Entre os anos de 1980 e 2006, foram registrados 158.952 casos de suicídio no país, dos quais 41,5% foram relacionados com o uso de agrotóxicos, ocorrendo principalmente em áreas rurais, com o sexo masculino e na faixa etária acima de 20 anos (maior incidência entre 40-70 anos) (LOVISI et al., 2009). De acordo com o último levantamento realizado pelo Ministério da Saúde através do Sistema Nacional de Informações Tóxico-Farmacológicas (SINITOX), no ano de 2012, foram registradas 4.657 intoxicações por agrotóxicos de uso agrícola no Brasil. Deste número, 130 resultaram em óbito, o que representa 32,7% dos casos de óbito por intoxicação no país no mesmo ano (SINITOX, 2015).

Vale ressaltar que os dados apresentados pelo Ministério da Saúde provavelmente subestimam o número de ocorrências, pois a subnotificação de casos de intoxicação por agrotóxicos no Brasil é um fato comum, principalmente em áreas rurais (ARAÚJO et al., 2007; RIGOTTO et al., 2014; STOPPELLI; CRESTANA, 2005). Além disso, os casos registrados se referem, geralmente, às intoxicações agudas, que apresentam sintomas imediatos, enquanto as crônicas se manifestam em longo prazo e podem não ser notificadas

ou, no momento do registro, não serem atribuídas ao uso de agrotóxicos (RIGOTTO et al., 2014). Chama-se a atenção para os problemas crônicos ainda parcialmente conhecidos como alterações reprodutivas, distúrbios endócrinos, efeitos mutagênicos, citotóxicos, carcinogênicos e no sistema nervoso central (MEYER-BARON et al., 2015). Esses problemas podem ser ocasionados pelo contato direto ou indireto com esses produtos em baixas concentrações e por tempo prolongado, e pelo consumo de combinações de várias substâncias ao longo da vida, que podem ter efeitos sinérgicos (MEYER-BARON et al., 2015; SALEEM et al., 2014).

Stoppelli e Crestana (2005), por exemplo, observaram, a partir de um levantamento dos casos de câncer registrados entre os anos de 2000 e 2002 em um hospital da região central de São Paulo, que a probabilidade de pessoas expostas diretamente a agrotóxicos (agricultores) adquirirem câncer era 1,6 vezes maior que a de não expostos (pessoas com outras profissões). Em um estudo desenvolvido por Miligi et al. (2006) em onze regiões da Itália, das quais nove estão localizadas em áreas agrícolas, as conclusões também indicaram que os agrotóxicos foram um importante fator de risco associado ao desenvolvimento de câncer. Segundo os autores, estudos epidemiológicos têm verificado uma relação entre a exposição a herbicidas e o desenvolvimento de linfoma e sarcoma, bem como entre inseticidas organoclorados e leucemia, sarcoma e linfoma.

Araújo et al. (2007), em um estudo realizado com 102 pequenos agricultores de uma comunidade agrícola de Nova Friburgo (RJ), constataram, através de exames toxicológicos, episódios leves a moderados de intoxicação aguda por organofosforados, além de diagnosticarem quadros de neuropatia tardia, síndrome neurocomportamental e distúrbios neuropsiquiátricos associados ao uso crônico de agrotóxicos. A pesquisa desenvolvida por Wessling et al. (2002) também demonstrou efeitos em diversas funções neurológicas de plantadores de banana da região Atlântica da Costa Rica, incluindo efeitos memoriais, psicomotores e visuomotores, além de sintomas neuropsiquiátricos. Efeitos crônicos também são observados na pele, pulmões, fígado, rins e sistema respiratório, conforme apresentado por Carneiro et al. (2015).

A população também pode estar exposta aos agrotóxicos através dos alimentos. No Brasil, o Programa de Análise de Resíduos de Agrotóxicos em Alimentos (PARA) da Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) tem constatado, com frequência, a presença desses produtos em alimentos. Dentre os alimentos analisados em 2012, 59% dos morangos, 48% das abobrinhas e 45% das alfaces, dentre outros alimentos, apresentaram ingredientes

ativos (IAs) de agrotóxicos acima do Limite Máximo de Resíduos (LMR) permitido ou resíduos de IAs não autorizados para uma determinada cultura (ANVISA, 2013, 2014).

Soma-se ainda à questão do consumo de agrotóxicos por meio dos alimentos e das intoxicações ocupacionais, a ingestão desses compostos através da água. Em estudo realizado em uma região de cultivo de tomate no município de Paty de Alferes (RJ), Veiga et al. (2006) verificaram a contaminação de sistemas hídricos utilizados para consumo humano direto por organofosforados e carbamatos. Moraes et al. (2003) também relataram a presença de agrotóxicos e seus metabólitos na água de rios e nascentes do Vale do Ribeira (SP) em concentrações acima do recomendado para consumo tanto pelas autoridades brasileiras como pelas europeias.

Além dos riscos para a saúde humana, a introdução de agrotóxicos no meio ambiente pode ocasionar a modificação da dinâmica bioquímica natural do meio pela pressão de seleção exercida sobre os organismos, tendo como consequência mudanças no funcionamento do ecossistema afetado (KÖHLER; TRIEBSKORN, 2013). Os efeitos nos organismos podem ser detectados em diferentes níveis de organização biológica e pequenas concentrações já são, muitas vezes, suficientes para causar um desequilíbrio na cadeia alimentar (Figura 2).

Figura 2. Representação esquemática da ordem sequencial de respostas a poluentes em um sistema biológico (Adaptado de Arias et al., 2007).

Em níveis de organização mais baixos (respostas moleculares e celulares, e alterações bioquímicas e fisiológicas, por exemplo), os efeitos acontecem de maneira mais rápida e, por isso, esse tipo de bioindicador é um importante sinalizador de exposição a contaminantes. Um

exemplo de bioindicador é a enzima acetilcolinesterase (AChE), que é empregada na avaliação da contaminação ambiental por agentes anticolinesterásicos, ou seja, compostos que inibem a sua atividade. Os organofosforados e carbamatos são exemplos de agrotóxicos largamente utilizados nas atividades agrícolas que são considerados importantes agentes anticolinesterásicos (ARIAS et al., 2007). Em diversos estudos, também têm sido constatados impactos significativos dos agrotóxicos em níveis superiores de organização (indivíduo, população e comunidade) (ARIAS et al., 2007; BRAUN et al., 2012; CHANG et al., 2005; CHELINHO et al., 2012; HANAZATO, 1991, 1998, 2001; METCALFE, 1989; NOVELLI et al., 2012a, 2012b; NUNES; ESPÍNDOLA, 2012).

Portanto, os agrotóxicos podem causar efeitos nocivos não apenas em um grupo restrito de organismos, mas sim em diversos grupos e níveis de organização biológica. Esses produtos não afetam apenas os trabalhadores expostos diretamente a eles e os organismos-alvo. Eles podem exercer uma pressão de seleção sobre os organismos não alvo, modificar a cadeia trófica e, conseqüentemente, provocar um desequilíbrio em todo o ecossistema.

2.4. O impacto das espécies exóticas nos ecossistemas aquáticos

Além da poluição química, os ecossistemas aquáticos também têm sido impactados pela redução dos habitats naturais e pela introdução de espécies exóticas (DODDS; WHILES, 2010; DUDGEON et al., 2006; STAMPFLI et al., 2014). O transporte intencional ou não de animais e plantas para regiões diferentes de sua origem tem aumentado o número de espécies exóticas em muitos ambientes, uma tendência que é bastante evidente nos ecossistemas de água doce (DUDGEON et al., 2006; STRAYER, 2010).

Dentre as estratégias de adaptação que podem contribuir para o estabelecimento de espécies exóticas, podem-se citar maturação precoce, elevada taxa de fecundidade, hábitos alimentares generalistas e capacidade de se reproduzir tanto sexualmente como assexuadamente (ALONSO; CASTRO-DÍEZ, 2008; GRABOWSKI et al., 2007). As necessidades ecológicas da espécie também podem ser indicadoras da sua possibilidade de adaptação em diferentes ambientes. Espécies que apresentam amplos limites de tolerância ecológica a variações de temperatura e salinidade, por exemplo, tendem a sobreviver em ambientes mais diversos do que as com estreitas faixas de tolerância (ALONSO; CASTRO-DÍEZ, 2008). Os habitats mais facilmente invadidos também apresentam um conjunto de características comuns. Ambientes com climas amenos, nichos amplos, baixa biodiversidade,

ausência de predadores das espécies invasoras e com altos níveis de perturbação são geralmente mais propensos a serem invadidos (WONHAM, 2006).

Os impactos causados pelas espécies exóticas sobre os ecossistemas e suas espécies nativas podem variar significativamente dependendo da espécie, da extensão da invasão e da vulnerabilidade do ecossistema ocupado. Segundo Kettunen et al. (2009), os principais efeitos ecológicos negativos causados por invasões biológicas são a eliminação de espécies nativas devido à predação ou competição por recursos; toxicidade; hibridização; hospedagem de parasitas ou patógenos; modificações na cadeia trófica; alteração dos fluxos de energia e nutrientes; e declínio da biodiversidade. Os autores também ressaltaram os impactos que essas espécies podem causar nos serviços ecossistêmicos como a eutrofização de reservatórios de abastecimento de água e o entupimento de tubulações. Um exemplo de espécie invasora bem sucedida no Brasil é o mexilhão dourado (*Limnoperna fortunei*), que é considerado responsável por uma série de danos nas tubulações de hidrelétricas e estações de tratamento de água ao longo da bacia do rio Paraná (BOLTOVSKOY et al., 2006).

Para a maioria das espécies exóticas, no entanto, o conhecimento sobre os seus efeitos diretos e indiretos ainda é bastante limitado (PYŠEK et al., 2008). Assim, considerando os potenciais impactos das invasões biológicas e a complexidade das interações entre invasores e espécies nativas, a realização de experimentos para identificar como eles interagem e as consequências para o ecossistema é particularmente importante.

2.5. A ecotoxicologia na avaliação ambiental

A ecotoxicologia é uma importante ferramenta para a detecção dos impactos causados por contaminantes ou pela inserção de outras espécies. Ela passou a ocupar lugar de destaque por permitir a determinação dos impactos de um contaminante através da análise das respostas de espécies com aspectos biológicos e ecológicos bem conhecidos, que sejam sensíveis às perturbações ambientais e representativas da teia trófica. O impacto causado nos organismos testados pode desencadear uma série de respostas, com possíveis reflexos em todos os níveis tróficos (LEBBORONI et al., 2006).

De acordo com Zagatto e Bertoletti (2006), ecotoxicologia é a ciência que estuda os efeitos dos poluentes nos organismos e como esses interagem com seus habitats. Dessa maneira, possibilita a avaliação dos danos ocorridos nos diversos ecossistemas após uma contaminação e facilita a previsão de impactos futuros decorrentes da comercialização de

produtos químicos e de lançamentos de despejos em um determinado ambiente. Segundo os autores, os testes ecotoxicológicos devem ser considerados como uma análise imprescindível no controle da poluição hídrica, pois são capazes de detectar os efeitos de contaminantes sobre a biota, enquanto as análises químicas apenas identificam e quantificam as substâncias presentes nas amostras ambientais. Para Dornfeld et al. (2006), essas duas análises são convergentes e complementares, tornando possível um melhor diagnóstico da qualidade ambiental do ecossistema estudado se utilizadas em conjunto.

Os efeitos toxicológicos podem ser classificados em agudos ou crônicos. O agudo é aquele identificado, em um curto período de tempo, após a ingestão, o contato com a pele ou a inalação de um produto tóxico. Já o crônico é aquele observado em testes com longos períodos de duração (grande parte do ciclo de vida do organismo-teste). Esses efeitos incluem alterações no crescimento, desenvolvimento e reprodução dos organismos, e respostas farmacocinéticas, fisiológicas e comportamentais, que são expressas através de critérios mensuráveis como a taxa de sobrevivência, porcentagem de ovos não viáveis e alterações no tamanho e peso (LUNA et al., 2004).

Diferentes organismos podem ser utilizados em estudos ecotoxicológicos, tais como bactérias, fungos, algas, microcrustáceos, plantas e peixes. Para se escolher quais desses organismos serão utilizados, devem ser considerados diversos fatores como seu valor ecológico e econômico, sensibilidade frente aos fatores envolvidos no estudo, abundância, distribuição geográfica e ciclo de vida (APHA, 2005). Destaca-se ainda a importância de se avaliar a disponibilidade de informações sobre o cultivo da espécie, suas necessidades nutricionais e fisiológicas, e sua relevância para o propósito do estudo. De acordo com Van den Brink et al. (2000), diferentes organismos-teste podem responder de maneiras distintas a um determinado fator de estresse. Assim, quanto maior o número de espécies de diferentes níveis tróficos testadas, mais abrangente será a compreensão dos efeitos produzidos pelo contaminante.

Dentre os organismos mais recomendados para ensaios de avaliação de toxicidade estão os zooplânctônicos, pois além de ocuparem uma posição central na cadeia alimentar dos ambientes aquáticos, eles também são um dos grupos mais sensíveis a produtos químicos como, por exemplo, os agrotóxicos (HANAZATO, 2001). As algas também são importantes na avaliação do risco ecológico, pois geralmente são os produtores primários dominantes na cadeia trófica dos ecossistemas aquáticos e desempenham importante papel na variação da qualidade das águas naturais (LEWIS, 1995). Além disso, os organismos fitoplânctônicos

apresentam uma rápida resposta fisiológica, o que possibilita a detecção dos efeitos causados por substâncias tóxicas em um curto período de tempo (SICKO-GOAD; STOERMER, 1988).

Embora a utilização de anfíbios em testes de toxicidade ainda seja pequena se comparada a outros organismos, o interesse no emprego desses animais como bioindicadores da qualidade da água tem se expandido consideravelmente. Isto se deve principalmente ao fato deles serem capazes de indicar vários efeitos subletais quando expostos a contaminantes como, por exemplo, alterações morfológicas, fisiológicas, reprodutivas e comportamentais (PECHMANN; WILBUR, 1994). Os anfíbios possuem um complexo ciclo de vida que abrange estágios aquáticos e terrestres, o que, conseqüentemente, faz com que eles possam estar expostos aos poluentes dos dois ambientes. Além disso, eles possuem pele e ovos permeáveis, e apresentam brânquias e/ou pele em contato muito próximo com a água e com o solo, aumentando a possibilidade de absorção de poluentes (ROWE; DUNSON, 1994).

Os testes de toxicidade em laboratório geralmente envolvem a exposição dos organismos aos contaminantes na ausência de outros fatores de estresse, tanto bióticos (competição, predação ou baixa disponibilidade de alimentos, por exemplo) quanto abióticos (temperatura, pH e concentração de oxigênio diferentes do ideal para a sobrevivência da espécie, por exemplo) (SIH et al., 2004). Embora eles sejam essenciais para a avaliação da toxicidade dos produtos químicos e facilmente replicáveis, sua representatividade ecológica é limitada.

Para extrapolar os resultados obtidos em laboratório e compreender os potenciais efeitos indiretos que os agrotóxicos podem produzir quando as espécies estão inseridas no contexto de comunidade natural das mesmas, é necessário considerar cuidadosamente como as condições experimentais se relacionam com as naturais do organismo no ambiente (RELYEA, 2006; SIH et al., 2004). Em um ecossistema natural, os fatores bióticos e abióticos exercem uma grande influência na distribuição dos poluentes, bem como na estrutura de uma comunidade, podendo interferir tanto direta quanto indiretamente na resposta dos indivíduos. Assim, tem sido sugerida a utilização de testes em "ecossistemas experimentais" como uma análise complementar para a avaliação de risco, uma vez que esses testes permitem que outros fatores, como a inserção de outras espécies no meio, sejam avaliados de forma conjunta, aproximando-se mais do ambiente natural (LALLI, 1990; RELYEA, 2006; SIH et al., 2004).

Lalli (1990) definiu os experimentos em ecossistemas experimentais como os realizados em um sistema fisicamente confinado, autossustentável, multitrófico, com tamanho suficiente para que as amostragens e medidas sejam realizadas sem interferir seriamente na estrutura e dinâmica do sistema, e com duração superior ao tempo de geração do penúltimo

nível trófico presente no meio. Para Graney et al. (1995), eles foram desenvolvidos como uma alternativa para os problemas verificados nos testes de laboratório e podem ser classificados em dois tipos principais: os naturais, em que se utiliza o ambiente como um todo para a realização do experimento; e os simulados, em que são utilizadas subseções dos ambientes naturais, incluindo os construídos artificialmente em tanques ou represas.

Um exemplo de ecossistema experimental são os mesocosmos, que são definidos por Odum (1984) como sistemas de tamanho médio, estando entre os microcosmos de laboratório e os grandes macrocosmos do mundo real. Para Brock et al. (2015), eles são sistemas delimitados que são construídos artificialmente com amostras do ambiente natural ou ainda partes fechadas do ambiente natural. Boone e James (2005), por sua vez, não determinaram uma faixa de tamanho para a classificação dos mesocosmos, definindo-os como sistemas externos artificiais, aquáticos ou terrestres, que sejam independentes e apresentem cadeias alimentares e processos representativos dos sistemas naturais.

Assim, os experimentos em mesocosmos tornam possível o estudo dos efeitos de contaminantes e até mesmo de modificações na cadeia trófica (por exemplo, através da inserção de espécies exóticas) sobre os organismos e comunidades em condições seminaturais simuladas e controladas. Eles apresentam vantagens em relação aos estudos de laboratório, visto que se aproximam mais da realidade, sendo influenciados pela partição do contaminante entre a água e o sedimento, e incorporando condições abióticas naturais (como variações de temperatura, luz e pH), que podem influenciar as respostas dos organismos (MASUTTI, 2004). Segundo Daam et al. (2008a), esses sistemas de teste fornecem maior realismo ecológico em relação aos testes de laboratório, uma vez que incluem processos ecológicos como as interações entre populações de plâncton.

Alguns autores, no entanto, fazem críticas em relação ao uso dos mesocosmos. De acordo com Carneiro et al. (2005), nesse tipo de experimento, há um elevado efeito de borda das paredes da estrutura, uma limitação temporal, e certa restrição de processos biogeoquímicos devido ao confinamento do sistema. Além disso, para Graney et al. (1995), são sistemas que demandam um elevado custo para a sua construção e manutenção, e com o tempo podem ocorrer divergências entre os sistemas replicados. Relyea (2006) também afirma que experimentos em mesocosmos demandam mais tempo, energia e recursos financeiros para a sua realização, mas, segundo o autor, suas limitações são compensadas por permitirem uma melhor compreensão dos impactos antrópicos nas comunidades aquáticas.

Para Caquet et al. (2000), o uso de mesocosmos refina os métodos clássicos de avaliação de risco ecotoxicológico, pois fornece condições para um melhor entendimento dos

efeitos ambientais de substâncias químicas e das alterações na cadeia trófica. Eles permitem a observação dos efeitos diretos e das implicações ecológicas indiretas, tornando possível avaliar os efeitos ocorridos sobre as partes (indivíduos, populações e comunidades) e o todo (ecossistema) simultaneamente. Dessa maneira, eles contribuem, em associação aos 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).

2.6. Estudo da comunidade em mesocosmos

O conhecimento da estrutura e padrões de variação das comunidades aquáticas, em diferentes escalas, é essencial para entender o funcionamento e os mecanismos de controle dos ecossistemas (ESTEVEZ, 2011). Experimentos realizados em mesocosmos, com várias espécies, possibilitam a compreensão do comportamento dos ecossistemas aquáticos frente a um ou mais elementos estressores, diminuindo, desse modo, as incertezas associadas com a

extrapolação dos resultados derivados apenas de testes de toxicidade uniespecíficos (GRANEY et al., 1995).

Quando vários integrantes de uma comunidade são analisados, além dos efeitos diretos causados em uma determinada espécie, efeitos indiretos gerados por predadores e competidores podem estimular respostas, tanto positivas quanto negativas, nas populações (RELYEA; DIECKS, 2008). Segundo Fleeger et al. (2003), os poluentes podem exercer efeitos indiretos em espécies tolerantes por meio de uma série de mecanismos ecológicos a partir das denominadas “cascatas tróficas”, em que os efeitos são propagados através das interações tróficas. Nesse contexto, o predador pode influenciar os níveis tróficos inferiores (“top-down”), e a concentração de nutrientes, alimento e as presas podem influenciar os níveis tróficos superiores (“bottom-up”) (FLEEGER et al., 2003).

Como afirmou Hanazato (1998), substâncias tóxicas podem alterar a densidade populacional de predadores e presas de maneiras distintas, afetando indiretamente as interações presa-predador na comunidade. De acordo com Boone e James (2005), estudos em mesocosmos indicam que os efeitos indiretos da contaminação podem ser mais importantes para o desequilíbrio das populações de organismos do que os efeitos diretos causados na sobrevivência, fisiologia e metabolismo do indivíduo.

Segundo Relyea e Mills (2001), concentrações de contaminantes consideradas seguras em laboratório podem não ser seguras na natureza, porque até mesmo baixas concentrações podem interagir sinergeticamente com estressores naturais como os predadores. Portanto, a existência ou não de outras espécies e as suas densidades também podem interferir nas respostas dos organismos. É preciso acompanhar as alterações na cadeia trófica para entender a multiplicidade de possíveis efeitos indiretos que os agrotóxicos e outras alterações do ambiente podem produzir quando as espécies são incorporadas ao seu contexto natural de comunidade (RELYEA, 2006). Em uma comunidade com a presença de fitoplâncton, zooplâncton, perifíton e girinos, por exemplo, a diminuição da comunidade zooplanctônica devido à presença de um inseticida pode ocasionar o aumento da comunidade fitoplanctônica, o que reduziria a quantidade de luz disponível para o perifíton, reduzindo também a comunidade perifítica. Devido ao fato dos girinos utilizarem o perifíton como recurso alimentar, o efeito poderia então se estender ao crescimento e desenvolvimento dos girinos (RELYEA; DICKES, 2008).

Um exemplo característico de estresse na população zooplanctônica em seu habitat natural ocasionado por pressões naturais e antrópicas é a migração vertical diurna (MVD) realizada por *Daphnia*. Durante o dia, para fugir da predação por peixes, os organismos desse

gênero migram para baixo em águas escuras e encontram baixa concentração de oxigênio e escassez de recursos alimentares, subindo no período da noite para se alimentarem de algas. O estresse provocado durante a MVD, em decorrência da deficiência de alimento e oxigênio, torna a *Daphnia* mais sensível aos efeitos dos agrotóxicos em condições naturais (HANAZATO, 2001).

Os agrotóxicos são responsáveis também por importantes alterações comportamentais e morfológicas, que podem afetar as interações biológicas existentes no meio e intensificar o efeito do contaminante. Hanazato e Dodson (1993) verificaram que quatro espécies de *Daphnia* (*D. pulex*, *D. galeata mendotae*, *D. lumholtzi* e *D. retrocurva*) apresentaram alterações morfológicas em resposta à presença do inseticida carbaril. Segundo os autores, o desenvolvimento de estruturas protuberantes em resposta à exposição a inseticidas é um fenômeno comum nesse gênero e pode ser resultado de estímulos sobre o sistema nervoso dos organismos. Segundo Hanazato e Dodson (1992), a energia despendida com essas alterações morfológicas em *Daphnia* reduz a sua taxa de crescimento populacional. Os autores demonstraram também que, na presença de sinais químicos de um predador, o agrotóxico carbaril reduziu ainda mais a taxa de crescimento e produtividade de *Daphnia*.

De acordo com Hanazato (2001), agrotóxicos podem prejudicar a capacidade de natação dos organismos zooplancônicos e diminuir a taxa de alimentação dos mesmos, o que pode resultar na diminuição das taxas de crescimento e reprodução desses animais e também alterar as relações predador-presa. Dodson et al. (1995), por exemplo, observaram que a mudança na maneira de nadar de *Daphnia* induzida pelo inseticida carbaril aumentou a probabilidade da mesma ser consumida pelos peixes. Assim, concentrações sub-letais de agrotóxicos podem afetar a sobrevivência do zooplâncton na presença de predadores a partir de alterações no comportamento das presas.

Através dos estudos em mesocosmos, também é possível avaliar os efeitos decorrentes de aplicações múltiplas de agrotóxicos nos ecossistemas aquáticos, o que é bastante comum nas práticas agrícolas atuais. De acordo com Daam et al. (2008a), os agrotóxicos geralmente são aplicados repetidamente para, supostamente, assegurar uma proteção suficiente dos cultivos, o que expõe os corpos d'água próximos aos cultivos a repetidas cargas desses compostos, influenciando nas respostas dos organismos. Os autores estudaram os efeitos em comunidades planctônicas da aplicação única e múltipla do inseticida organofosforado clorpirifós através de experimentos em microcosmos. Eles verificaram que os efeitos indiretos sobre rotíferos e a composição da comunidade fitoplanctônica foram mais pronunciados após a segunda aplicação do agrotóxico.

López-Mancisidor et al. (2008a) estudaram, em mesocosmos, os efeitos na comunidade zooplancônica de quatro aplicações de clorpirifós com intervalos de uma semana entre uma e outra. Os autores observaram efeitos indiretos mais severos e períodos de recuperação mais longos das populações quando comparado a experiências prévias em mesocosmos que simularam uma única aplicação. Hanazato e Yasuno (1990) também constataram, em lagoas experimentais, um aumento na magnitude dos efeitos sobre a comunidade zooplancônica após aplicações repetidas em relação a uma única aplicação de um inseticida. Após uma única aplicação de carbaril, o número de cladóceros foi reduzido, mas logo houve uma recuperação e, conseqüentemente, os rotíferos foram suprimidos através da competição. Já após repetidas aplicações, houve supressão dos cladóceros por um período prolongado, o que resultou no aumento da abundância dos rotíferos.

Os efeitos da introdução de espécies exóticas também podem ser estudados através de experimentos em mesocosmos. Johnson et al. (2009) avaliaram o impacto da inserção da espécie de lagosta *Orconectes rusticus* em comunidades de caracóis nativos do norte dos Estados Unidos e observaram uma diminuição de mais de 90% da biomassa de caracóis. Preston et al. (2012) verificaram, também em mesocosmos, que a espécie de peixe *Gambusia affinis* (não nativa da região estudada) aumentou a concentração de nutrientes na água e reduziu significativamente a abundância do zooplâncton e de larvas palatáveis de anfíbios (*Pseudacris regilla* e *Taricha torosa*). Como efeitos indiretos da inserção da espécie exótica, os autores observaram um aumento na densidade fitoplanctônica (devido à diminuição do zooplâncton) e um rápido crescimento de larvas intragáveis de anfíbios (devido à liberação competitiva).

Segundo Sih et al. (2004), o entendimento dos mecanismos de interação entre múltiplos estressores (poluentes em diferentes doses, competidores e predadores, por exemplo) é fundamental para que o conhecimento ecológico possa ser aplicado para minimizar os problemas ambientais. Portanto, apesar de sua complexidade, estudos realizados em mesocosmos que considerem a interação de dois fatores, como a contaminação por agrotóxicos e populações de diferentes espécies, são fundamentais para a melhor compreensão dos impactos produzidos com a introdução de espécies invasoras e com o aporte de agrotóxicos ao meio.

2.7. A substância teste utilizada: Vertimec® 18 CE

Dentre os diversos agrotóxicos empregados atualmente, destaca-se o Vertimec® 18 CE, que é amplamente utilizado como agente antiparasitário em animais de criação e de estimação, e para controlar insetos, ácaros e nematoides em várias culturas agrícolas (KOLAR et al., 2008). Sua formulação comercial apresenta uma concentração de 18 g L⁻¹ do princípio ativo abamectina (1,8% m/v) e 942 g L⁻¹ de ingredientes inertes (94,2% m/v) (SYNGENTA, 2015). A abamectina pertence ao grupo químico das avermectinas, tratando-se de uma mistura de cerca de 80% de avermectina B_{1a} (C₄₈H₇₂O₁₄) e 20% de avermectina B_{2b} (C₄₇H₇₀O₁₄) (FISHER; MROZIK, 1989) (Figura 4). As avermectinas pertencem a um grupo de antibióticos macrocíclicos resultantes da fermentação do actinomiceto *Streptomyces avermitilis* (BURG et al., 1979; ERŽER et al., 2005).

Figura 4. Fórmula estrutural da abamectina. Fonte: ANVISA (2015).

Atualmente, o Vertimec possui registro para utilização em 23 diferentes culturas no Brasil (MAPA, 2015). Sua classificação toxicológica é III (medianamente tóxico), mas, em relação ao potencial de periculosidade ambiental, ele é considerado muito perigoso (classe II), altamente persistente e extremamente tóxico para microcrustáceos e peixes (MAPA, 2015). A abamectina é classificada pela Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) na classe toxicológica I (extremamente tóxica) (ANVISA, 2015) e está entre os ingredientes ativos propostos para reavaliação pela agência desde 2008 (Resolução RDC nº 10/2008) e também entre os 14 princípios ativos que deveriam ser banidos segundo o Projeto de Lei (743/2009) proposto na Assembleia Legislativa de São Paulo (SÃO PAULO, 2009).

A abamectina foi o princípio ativo mais encontrado nas amostras de morango analisadas no ano de 2012 pelo Programa de Análise de Resíduos de Agrotóxicos em Alimentos (PARA) (ANVISA, 2013). Além disso, casos de envenenamento acidental ou intencional por abamectina em humanos já foram descritos (CHUNG et al., 1999; YANG, 2008). No entanto, a despeito das controvérsias existentes acerca da toxicidade desse princípio ativo, a sua utilização ainda é permitida pelos órgãos de fiscalização brasileiros e seu emprego continua frequente e intensivo, sendo importante a realização de uma revisão dos estudos já existentes e a execução de novas pesquisas para a determinação dos seus efeitos ambientais.

Em um estudo realizado por Garric et al. (2007), por exemplo, a ivermectina, composto similar à abamectina, causou uma redução significativa na sobrevivência, na reprodução e na taxa de crescimento de *Daphnia magna*, sendo encontrada uma $CL_{50,48h}$ de $1,7 \text{ ng L}^{-1}$. Tišler e Eržen (2006) demonstraram, através de testes ecotoxicológicos realizados com *Scenedesmus subspicatus* e *Danio rerio*, que a abamectina é altamente tóxica para fitoplâncton e peixes em concentrações muito baixas ($CE_{50,96h}$ de $4,4 \text{ mg L}^{-1}$ para *Scenedesmus subspicatus* e $CE_{50,48h}$ de $49,3 \text{ } \mu\text{g L}^{-1}$ para *Danio rerio*). Novelli et al. (2012a) verificaram que a abamectina causou efeito tóxico mesmo em baixas concentrações para organismos aquáticos pertencentes a diversos níveis tróficos, registrando-se um valor de $CE_{50,48h}$ para *Daphnia similis* de $5,1 \text{ ng L}^{-1}$, uma $CL_{50,96h}$ para *Chironomus xanthus* de $2,67 \text{ } \mu\text{g L}^{-1}$ e uma $CL_{50,96h}$ para *Danio rerio* de $33 \text{ } \mu\text{g L}^{-1}$.

Braun et al. (2012), por sua vez, avaliaram a toxicidade do Vertimec para *Daphnia similis*, *Ceriodaphnia dubia* e *Pseudokirchneriella subcapitata*. Para a realização dos testes de toxicidade agudos e crônicos, os autores utilizaram amostras da água de escoamento superficial (*runoff*) de uma parcela de solo contaminada com o agrotóxico e outra não contaminada (controle) após uma simulação de chuva. Para *Daphnia similis*, o valor da $CE_{50,48h}$ foi de 13,87% de *runoff*, que corresponde a $4,16 \text{ } \mu\text{g L}^{-1}$ de abamectina, e para *Ceriodaphnia dubia* não foi possível calcular o valor da concentração de inibição, uma vez que o efeito foi letal, impedindo a reprodução do organismo. Já para *Pseudokirchneriella subcapitata*, não foi verificado nenhum efeito tóxico do produto e sim um efeito físico da turbidez, que contribuiu para a redução da densidade algal.

É importante lembrar que as formulações comerciais dos agrotóxicos não são compostas apenas pelo princípio ativo, mas também por outros ingredientes, como surfactantes, adicionados para aumentar a eficiência e/ou a persistência ambiental do produto. Alguns estudos indicaram que esses ingredientes podem aumentar significativamente a

persistência dos agrotóxicos no ambiente e a toxicidade desses produtos para organismos não alvo (BEGGEL et al., 2010; COX; SURGAN, 2006; LIPOK et al., 2010; NOVELLI et al., 2012b; PEREIRA et al., 2009). Apesar disso, muitos desses ingredientes não são identificados nas bulas dos produtos comerciais e para esses compostos não são previstos testes de toxicidade convencionais como os realizados com o princípio ativo.

Vieira (2010), por exemplo, avaliou a concentração de abamectina necessária para causar toxicidade à alga clorofícea *Pseudokirchneriella subcapitata* a partir de testes com o princípio ativo e com o produto comercial Vertimec. Segundo a autora, uma concentração maior de abamectina foi necessária para causar toxicidade quando se testou o princípio ativo isoladamente, demonstrando que a toxicidade do produto também está relacionada a outros ingredientes presentes em sua formulação. Em experimentos realizados para avaliação de efeitos agudos, crônicos (reprodução) e comportamentais (rejeição) em *Eisenia andrei* (Annelida, Oligochaeta), o Vertimec também causou maior toxicidade ao organismo-teste se comparado a dados de literatura relativos à abamectina (NUNES; ESPÍNDOLA, 2012).

Assim, considerando a ampla utilização do agrotóxico Vertimec, sua elevada toxicidade e a existência de poucos trabalhos que avaliam os impactos diretos e indiretos desse produto sobre as diferentes populações presentes em uma comunidade, verifica-se a importância de se estabelecer os seus destinos e efeitos ambientais tanto em laboratório como em mesocosmos.

3. JUSTIFICATIVA

A contaminação dos recursos hídricos por agrotóxicos tem se tornado nas últimas décadas um importante problema ambiental, sendo observada ampla presença desses compostos nos ambientes aquáticos em programas de monitoramento de diversos países (BUNDSCHUHA et al., 2014; JESS et al., 2014; MASIÁ et al., 2015; STONE et al., 2014). No entanto, como afirmaram Freire et al. (2008), apenas a mensuração desses contaminantes no ambiente não traz respostas sobre os efeitos adversos que os mesmos causam nos organismos presentes no mesmo, o que torna fundamental a realização de testes ecotoxicológicos para avaliar a toxicidade dessas substâncias à comunidade aquática.

Para atender a essa demanda, o campo da toxicologia, tradicionalmente, avaliou o risco de contaminação por agrotóxicos através de experimentos de laboratório com uma única espécie e concentrações mantidas constantes. Como há uma grande quantidade de produtos para serem analisados pelos órgãos de monitoramento, os testes em laboratório são priorizados por serem mais rápidos e baratos (BOONE; JAMES, 2005). Entretanto, em seus ambientes naturais, os organismos frequentemente experimentam múltiplas aplicações de agrotóxicos ao longo do seu ciclo de vida. Além disso, os organismos são integrados em comunidades ecológicas, que podem propagar efeitos indiretos através de uma teia alimentar, e eles podem estar expostos a estressores naturais como, por exemplo, as espécies exóticas (RELYEA; DIECKS, 2008).

Nesse sentido, países como Estados Unidos (BOYLE et al., 1996; DOWNING et al., 2008; JOHNSON et al., 2009; PRESTON et al., 2012; RELYEA, 2006), Austrália (PABLO, et al., 2008; PABLO; HYNE, 2009), Canadá (SANDERSON et al., 2007), Espanha (LÓPEZ-MANCISIDOR et al., 2008a, 2008b), Alemanha (MOHR et al., 2007; PEITHER et al., 1996) e Japão (CHANG et al., 2005) passaram a realizar estudos em mesocosmos contaminados com agrotóxicos ou com a introdução de espécies invasoras. Em regiões tropicais, experimentos em mesocosmos começaram a ser realizados apenas recentemente, sendo representados, no Brasil, por exemplo, por Carneiro et al. (2013); Gusmão (2004); Laabs et al. (2007), Mendes (2011), Novelli et al. (2012b), Shinn et al. (2015), Silva et al. (2014) e Vieira (2010). No entanto, ainda são escassos estudos que considerem toda a comunidade presente no meio.

Devido a essa defasagem, resultados de estudos realizados na região temperada são muitas vezes extrapolados para a tropical. Contudo, vale lembrar que há importantes diferenças entre essas regiões, que abrangem desde características climáticas (horas de sol,

pluviosidade e temperatura, por exemplo) até as práticas agrícolas, hidrologia e ecologia das águas superficiais (DAAM; VAN DEN BRINK, 2010; DAAM et al., 2011). Questiona-se, assim, a confiabilidade envolvida nessas extrapolações, sendo fundamental que mais experimentos em mesocosmos/microcosmos considerando mais de um organismo sejam realizados em regiões tropicais.

Estudos ecotoxicológicos realizados com a abamectina demonstraram que esse princípio ativo é extremamente tóxico para espécies do fitoplâncton, do zooplâncton e de peixes, podendo causar a morte desses organismos em concentrações da ordem de ng L^{-1} (TIŠLER; ERŽEN, 2006). Entretanto, ainda existem poucas pesquisas sobre a toxicidade desse princípio ativo nos ecossistemas aquáticos considerando as diversas populações em uma comunidade e, mais raros ainda, do produto comercial Vertimec® 18 CE. Pouco se conhece a respeito das interações entre o produto, os compartimentos aquáticos e os organismos.

Alguns estudos também demonstraram que a introdução de espécies exóticas tem causado uma série de impactos nos ecossistemas aquáticos (JOHNSON et al., 2009; KETTUNEN et al., 2009; PRESTON et al., 2012; STRAYER, 2010). A espécie de anfíbio *Lithobates catesbeianus*, por exemplo, é originária da região leste dos Estados Unidos e Canadá, mas já está presente em 130 municípios brasileiros (BOTH et al., 2011). Ela é uma espécie de grande porte, bastante resistente, com elevada taxa de fecundidade e hábitos alimentares generalistas e a sua introdução já foi responsável por causar impactos ambientais em diversos ecossistemas (BOELTER; CECHIN, 2007; KAEFER et al., 2007; ROCHA-MIRANDA et al., 2006). Apesar disso, não há estudos experimentais que avaliem o impacto de girinos desta espécie para as comunidades planctônicas no Brasil.

Verifica-se assim a importância da realização de ensaios ecotoxicológicos com o agrotóxico Vertimec e também com a espécie exótica *Lithobates catesbeianus*, destacando-se a relevância do ensaio em escala de mesocosmo para uma melhor compreensão dos efeitos diretos e indiretos produzidos por eles nos ecossistemas de água doce.

4. OBJETIVOS

4.1. Objetivo geral

O objetivo principal dessa pesquisa foi avaliar, por meio de experimentos em mesocosmos, os efeitos da contaminação por Vertimec[®] 18 CE e da inserção de girinos da espécie *Lithobates catesbeianus* sobre a qualidade da água e as comunidades fitoplanctônica e zooplanctônica, buscando o reconhecimento dos processos que atuam, direta e indiretamente, em diferentes níveis de organização biológica (indivíduo, população e comunidade).

4.2. Objetivos específicos

- Avaliar os impactos causados por girinos da espécie *Lithobates catesbeianus* sobre a comunidade planctônica e sobre as características abióticas da água e do sedimento;
- Analisar os efeitos diretos e indiretos do Vertimec sobre a comunidade planctônica mediante a adição única e múltipla do mesmo;
- Estimar os impactos combinados do Vertimec e dos girinos de *Lithobates catesbeianus* sobre a estrutura da comunidade planctônica e a qualidade da água;
- Comparar a toxicidade do Vertimec à comunidade planctônica em experimentos em mesocosmos e em laboratório, e analisar as vantagens e desvantagens do uso de mesocosmos no estudo dos impactos dos agrotóxicos sobre o plâncton.

5. HIPÓTESES

Para o desenvolvimento do presente trabalho, as seguintes hipóteses foram testadas:

1. Girinos da espécie exótica *Lithobates catesbeianus* causam alterações na qualidade da água e uma diminuição na densidade de organismos planctônicos nativos;
2. O agrotóxico Vertimec[®] 18 CE, além de provocar efeitos diretos sobre os organismos-teste, age como um elemento estressor indireto e interfere nas relações tróficas existentes no meio, representando um importante fator no desequilíbrio das populações planctônicas;
3. Respostas diferenciadas da comunidade planctônica podem ser observadas mediante a adição única e múltipla do agrotóxico Vertimec[®] 18 CE;
4. Estudos experimentais em mesocosmos são mais representativos para avaliar os efeitos tóxicos de um agrotóxico em relação aos realizados em laboratório.

6. MATERIAIS E MÉTODOS

6.1. Contextualização do trabalho

Juntamente ao presente trabalho, Vasconcelos (2014) estudou de maneira mais aprofundada os impactos do agrotóxico Vertimec sobre girinos da espécie *Lithobates catesbeianus* em mesocosmos e em laboratório; e Casali-Pereira (2013) analisou os efeitos do mesmo agrotóxico e da água proveniente dos mesocosmos sobre a espécie *Pseudokirchneriella subcapitata* (representante do fitoplâncton atualmente denominada *Raphidocelis subcapitata*) e o microcrustáceo *Ceriodaphnia silvestrii* (representante do zooplâncton). Para a discussão acerca da utilização de estudos em laboratório e em mesocosmos (item 8.4 da Discussão), utilizaram-se os resultados laboratoriais obtidos pelas autoras. A metodologia dos testes laboratoriais realizados pode ser encontrada em Vasconcelos (op. cit.) e Casali-Pereira (op. cit.).

6.2. Caracterização do experimento em mesocosmos

O experimento foi realizado entre os dias 27 de janeiro e 15 de fevereiro de 2011, em um tanque experimental externo localizado no Centro de Recursos Hídricos e Estudos Ambientais da Universidade de São Paulo (CRHEA, EESC, USP). Como mesocosmos foram utilizados 18 barris cilíndricos de polietileno de alta densidade (PEAD) abertos na superfície e no fundo, com cerca de 60 cm de diâmetro e 90 cm de comprimento, lavados previamente com ácido nítrico 5%, acetona e água destilada (Figura 5).

Figura 5. Barril de PEAD utilizado como mesocosmo, com pesos de concreto amarrados em suas laterais. Fonte: Arquivo pessoal (2011).

Com o objetivo de diminuir o efeito de borda das paredes da estrutura e assim manter as condições ambientais mais próximas às naturais, os barris foram acomodados em um tanque de concreto de 10,24 m² de área superficial por 1,14 m de profundidade, localizado próximo ao reservatório do Lobo (Itirapina/Brotas), na área externa do CRHEA (Figuras 6 e 7). Nesse tanque já havia uma camada de sedimento de aproximadamente 10 cm, e água proveniente do reservatório do Lobo, a qual já possui uma comunidade planctônica estabelecida. Quatro pesos de concreto, pesando cerca de 12 Kg, foram presos nos barris com o intuito de evitar a passagem de água, sedimento e organismos entre os barris.

Figura 6. Esquema da disposição dos mesocosmos no tanque de concreto e suas dimensões em metros.

Figura 7. Disposição dos mesocosmos no tanque de concreto localizado próximo ao reservatório do Lobo (Itirapina/Brotas). Fonte: Arquivo pessoal (2011).

Cada mesocosmo foi preenchido com 200 L da água já presente no tanque de concreto, mantendo-se em contato direto com o sedimento. Ali permaneceram sem

manipulação por oito dias (período de repouso), com o intuito de propiciar uma estabilização do sistema nas águas confinadas nos mesocosmos. Após este período, promoveu-se a primeira contaminação com Vertimec e a adição de girinos da espécie *Lithobates catesbeianus* aos respectivos tratamentos, respeitando-se a densidade de 0,4 indivíduos por litro. Todos os girinos inseridos nos mesocosmos estavam no estágio 25 da tabela de Gosner, quando não possuem mais brânquias externas (GOSNER, 1960). Para a avaliação continuada dos girinos e retirada dos indivíduos mortos ou metamorfoseados, cada barril foi revestido individualmente com um cesto de sombrite. Além disso, todos os tratamentos foram aerados constantemente para evitar a diminuição da concentração de oxigênio dissolvido no meio (Figura 8).

Figura 8. Mesocosmo após ter sido posicionado no tanque de concreto, já com o cesto de sombrite e o sistema de aeração. Fonte: Arquivo pessoal (2011).

Vale ressaltar que, a partir do início do período de repouso, não houve circulação de água entre os mesocosmos, simulando um ambiente lântico. O tanque foi cercado e mantido coberto com superfície telada durante todo o experimento para evitar a ação de predadores e a colonização por outras espécies. No período noturno e em dias de chuva, o tanque foi coberto com lona plástica transparente para evitar a entrada de água da chuva nos mesocosmos, e todos os girinos mortos ou metamorfoseados foram retirados dos barris.

6.3. Tratamentos analisados, dosagem e aplicação do Vertimec® 18 CE

O experimento foi composto pelos seis tratamentos apresentados a seguir, todos em tréplica.

1. Controle (C): água do reservatório do Lobo contendo somente a comunidade aquática já estabelecida, sem nenhuma adição de contaminantes ou organismos;

2. Controle com girinos (CG): condições iguais ao controle (C), mas com a adição de girinos da espécie *Lithobates catesbeianus* na densidade de 0,4 ind L⁻¹;

3. Dose múltipla (DM): água do reservatório do Lobo com aplicação direta de 2 µL L⁻¹ de Vertimec no primeiro e 12º dia de experimento;

4. Dose múltipla com girinos (DMG): tratamento semelhante ao DM, mas com a adição de girinos da espécie *Lithobates catesbeianus* na densidade de 0,4 ind L⁻¹;

5. Dose única (DU): água do reservatório do Lobo com aplicação direta de 8 µL L⁻¹ de Vertimec somente no primeiro dia de experimento;

6. Dose única com girinos (DUG): tratamento semelhante ao DU, mas com a adição de girinos da espécie *Lithobates catesbeianus* na densidade de 0,4 ind L⁻¹.

A concentração de Vertimec nos tratamentos que receberam duas doses do mesmo (DM e DMG) foi definida com base em estudos também realizados em mesocosmos utilizando diferentes organismos-teste (NOVELLI et al., 2012b; VIEIRA, 2010). Ela foi determinada através de análises de cromatografia líquida realizadas em amostras de água escoadas superficialmente (*runoff*) em um terreno contaminado com o agrotóxico na concentração recomendada para a cultura de morango no Brasil (0,75 mL L⁻¹) (MAPA, 2015). Os autores encontraram uma concentração de 2 µL L⁻¹ de Vertimec nas amostras do *runoff*, o que representa 36 µL L⁻¹ do princípio ativo (abamectina). Já os tratamentos que receberam uma dosagem única do agrotóxico (DU e DUG), cuja aplicação foi realizada apenas no primeiro dia do experimento, tiveram sua concentração determinada em laboratório, sendo igual à CL_{50,96h} encontrada para girinos de *Lithobates catesbeianus*, ou seja, 8 µL L⁻¹ (144 µL L⁻¹ de abamectina) (VASCONCELOS, 2014).

Realizou-se a contaminação dos mesocosmos a partir de uma solução mãe com uma concentração de 16 mL L⁻¹ de Vertimec. Nos tratamentos com dosagem múltipla, adicionou-se 25 mL dessa solução nos mesocosmos em cada uma das duas contaminações e, nos tratamentos com dosagem única, adicionou-se 100 mL dessa solução na primeira contaminação. Todos os tratamentos foram cuidadosamente homogeneizados após a contaminação de maneira que não houvesse a ressuspensão do sedimento.

Para confirmar a concentração nominal de abamectina presente no Vertimec, soluções estoque de ambas as concentrações testadas (2 µL L⁻¹ e 8 µL L⁻¹) foram analisadas através de cromatografia líquida de alta eficiência acoplada à espectrofotometria de massa (HPLC/MS/MS - Agilent® 6490 series). A coluna empregada foi a Zorbax Eclipse plus C18 Agilent (2,1 x 150 mm; 3,5 µm). As amostras foram previamente filtradas em filtro PTFE 0,2 µm (Agilent) e então injetadas no HPLC. Utilizou-se o sistema de monitoramento de reações

múltiplas (MRM) com uma fonte de ionização ESI, e a fase móvel consistiu de 10% de água e 90% de acetonitrila. A curva analítica apresentou uma boa linearidade, com um coeficiente de correlação (r) de 0,998. Os limites de detecção e quantificação, considerando um nível de confiança de 99%, foram de $22,26 \mu\text{g L}^{-1}$ e $27,17 \mu\text{g L}^{-1}$, respectivamente.

6.4. Girinos de *Lithobates catesbeianus*

A utilização de girinos da espécie *Lithobates catesbeianus* (Amphibia, Anura, Ranidae), popularmente conhecida como rã-touro, em testes ecotoxicológicos tem sido sugerida por diversos autores (FERREIRA et al., 2004; FORDHAM et al., 2001; LOMBARDI et al., 2002; MARCANTONIO, 2002) (Figura 9). Segundo Ferreira et al. (2004), isto se deve à sua ampla ocorrência; à facilidade de criação e aquisição; à sua importância na cadeia alimentar de vários vertebrados; ao seu longo período larval, que aumenta a probabilidade de exposição a contaminantes, principalmente em casos de exposições múltiplas; e ao fato da espécie ser capaz de responder precocemente às alterações e agressões e tolerar águas poluídas melhor do que outras rãs.

Figura 9. Girino da espécie *Lithobates catesbeianus*. Fonte: Arquivo pessoal (2011).

Os girinos utilizados no experimento em mesocosmos foram obtidos no ranário Ranaville Ranicultura Ltda., localizado no município de São Roque (SP). Anteriormente à realização do experimento, eles foram aclimatados em laboratório, durante um período de 96h, em aquários de 150 L preenchidos com água de torneira declorada e aeração constante, respeitando a densidade máxima de um girino por litro (CASTRO; PINTO, 2000). A temperatura da sala foi mantida em $24 \pm 2^\circ\text{C}$, com fotoperíodo de 12h.

Com o intuito de analisar as condições fisiológicas dos organismos e assegurar que as possíveis causas de mortalidade durante o experimento estivessem relacionadas apenas às condições testadas, todos os lotes de girinos adquiridos foram submetidos a testes de sensibilidade. Mais informações em relação à espécie de girino utilizada, à aclimação dos organismos em laboratório e aos testes de sensibilidade realizados podem ser encontradas em Vasconcelos (2014).

6.5. Período e frequência de amostragem

O experimento teve duração de 20 dias. As coletas de amostras nos mesocosmos começaram no dia 27 de janeiro de 2011, após um período de estabilização de oito dias. A primeira coleta foi realizada antes da contaminação ("tempo zero") em três mesocosmos escolhidos aleatoriamente. Às 11h30min desse mesmo dia, procedeu-se a contaminação e, posteriormente, a inserção dos girinos de *Lithobates catesbeianus* nos mesocosmos referentes aos tratamentos CG, DMG e DUG. Três horas após a primeira contaminação, realizou-se mais uma coleta em todos os mesocosmos. A partir de então, realizaram-se coletas (em todos os mesocosmos), no início da manhã, após 3, 7, 11, 15 e 19 dias transcorridos da primeira contaminação (Tabela 2). No dia 7 de fevereiro (11 dias após a contaminação), foi realizada a recontaminação dos tratamentos com dosagem múltipla (DM e DMG).

Durante todos os dias do experimento no período da manhã (entre 8:30h e 10:30h), foram realizadas medições de pH, oxigênio dissolvido, temperatura e condutividade elétrica de cada mesocosmo com a utilização de uma sonda multiparâmetros portátil da marca Horiba, modelo U-10.

Tabela 2. Cronograma de coleta de amostras de água, sedimento, fitoplâncton e zooplâncton nos mesocosmos.

Data	27/01/11 Contaminação		30/01/11	03/02/11	07/02/11 Recontaminação	11/02/11	15/02/11
Tempo após a contaminação	Antes da contaminação (0h)	3h	3 dias (72 h)	7 dias (168 h)	11 dias (264 h)	15 dias (360 h)	19 dias (456 h)
Variáveis da água	X	X	X	X	X	X	X
Variáveis do sedimento	X						X
Fitoplâncton	X	X	X	X	X	X	X
Zooplâncton	X	X	X	X	X	X	X

6.6. Variáveis climatológicas

Os dados de temperatura média do ar ($^{\circ}\text{C}$), precipitação diária (mm dia^{-1}), irradiância solar global ($\text{MJ m}^{-2} \text{dia}^{-1}$) e umidade relativa do ar (%) durante todo o período experimental (27 de janeiro a 15 de fevereiro de 2011) foram obtidos através da estação climatológica

localizada no Centro de Recursos Hídricos e Estudos Ambientais da Universidade de São Paulo (CRHEA, EESC, USP), em Itirapina (SP) (Código ANA 2247196).

6.7. Coleta, preservação e análise das amostras de água e de sedimento

Para a caracterização dos mesocosmos, amostras de água foram coletadas diretamente em garrafas de polietileno previamente lavadas com HNO_3 10%. Para a determinação da concentração de nutrientes dissolvidos, parte das amostras coletadas foi filtrada em filtro de fibra de vidro GF/C com porosidade de 0,45 μm logo após a coleta. O filtro foi utilizado para a determinação de clorofila *a*, e as amostras de água filtradas foram congeladas para posterior análise em laboratório. Para determinação da concentração dos nutrientes totais, amostras de água não filtradas foram congeladas em garrafas de polietileno e, posteriormente, analisadas em laboratório. Na Tabela 3, são apresentadas as análises físicas, químicas e biológica (clorofila *a*) efetuadas com as amostras de água e as respectivas metodologias adotadas.

Tabela 3. Metodologia de análise das variáveis físicas, químicas e biológica da água dos mesocosmos.

Variável (unidade)	Metodologia	Referência
pH	Sonda	
Condutividade ($\mu\text{S cm}^{-1}$)	multiparâmetros	
Oxigênio dissolvido (mg L^{-1})	HORIBA - modelo	
Temperatura ($^{\circ}\text{C}$)	U-10	
Turbidez (UNT)	Espectrofotometria	APHA (1995)
Nitrito e nitrato ($\mu\text{g L}^{-1}$)	Espectrofotometria	Mackereth et al. (1978)
Íon amônio ($\mu\text{g L}^{-1}$)	Espectrofotometria	Koroleff (1976)
Fosfato total dissolvido e fosfato inorgânico ($\mu\text{g L}^{-1}$)	Espectrofotometria	APHA (1995)
Nitrogênio orgânico total (mg L^{-1}) e fósforo total ($\mu\text{g L}^{-1}$)	Espectrofotometria	APHA (1995)
Silicato (mg L^{-1})	Espectrofotometria	Golterman et al. (1978)
Clorofila <i>a</i> ($\mu\text{g L}^{-1}$)	Espectrofotometria	Nusch (1980)

Para a caracterização do sedimento, as amostras foram coletadas utilizando um core, sendo imediatamente homogeneizadas e armazenadas em potes plásticos de 1L e, posteriormente, colocadas à temperatura ambiente para secagem. Determinaram-se as concentrações de matéria orgânica, fósforo total e nitrogênio orgânico total presentes nas mesmas segundo as metodologias e referências apresentadas na Tabela 4. A granulometria do sedimento foi obtida a partir de um estudo realizado anteriormente no mesmo tanque experimental (SANTOS, 2007).

Tabela 4. Metodologias e referências utilizadas nas análises das variáveis físicas e químicas do sedimento dos mesocosmos.

Variável (unidade)	Metodologia	Referência
Matéria orgânica (%)	Incineração em mufla	Trindade (1980)
Fósforo total ($\mu\text{g g}^{-1}$)	Espectrofotometria	Andersen (1976)
Nitrogênio orgânico total (%)	KJELDAHL	APHA (1995)

6.8. Índice de estado trófico (IET)

Com base nas concentrações de fósforo total e clorofila *a* nas amostras de água, calculou-se o Índice de Estado Trófico dos mesocosmos, segundo o índice de Carlson, modificado por Lamparelli (2004) para ambientes lênticos, de acordo com as seguintes equações:

$$\text{IET (CL)} = 10 \times \{6 - [0,92 - 0,34 \times (\ln \text{CL}) / \ln 2]\}$$

$$\text{IET (PT)} = 10 \times \{6 - [1,77 - 0,42 \times (\ln \text{PT}) / \ln 2]\}$$

$$\text{IET} = [\text{IET (PT)} + \text{IET (CL)}] / 2$$

Em que:

PT: concentração de fósforo total em $\mu\text{g L}^{-1}$;

CL: concentração de clorofila *a* em $\mu\text{g L}^{-1}$;

ln: logaritmo natural.

Os resultados referentes ao fósforo total [IET (PT)] são considerados nesse índice como uma medida do potencial de eutrofização da água, visto que este nutriente atua como um agente causador do processo. Já o IET (CL) é interpretado como uma medida da resposta do corpo hídrico ao agente causador, indicando o nível de crescimento das algas na água. Assim, o índice final (IET) procura englobar a causa e o efeito do processo de eutrofização (CETESB, 2014). Os limites estabelecidos para cada classe de estado trófico são apresentados na Tabela 5.

Tabela 5. Classificação do estado trófico segundo o índice de Carlson, modificado por Lamparelli (2004) para ambientes lênticos (CETESB, 2014).

Estado Trófico	Valor IET
Ultraoligotrófico	$IET \leq 47$
Oligotrófico	$47 < IET \leq 52$
Mesotrófico	$52 < IET \leq 59$
Eutrófico	$59 < IET \leq 63$
Supereutrófico	$63 < IET \leq 67$
Hipereutrófico	$IET > 67$

6.9. Coleta, preservação e análise do fitoplâncton

As amostras da comunidade fitoplanctônica foram coletadas com duas mangueiras plásticas presas a réguas de madeira (Figura 10), uma para os mesocosmos não contaminados e outra para os contaminados, de maneira a integrar toda a coluna de água dos tanques. Coletaram-se amostras de 100 mL para fitoplâncton total, sendo as mesmas preservadas em solução de lugol acético 0,5% e armazenadas em local escuro até o processamento (CETESB, 2011).

Figura 10. Coleta das amostras da comunidade fitoplanctônica. Fonte: Arquivo pessoal (2011).

A análise quantitativa do fitoplâncton foi realizada com o auxílio de um microscópio ótico invertido Olympus CK2[®], em um aumento de 400 vezes, de acordo com o método de sedimentação descrito por Uthermöhl (1958). O procedimento de contagem foi realizado por meio de transectos horizontais e verticais, as câmaras de sedimentação utilizadas variaram entre 2, 5 e 10 mL de acordo com a densidade dos organismos, e o tempo de sedimentação foi de três horas para cada centímetro de altura da câmara (MARGALEF, 1983). Utilizaram-se dois critérios para a interrupção da contagem: que nenhuma espécie nova fosse encontrada em 20 campos percorridos ou a contagem de 100 indivíduos da espécie mais abundante.

Os indivíduos (células, colônias, cenóbios e filamentos) foram enumerados em campos aleatórios e os resultados foram expressos em densidade (ind mL^{-1}), calculada de acordo com a fórmula descrita em APHA (2005):

$$D = \left(\frac{n}{s \cdot c} \right) \times \left(\frac{1}{h} \right) \times F$$

Em que:

D: densidade fitoplanctônica (ind mL^{-1});

n: número de indivíduos efetivamente contados;

s: área do campo em mm^2 no aumento de 400 vezes;

c: número de campos contados;

h: altura da câmara de sedimentação em mm;

F: fator de correção ($10^3 \text{ mm}^3 / 1 \text{ mL}$).

A identificação foi realizada em termos de espécie sempre que possível, com base em literatura especializada, tais como Bicudo e Menezes (2006) para gêneros de algas; Anagnostidis e Komarék (1986, 1988, 1989); Bourrelly (1972a, 1972b, 1981); Castro et al. (1991); Komarék e Fott (1983); Parra et al. (1982a, 1982b, 1982c, 1983); e Sant'Anna et al. (2006). Todas as espécies identificadas foram também classificadas de acordo com o sistema de classificação funcional proposto por Reynolds et al. (2002), considerando as revisões apresentadas por Padisák et al. (2009).

6.10. Coleta, preservação e análise do zooplâncton

Para a análise da comunidade zooplancônica, coletou-se em um balde graduado um volume de 3 L de água de cada mesocosmo, sendo esse volume filtrado em rede de plâncton de 68 μ m de abertura de malha (Figura 11). Para posterior identificação, as amostras foram preservadas com formaldeído a 4% com 6% de açúcar dissolvido (HANEY; HALL, 1973). Além disso, antes da fixação, adicionou-se uma pequena quantidade de água com gás em cada frasco. Segundo Coelho (2004), o açúcar se combina com a quitina dos organismos, endurecendo-a e tornando assim as amostras mais resistentes à ação do tempo, e a água gaseificada ajuda a evitar a contração dos organismos e a perda de sacos ovíferos durante a fixação. Após a filtração, a água foi devolvida cuidadosamente ao mesocosmo correspondente para diminuir o impacto sobre o volume total do mesmo.

Figura 11. Coleta das amostras da comunidade zooplancônica. Fonte: Arquivo pessoal (2011).

Os organismos foram quantificados considerando as suas diferentes fases de desenvolvimento, ou seja, para Copepoda foram consideradas as fases de náuplios,

copepoditos e adultos, e para Cladocera os organismos foram classificados em classes de tamanho (neonatos, jovens e adultos). Para Copepoda e Cladocera foi realizada a contagem de toda a amostra, utilizando-se câmara de acrílico quadriculada do tipo Dolfus adaptada, sob microscópio estereoscópico da marca Leica[®], com aumento de até 50 vezes. A contagem dos rotíferos foi realizada por subamostragem em câmara de Sedgewick-Rafter, sob microscópio óptico da marca Zeiss[®], com aumento de até 100 vezes. A identificação foi realizada sob microscópio óptico da marca Zeiss[®], com aumento de até 1000 vezes, através de consulta à literatura especializada (ELMOOR-LOUREIRO, 1997; KOSTE, 1978; MATSUMURA-TUNDISI, 1986; REID, 1985; ROCHA; MATSUMURA-TUNDISI, 1976).

A partir do tamanho e hábitos alimentares das espécies de Cladocera, Copepoda e Rotifera identificadas, elas foram separadas nos seguintes grupos funcionais: filtradores pequenos com até 200 µm de GALD (rotíferos herbívoros e náuplios de Calanoida e Cyclopoida); filtradores médios com até 1 mm de GALD (cladóceros e copepoditos de Calanoida); e predadores (*Ploesoma* sp., copepoditos e adultos de Cyclopoida e Harpacticoida).

6.11. Análise dos dados

Foram analisados e relacionados fatores bióticos e abióticos dos mesocosmos, com ênfase na análise da comunidade planctônica.

6.11.1. Índices ecológicos dos estudos em mesocosmos

A partir dos dados de composição e densidade das comunidades fitoplanctônica e zooplanctônica, foram calculados os seguintes índices ecológicos:

1. Frequência de ocorrência (FO)

Foi calculada a frequência de ocorrência das espécies fitoplanctônicas e zooplanctônicas de acordo com a fórmula proposta por Dajoz (1983). Esta fórmula considera o número de amostras em que o organismo ocorreu em relação ao número total de amostras coletadas, sendo expressa em porcentagem.

A partir das frequências encontradas, as espécies foram classificadas em constantes, frequentes, comuns ou raras de acordo com os seguintes critérios:

1. Constantes: espécies presentes em 80% ou mais das amostras;
2. Frequentes: espécies presentes entre 50 e 80% das amostras;
3. Comuns: espécies presentes entre 20 e 50% das amostras;
4. Raras: espécies presentes em 20% ou menos das amostras.

2. Riqueza (S)

A riqueza foi representada pelo número de espécies presentes na amostra (ODUM, 1983).

3. Diversidade (H')

A diversidade é uma função do número e da abundância das espécies presentes na amostra, podendo ser expressa através de diversos índices. No presente trabalho, foi utilizado o índice de Shannon-Wiener, que possibilita a determinação da importância relativa de cada espécie e não apenas a proporção entre espécies e indivíduos. Esse índice assume que os indivíduos são amostrados ao acaso em uma população indefinidamente grande e que todas as espécies estão representadas na amostra coletada, sendo relativamente independente do tamanho da amostra (PIELOU, 1974).

4. Dominância (D)

Esse índice exprime a relação entre o número de indivíduos de uma determinada espécie e o número total de indivíduos na amostra. Nesse estudo, foi utilizado o índice de Simpson, que expressa a probabilidade de dois indivíduos retirados aleatoriamente não pertencerem à mesma espécie (MAGURRAN, 2004).

5. Equitabilidade (J')

A equitabilidade expressa a maneira como o número de indivíduos está distribuído entre as diferentes espécies. Ela representa uma medida da similaridade das abundâncias de diferentes espécies em um grupo ou comunidade, indicando se há ou não dominância de uma espécie ou de um grupo (ODUM, 1983).

Na Tabela 6, são apresentados os índices ecológicos considerados e as respectivas fórmulas para o cálculo dos mesmos.

Tabela 6. Índices ecológicos calculados, suas respectivas fórmulas e descrições.

Índice	Fórmula	Descrição
Frequência de ocorrência	$FO = 100 \times \left(\frac{Pa}{P} \right)$	Pa: número de amostras que contém a espécie P: número total de amostragens realizadas
Riqueza	S	S: número de espécies encontradas
Diversidade	$H' = -\sum (p_i \times \log_2 p_i)$	$p_i = n_i/n$ n _i : número total de indivíduos de cada táxon na amostra n: número total de indivíduos na amostra
Dominância	$D = \sum \frac{n_i(n_i - 1)}{N(N - 1)}$	n _i : 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 táxons na unidade amostral

6.11.2. Tratamento estatístico dos resultados

Para determinar a variabilidade entre as réplicas de cada tratamento, calculou-se o coeficiente de variação (=desvio padrão*100/média) de cada uma das variáveis analisadas durante todo o período experimental. Cada uma das variáveis e respectivas coletas foram consideradas separadamente para o cálculo.

A variação espacial (entre os diferentes tratamentos) e temporal das variáveis físicas, químicas e biológicas (clorofila *a*, aspectos qualitativos e quantitativos do fitoplâncton e do zooplâncton) dos mesocosmos foram avaliadas utilizando a análise de variância univariada de dois fatores e medidas repetidas (*Two-way repeated measures ANOVA*). Analisou-se os fatores "girinos" (presença ou ausência de girinos de *Lithobates catesbeianus*) e "agrotóxico" (três concentrações de Vertimec: 0; 2 µL L⁻¹ e 8 µL L⁻¹), e a interação entre esses fatores em cada uma das coletas realizadas. Quando os valores de *p* encontrados na ANOVA foram considerados significativos (*p*<0,05), realizou-se o teste *post hoc* de Tukey para analisar mais profundamente as diferenças entre os tratamentos e coletas.

Os dados foram previamente analisados em relação à normalidade (teste de Shapiro-Wilk) e à homogeneidade da variância dos resíduos (teste de Levene). Nos casos em que os dados violaram os preceitos de normalidade e/ou homogeneidade, aplicou-se aos mesmos uma transformação logarítmica [$\log(x+1)$]. Para os dados considerados não paramétricos mesmo após a transformação, utilizou-se o teste de Kruskal-Wallis, seguido do teste *post hoc* de Dunn. Além disso, foi realizada uma Análise de Componentes Principais (ACP) com as variáveis físicas e químicas e a concentração de clorofila *a* da água para estudar as relações entre estas variáveis e os diferentes tratamentos e coletas.

Com o intuito de avaliar as respostas das comunidades fitoplanctônica e zooplanctônica nos mesocosmos ao longo do período experimental, foi utilizado o método multivariado denominado *Principal Response Curves* (PRC), que foi proposto por Van den Brink e Ter Braak (1999) com a finalidade de analisar as respostas globais da comunidade ao longo do tempo. Segundo os autores, o método, que é baseado em análise de redundância, possibilita uma interpretação quantitativa dos efeitos para o nível de espécie e pode ajudar a gerar hipóteses sobre os efeitos diretos e indiretos ao nível de comunidade, uma vez que permite lidar simultaneamente com os dois tipos de efeito.

Esse método origina um diagrama que apresenta os desvios dos tratamentos considerados em relação ao controle durante o período experimental, destacando a resposta dominante da comunidade. São calculados pesos para cada espécie (b_k) que indicam a afinidade desta espécie em relação à resposta dominante observada. Espécies com pesos positivos elevados apresentaram uma resposta similar à representada na PRC e espécies com pesos negativos elevados apresentaram uma resposta oposta ao apresentado na PRC. As espécies com pesos próximos a zero não foram influenciadas pelos tratamentos considerados ou apresentaram uma resposta não representada pela PRC. A significância da PRC gerada foi testada através de permutações de Monte Carlo. Para testar se as diferenças entre cada tratamento e o controle eram significativas, aplicou-se uma análise de variância univariada (ANOVA), seguida do teste de Dunnett, para cada um dos tratamentos e coletas. Para os dados considerados não paramétricos, utilizou-se o teste de Kruskal-Wallis, seguido do teste de Dunn.

Em todas as análises estatísticas realizadas, considerou-se um nível de significância de 95% ($p < 0,05$). A PRC e a ACP foram efetuadas utilizando o software CANOCO versão 4.5 (TER BRAAK; SMILAUER, 2002). As demais análises estatísticas foram realizadas através do software Statistica versão 7.0 (STATSOFT, 2004).

7. RESULTADOS

7.1. Condições climáticas durante o experimento

O experimento em mesocosmos foi realizado entre os dias 27 de janeiro e 15 de fevereiro de 2011, que corresponde ao verão no Brasil. A temperatura média do ar durante o experimento foi de 24,6 °C, o nível médio de radiação solar de 21,7 MJ m⁻² dia⁻¹, e a precipitação média de 6,1 mm dia⁻¹ (Tabela 13 do Apêndice A). A umidade relativa do ar se manteve alta durante todo o período experimental, apresentando um valor médio de 77,2%.

7.2. Concentração de abamectina nas amostras

A formulação comercial Vertimec® 18 CE apresenta 18 g L⁻¹ do princípio ativo abamectina (1,8% m/v) (SYNGENTA, 2015). Portanto, as dosagens de Vertimec estudadas (2 µL L⁻¹ e 8 µL L⁻¹) representavam concentrações nominais de abamectina de 36 µg L⁻¹ e 144 µg L⁻¹, respectivamente. As concentrações de abamectina determinadas por HPLC/MS/MS em soluções estoque de ambas as dosagens testadas foram de 32,7 µg L⁻¹ e 117 µg L⁻¹, respectivamente, desviando-se em menos de 10% no primeiro caso e em cerca de 20% no segundo (Tabela 7).

Não foi possível realizar a determinação das concentrações finais de abamectina nos mesocosmos. No entanto, sabe-se que o seu tempo de degradação em água é bastante rápido. De acordo com Campbell (1989), a meia vida desse princípio ativo na superfície da água é de apenas 12 horas e, em lagos, de quatro dias. Em dois estudos realizados com a formulação comercial Vertimec® 18 CE em microcosmos de 10 m³, a meia vida da abamectina foi de 9 a 10 dias e de 4,9 dias, respectivamente (EC, 2006).

Tabela 7. Concentrações de abamectina (princípio ativo do Vertimec® 18 CE) determinadas por HPLC/MS/MS para ambas as dosagens testadas no experimento.

Concentração nominal (µg L ⁻¹)	Concentração observada (µg L ⁻¹) (média ± desvio padrão, n=3)
36	32,7 ± 1,8
144	117 ± 7,3

7.3. Variáveis físicas, químicas e biológica (clorofila *a*) da água

A temperatura da água variou de maneira semelhante entre os diferentes tratamentos (máxima de 30 °C e mínima de 24,9 °C), não apresentando diferença significativa entre os tratamentos em nenhuma coleta (Figura 12, Tabela 14 do Apêndice A). A coleta realizada três horas após a primeira contaminação apresentou temperaturas significativamente mais elevadas que todas as demais, porque foi a única executada no período da tarde devido ao tempo de espera após a contaminação do sistema.

O pH médio da água variou entre 6,41 (DU - 11 dias) e 7,48 (C - 19 dias), mantendo-se próximo à neutralidade durante todo o período estudado (Figura 12, Tabela 14 do Apêndice A). Não foi constatada diferença significativa entre os tratamentos considerando uma mesma coleta, com exceção de C e DUG na coleta realizada sete dias após a contaminação ($p=0,04$). Temporalmente, observou-se uma oscilação nos valores de pH, com diferença significativa entre a coleta realizada antes da contaminação e as realizadas 3h, 11 dias e 19 dias após a contaminação ($p<0,05$).

Embora todos os mesocosmos tenham sido aerados, as concentrações de oxigênio dissolvido na água se mantiveram baixas durante todo o período experimental, variando entre 0,30 mg L⁻¹ (DUG - 3 dias) e 7,24 mg L⁻¹ (DU - 3h) (Figura 12, Tabela 14 do Apêndice A). Isto provavelmente ocorreu devido à não renovação da água nos tanques durante o experimento e à presença de girinos em alguns tratamentos. O fator "girinos" foi considerado significativo para a concentração de oxigênio dissolvido ($p=0,000005$), sendo as menores concentrações de oxigênio obtidas na presença dos mesmos. A menor concentração foi observada no tratamento DUG três dias após a primeira contaminação. No entanto, devido à mortalidade e retirada de todos os girinos desse tratamento, houve um aumento da concentração de oxigênio dissolvido no mesmo a partir da coleta realizada sete dias após a contaminação, e então DMG passou a apresentar os menores valores dessa variável.

Houve um aumento da condutividade da água durante todo o experimento, sendo verificada diferença significativa ($p<0,05$) entre os valores observados nos tratamentos com girinos antes da contaminação e a partir de três dias após a contaminação. O menor valor de condutividade encontrado foi de 33 $\mu\text{S cm}^{-1}$ (DU - 3h) e o maior, de 92 $\mu\text{S cm}^{-1}$ (DMG - 19 dias) (Figura 12, Tabela 14 do Apêndice A). O fator "girinos" foi considerado significativo ($p=0,0009$) e os tratamentos com a presença dos mesmos apresentaram, em geral, os maiores valores de condutividade.

Figura 12. Temperatura da água (°C), pH, oxigênio dissolvido (mg L⁻¹) e condutividade (μS cm⁻¹) (média ± desvio padrão, n=3) dos diferentes tratamentos durante todo o período experimental.

A concentração de nitrogênio total nas amostras variou entre 0,16 mg L⁻¹ e 2,1 mg L⁻¹ (Figura 13, Tabela 16 do Apêndice A). Com a morte dos girinos em DUG, houve um aumento da concentração de nitrogênio total nesse tratamento, registrando-se diferença significativa entre DUG e todos os demais tratamentos três dias após a contaminação ($p < 0,05$). Verificou-se diferença significativa também entre os tratamentos com e sem girinos a partir da coleta realizada 11 dias após a contaminação ($p = 0,00$), com concentrações de nitrogênio total superiores nos tratamentos com a presença de girinos.

As formas dissolvidas de nitrogênio apresentaram uma grande amplitude de valores, variando entre 1,5 μg L⁻¹ e 309,9 μg L⁻¹ para nitrito, entre 0,2 μg L⁻¹ e 354,4 μg L⁻¹ para nitrato e entre 5,4 μg L⁻¹ e 568,9 μg L⁻¹ para amônio (Figura 13, Tabela 17 do Apêndice A). As concentrações de nitrito e nitrato variaram de maneira semelhante. Nas duas últimas coletas (realizadas 15 e 19 dias após a contaminação), houve um aumento significativo nas concentrações desses nutrientes ($p < 0,05$). Comparando os tratamentos com a mesma

concentração do agrotóxico na presença ou ausência de girinos (ou seja, C com CG e DM com DMG), os tratamentos que continham girinos até o fim do experimento apresentaram maior concentração de nitrito e nitrato nas duas últimas coletas. Já quando comparadas as diferentes concentrações de agrotóxico sem a influência do fator girino (ou seja, C com DM e DU; e CG com DMG e DUG), as concentrações de nitrito e nitrato foram menores nos tratamentos com maiores concentrações do agrotóxico.

Em relação ao amônio, observou-se um aumento da concentração do mesmo em todos os tratamentos entre 3h e 11 dias após a contaminação. A partir de três dias após a contaminação, verificou-se diferença significativa entre os tratamentos com e sem girinos ($p < 0,05$). CG e DMG (que apresentaram girinos até o final do experimento) foram os tratamentos com maior concentração de amônio durante todo o experimento.

Figura 13. Concentração de nitrogênio total (mg L^{-1}), nitrito ($\mu\text{g L}^{-1}$), nitrato ($\mu\text{g L}^{-1}$) e amônio ($\mu\text{g L}^{-1}$) (média $\pm$ desvio padrão, $n=3$) dos diferentes tratamentos durante todo o período experimental.

As concentrações de fósforo total em todos os tratamentos, com exceção de DUG, variaram de maneira semelhante, com mínima de $79,6 \mu\text{g L}^{-1}$ (DM - 11 dias) e máxima de $353,3 \mu\text{g L}^{-1}$ (CG - 3 dias) (Figura 14, Tabela 16 do Apêndice A). Já o tratamento DUG apresentou um aumento de mais de três vezes na concentração de fósforo total após a morte e retirada dos girinos, alcançando uma concentração de $846,9 \mu\text{g L}^{-1}$ na quarta coleta. Apesar de ter ocorrido uma redução nas suas concentrações após esta coleta, DUG apresentou concentrações significativamente maiores ($p < 0,05$) que todos os demais tratamentos até o fim do experimento.

Em relação às formas dissolvidas fosfato inorgânico e fosfato total dissolvido, todos os tratamentos apresentaram comportamentos semelhantes entre as coletas (Figura 14, Tabela 18 do Apêndice A). Os tratamentos com girinos apresentaram as maiores concentrações de ambos os nutrientes e o fator "girino" foi considerado significativo ($p = 0,00$). DUG também foi o que apresentou as maiores concentrações das formas dissolvidas de fósforo ($425,1 \mu\text{g L}^{-1}$ e $458,6 \mu\text{g L}^{-1}$ de fosfato inorgânico e fosfato total dissolvido, respectivamente), ambas detectadas na primeira coleta após a morte e retirada dos girinos desse tratamento.

As concentrações de silicato variaram entre $1,4 \text{ mg L}^{-1}$ (DMG - 3h) e $4,2 \text{ mg L}^{-1}$ (C - 19 dias) (Figura 14, Tabela 18 do Apêndice A). Houve uma queda na concentração do mesmo após a contaminação, verificando-se diferença significativa entre os tempos 0h e 3h para todos os tratamentos ($p = 0,00$). A partir da terceira coleta não foi mais observada diferença significativa entre as coletas e as concentrações se mantiveram relativamente estáveis até o fim do experimento. Em geral, as maiores concentrações de silicato foram encontradas nos tratamentos não contaminados (C e CG), mas também não foi verificada diferença significativa entre os tratamentos.

Figura 14. Concentração de fósforo total ($\mu\text{g L}^{-1}$), fosfato inorgânico ($\mu\text{g L}^{-1}$), fosfato total dissolvido ($\mu\text{g L}^{-1}$) e silicato (mg L^{-1}) (média $\pm$ desvio padrão, $n=3$) dos diferentes tratamentos durante todo o período experimental.

Os valores de turbidez se mantiveram abaixo de 10 UNT na maioria dos tratamentos e coletas, variando entre 4 UNT (CG - 19 dias) e 28,7 UNT (DUG - 11 dias) (Figura 15, Tabela 15 do Apêndice A). Houve um aumento da turbidez no tratamento DUG após a morte dos girinos, sendo verificada diferença significativa entre ele e todos os demais tratamentos nas coletas realizadas 3, 7 e 11 dias após a contaminação ($p < 0,05$).

As concentrações de clorofila *a* variaram entre $2,8 \mu\text{g L}^{-1}$ (CG - 7 dias) e $307,2 \mu\text{g L}^{-1}$ (DUG - 7 dias) (Figura 15, Tabela 15 do Apêndice A). Ambos os fatores analisados ("girinos" e "agrotóxico") foram considerados significativos ($p=0,005$ e $p=0,000$, respectivamente). Os menores valores de clorofila *a* foram encontrados nos tratamentos com a presença de girinos durante todo o experimento (CG e DMG). Já as maiores concentrações ocorreram nos tratamentos contaminados que não continham girinos até o final do experimento (DM, DU e DUG). DUG apresentou as maiores concentrações de clorofila *a* a partir da terceira coleta,

sendo observada diferença significativa entre DUG e todos os demais tratamentos nas coletas realizadas 7 e 11 dias após a contaminação ($p < 0,05$). A partir da coleta seguinte, houve uma diminuição na concentração de clorofila *a* em DUG, mas o tratamento continuou apresentando diferença significativa em relação ao controle e aos tratamentos com girinos (CG e DMG) até o final do experimento.

Figura 15. Turbidez (UNT) e concentração de clorofila *a* ($\mu\text{g L}^{-1}$) (média $\pm$ desvio padrão, $n=3$) dos diferentes tratamentos durante todo o período experimental.

Segundo o Índice de Estado Trófico (IET) calculado com base nas concentrações de fósforo total e clorofila *a* para os diferentes tratamentos, os mesocosmos foram representativos de um ambiente hipereutrófico (Tabela 8). Apenas o tratamento CG (7 e 11 dias após a primeira contaminação) e os tratamentos C e DMG (11 dias após a contaminação) foram considerados supereutróficos.

Tabela 8. Índice de Estado Trófico (IET) e classificação dos diferentes tratamentos em relação ao grau de trofia durante todo o período experimental. Os valores foram calculados segundo o Índice de Carlson, modificado por Lamparelli (2004) para ambientes lênticos. Supereutrófico: **vermelho**; Hipereutrófico: **roxo**.

		Dias após a primeira contaminação						
		0h	0,125 (3h)	3	7	11	15	19
C	70,7		70,1	70,5	68,3	65,9	68,6	69,5
CG			70,5	68,5	66,0	64,2	67,2	67,3
DM			70,9	71,5	70,8	67,8	70,2	70,8
DMG			68,9	70,1	68,1	65,5	67,6	67,5
DU			70,9	70,2	71,6	68,5	71,9	70,9
DUG			70,7	74,7	81,0	80,4	76,5	75,3

A análise de componentes principais (ACP), realizada a partir dos resultados encontrados para as variáveis físicas, químicas e biológica (clorofila *a*) da água, indicou a formação de um gradiente temporal e espacial (Figura 16). Entre todas as variáveis analisadas, 11 delas (temperatura, condutividade, oxigênio dissolvido, turbidez, clorofila *a*, nitrogênio total, amônio, fósforo total, fosfato inorgânico, fosfato total dissolvido e silicato) foram responsáveis por 64,9% da variância total dos dados, sendo a porcentagem de variância explicada pelo eixo 1 de 38,6% e pelo eixo 2, de 26,3% (Tabela 9).

Tabela 9. Porcentagem total de variância explicada pelos componentes principais (1 e 2) e correlações entre esses componentes e as variáveis da água.

	Componente 1	Componente 2
Temperatura	0,414	0,701
Condutividade	0,657	0,766
Oxigênio dissolvido	0,638	0,641
Turbidez	0,212	0,322
Clorofila <i>a</i>	0,008	0,370
Nitrogênio total	0,456	0,487
Amônio	0,621	0,880
Fósforo total	0,308	0,878
Fosfato inorgânico	0,411	0,811
Fosfato total dissolvido	0,304	0,791
Silicato	0,219	0,492
% de variância explicada	38,6	26,3
Variância total explicada (%)	64,9	

Pode-se observar na ACP uma elevada relação positiva entre a coleta realizada 3h após a contaminação e as variáveis oxigênio dissolvido e temperatura (Figura 16). Esta relação ocorreu, provavelmente, por esta ter sido a única coleta realizada no período da tarde, apresentando maiores valores de temperatura e oxigênio dissolvido. Os tratamentos que continham girinos até o final do experimento (CG e DMG), a partir da coleta realizada sete dias após a contaminação, apresentaram uma correlação positiva com as variáveis nitrogênio total, condutividade e amônio, provavelmente, devido à excreção dos girinos. Para DUG, verificou-se uma elevada relação positiva em todas as coletas (com exceção da realizada 3h

após a contaminação) com a turbidez, a clorofila *a* e as formas fosfatadas (fósforo total, fosfato inorgânico e fosfato total dissolvido). Esta relação está associada ao fato de, após a morte dos girinos, ter ocorrido um aumento significativo na turbidez e nas concentrações de clorofila *a* e de fósforo na água desse tratamento.

Figura 16. Análise de componentes principais (ACP) das variáveis físicas, químicas e biológica (clorofila *a*) da água considerando todos os tratamentos e coletas. Porcentagem total de variabilidade explicada pelos dois primeiros eixos: 64,9%. C: controle; CG: controle com girinos; DM: dose múltipla; DMG: dose múltipla com girinos; DU: dose única; DUG: dose única com girinos; Temp: temperatura; OD: oxigênio dissolvido; Cond: condutividade; Turb: turbidez; NT: nitrogênio total; NH4: amônio; PT: fósforo total; POI: fosfato inorgânico; PTD: fosfato total dissolvido; SiO2: silicato; Clorof: clorofila *a*.

7.4. Variáveis físicas e químicas do sedimento

A concentração média inicial de nitrogênio total no sedimento foi de 0,04%. Após os 20 dias de experimento, apenas os tratamentos DM e DMG apresentaram diferença significativa em relação à concentração média inicial, com uma concentração média de nitrogênio total de 0,09% ($p=0,02$) e 0,12% ($p=0,001$), respectivamente (Figura 17, Tabela 19 do Apêndice A). Na última coleta, DMG apresentou diferença significativa em relação a todos os demais tratamentos ($p<0,05$), com exceção de DM. Este último apresentou diferença significativa somente se comparado a C e CG ($p<0,05$).

Em relação ao fósforo total, a concentração inicial no sedimento foi de $1,30 \mu\text{g g}^{-1}$ (Figura 17, Tabela 19 do Apêndice A). Não foi constatada diferença significativa entre a concentração média inicial e as concentrações no final do experimento. No último dia do experimento, verificou-se diferença significativa apenas entre os tratamentos C e DM ($p=0,04$), que apresentaram concentrações de $1,05 \mu\text{g g}^{-1}$ e $1,53 \mu\text{g g}^{-1}$, respectivamente.

No início do experimento, o teor médio de matéria orgânica no sedimento foi de 7,03% (Figura 17, Tabela 19 do Apêndice A). Apenas os tratamentos DM e DU apresentaram diferença significativa entre os teores de matéria orgânica no início e final do experimento ($p=0,04$ e $p=0,03$, respectivamente). No último dia do experimento, observou-se diferença significativa entre DM e DU em comparação ao controle ($p=0,03$ e $p=0,02$, respectivamente). Em relação à granulometria, o sedimento deste tanque foi classificado por Santos (2007) como arenoso, sendo constituído por 73% de areia média e fina.

Figura 17. Concentração de nitrogênio total (%), fósforo total ($\mu\text{g g}^{-1}$) e matéria orgânica (%) no sedimento (média $\pm$ desvio padrão, $n=3$) dos diferentes tratamentos antes da primeira contaminação por Vertimec® 18 CE e no último dia do experimento. *: tratamentos que apresentaram diferença significativa entre a concentração observada no início e no final do experimento.

7.5. Comunidade fitoplanctônica

Analisando todos os tratamentos e coletas realizadas, foram identificados 91 táxons fitoplanctônicos divididos em nove classes (Tabela 10). Chlorophyceae foi a classe mais diversa com 40 espécies, seguida por Cyanophyceae (19), Bacillariophyceae (11), Euglenophyceae (8), Zygnemaphyceae (5), Cryptophyceae (4), Chlamydomonadophyceae (2), Xanthophyceae (1) e Chrysophyceae (1). Três espécies foram consideradas constantes, estando presentes em mais de 90% das amostras analisadas: *Aphanocapsa delicatissima*, *Chlamydomonas* sp. e *Chlorella vulgaris*. As espécies *Pseudanabaena mucicola*, *Scenedesmus ecornis*, *Cryptomonas brasiliensis* e *Cyclotella* sp. foram consideradas frequentes por estarem presentes em 50 a 80% das amostras. A composição taxonômica e a

densidade de cada espécie em cada um dos tratamentos e períodos de coleta são apresentadas nas Tabelas 21 a 26 do Apêndice B.

Tabela 10. Composição taxonômica do fitoplâncton, frequência de ocorrência (FO) e classificação funcional das espécies registradas durante todo o período experimental, considerando todos os tratamentos. **: grupo funcional não identificado.

Taxa	Grupo funcional	FO (%)	Classificação FO
Cyanophyceae			
<i>Anabaena</i> sp.	H1	10,8	Rara
<i>Aphanocapsa delicatissima</i> West & G.S.West	K	100,0	Constante
<i>Aphanocapsa elachista</i> West & G.S.West	K	9,9	Rara
<i>Chroococcus</i> sp.	Lo	25,2	Comum
<i>Epigloeosphaera</i> sp.	K	35,1	Comum
<i>Lyngbya</i> sp.	S1	38,7	Comum
<i>Merismopedia tenuissima</i> Lemmermann	Lo	38,7	Comum
<i>Microcystis aeruginosa</i> (Kützinger) Kützinger	M	31,5	Comum
<i>Nodularia</i> sp.	H1	1,8	Rara
<i>Oscillatoria</i> sp.	Tc	6,3	Rara
<i>Phormidium</i> sp.	Tc	4,5	Rara
<i>Planktolyngbya</i> sp.	S1	3,6	Rara
<i>Pseudanabaena galeata</i> Böcher	MP	48,6	Comum
<i>Pseudanabaena minima</i> (G.S.An.) Anagnostidis	S1	24,3	Comum
<i>Pseudanabaena mucicola</i> (Naumann & Huber-Pestalozzi) Schwabe	S1	54,1	Frequente
<i>Rhabdoderma</i> sp.	Lo	7,2	Rara
<i>Spirulina</i> sp.	S2	0,9	Rara
<i>Synechococcus</i> sp.	K	10,8	Rara
<i>Synechocystis</i> sp.	K	1,8	Rara
Chlamydomonadales			
<i>Chlamydomonas</i> sp. 1	X2	98,2	Constante
<i>Chlamydomonas</i> sp. 2	X2	37,8	Comum
Chlorophyceae			
<i>Acanthosphaera</i> sp.	J	4,5	Rara

<i>Ankistrodesmus falcatus</i> (Corda) Ralfs	X1	9,0	Rara
<i>Ankistrodesmus spiralis</i> (W.B.Turner) Lemmermann	X1	2,7	Rara
<i>Botryococcus braunii</i> Kützing	F	11,7	Rara
<i>Chlamydocapsa</i> sp.	**	0,9	Rara
<i>Chlorella vulgaris</i> Beyerinck [Beijerinck]	X1	91,9	Constante
<i>Coelastrum astroideum</i> De Notaris	J	0,9	Rara
<i>Coelastrum microporum</i> Nägeli	J	0,9	Rara
<i>Coelastrum proboscideum</i> Bohlin	J	0,9	Rara
<i>Coelastrum pulchrum</i> Schmidle (= <i>Coelastrum cambricum</i> W.Archer)	J	4,5	Rara
<i>Coenochloris pyrenoidosa</i> Korshikov	F	3,6	Rara
<i>Crucigenia tetrapedia</i> (Kirchner) Kuntze	J	48,6	Comum
<i>Desmodesmus armatus</i> (R.Chodat) E.Hegewald (= <i>Scenedesmus armatus</i> (R.Chodat) R.Chodat)	J	9,9	Rara
<i>Desmodesmus opoliensis</i> (P.G.Richter) E.Hegewald (= <i>Scenedesmus opoliensis</i> P.G.Richter)	J	6,3	Rara
<i>Elakatothrix</i> sp.	F	0,9	Rara
<i>Eutetramorus</i> sp.	F	1,8	Rara
<i>Golenkinia radiata</i> Chodat	J	19,8	Rara
<i>Gonium</i> sp.	W1	0,9	Rara
<i>Hariotina reticulata</i> P.A.Dangeard (= <i>Coelastrum reticulatum</i> (P.A.Dangeard) Senn)	J	24,3	Comum
<i>Kirchneriella lunaris</i> (Kirchner) K.Möbius	F	32,4	Comum
<i>Kirchneriella obesa</i> (West) West & G.S.West	F	8,1	Rara
<i>Micractinium pusillum</i> Fresenius	F	5,4	Rara
<i>Monoraphidium arcuatum</i> (Korshikov) Hindák	X1	29,7	Comum
<i>Monoraphidium contortum</i> (Thuret) Komárková-Legnerová	X1	23,4	Comum
<i>Monoraphidium griffithii</i> (Berkeley) Komárková-Legnerová	X1	35,1	Comum
<i>Monoraphidium irregulare</i> (G.M.Smith) Komárková-Legnerová	X1	1,8	Rara
<i>Monoraphidium minutum</i> (Nägeli) Komárková-	X1	20,7	Comum

Legnerová			
<i>Mucidosphaerium pulchellum</i> (H.C.Wood) C.Bock,			
Proschold & Krienitz (= <i>Dictyosphaerium pulchellum</i> H.C.Wood)	F	2,7	Rara
<i>Oocystis marssonii</i> Lemmermann	F	28,8	Comum
<i>Pediastrum duplex</i> Meyen	J	3,6	Rara
<i>Scenedesmus communis</i> E.Hegewald (= <i>Scenedesmus quadricauda</i> Chodat)	J	11,7	Rara
<i>Scenedesmus ecornis</i> (Ehrenberg) Chodat	J	55,0	Frequente
<i>Scenedesmus obliquus</i> (Turpin) Kützing (= <i>Scenedesmus acutus</i> Meyen)	J	1,8	Rara
<i>Selenastrum gracile</i> Reinsch	J	7,2	Rara
<i>Sphaerocystis</i> sp.	F	9,0	Rara
<i>Stauridium tetras</i> (Ehrenberg) E.Hegewald (= <i>Pediastrum tetras</i> (Ehrenberg) Ralfs)	J	7,2	Rara
<i>Tetraedron minimum</i> (A.Braun) Hansgirg	J	7,2	Rara
<i>Tetraedron trigonum</i> (Nägeli) Hansgirg	J	3,6	Rara
<i>Treubaria</i> sp.	F	3,6	Rara
<i>Willea rectangularis</i> (A.Braun) D.M.John, M.J.Wynne & P.M.Tsarenko (= <i>Crucigenia rectangularis</i> (Nägeli) Gay)	J	9,0	Rara
Zygnemaphyceae			
<i>Closterium</i> sp.	P	14,4	Rara
<i>Cosmarium</i> sp.	N _A	2,7	Rara
<i>Staurastrum</i> sp.	P	0,9	Rara
<i>Staurastrum gracile</i> Ralfs ex Ralfs	P	3,6	Rara
<i>Staurodesmus</i> sp.	N _A	1,8	Rara
Euglenophyceae			
<i>Euglena</i> sp.	W1	43,2	Comum
<i>Lepocinclis globulus</i> Perty (= <i>Lepocinclis ovum</i> (Ehrenberg) Lemmermann)	W1	7,2	Rara
<i>Monomorphina pyrum</i> (Ehrenberg) Mereschkowsky (= <i>Phacus pyrum</i> (Ehrenberg) W.Archer)	W1	3,6	Rara

<i>Phacus acuminatus</i> Stokes	W1	2,7	Rara
<i>Trachelomonas</i> sp. 1	W2	22,5	Comum
<i>Trachelomonas</i> sp. 2	W2	38,7	Comum
<i>Trachelomonas superba</i> Svirenko	W2	5,4	Rara
<i>Trachelomonas volvocinopsis</i> Svirenko	W2	23,4	Comum
Cryptophyceae			
<i>Cryptomonas brasiliensis</i> A.Castro, C.Bicudo & D.Bicudo	X2	54,1	Frequente
<i>Cryptomonas erosa</i> Ehrenberg	Y	5,4	Rara
<i>Cryptomonas tetrapyrenoidosa</i> Skuja	Y	42,3	Comum
<i>Rhodomonas lacustris</i> Pascher & Ruttner	X2	16,2	Rara
Xantophyceae			
<i>Goniochloris</i> sp.	J	0,9	Rara
Chrysophyceae			
<i>Mallomonas</i> sp.	E	24,3	Comum
Bacillariophyceae			
<i>Aulacoseira granulata</i> (Ehrenberg) Simonsen	P	0,9	Rara
<i>Cyclotella</i> sp.	B	51,4	Frequente
<i>Eunotia</i> sp.	MP	9,0	Rara
<i>Fragilaria</i> sp.	P	0,9	Rara
<i>Navicula</i> sp.	MP	24,3	Comum
<i>Nupela</i> sp.	MP	3,6	Rara
<i>Pinnularia</i> sp.	P	13,5	Rara
<i>Rhoicosphenia</i> sp.	MP	6,3	Rara
<i>Surirella</i> sp.	MP	0,9	Rara
<i>Synedra</i> sp.	D	4,5	Rara
<i>Urosolenia</i> sp.	A	0,9	Rara

Considerando os tratamentos separadamente, foram identificadas 69 espécies fitoplanctônicas em DUG, 67 em DM, 59 em DU e C, 52 em CG e 49 em DMG. Os tratamentos que continham girinos até o final do experimento (CG e DMG) foram os que apresentaram a maior porcentagem de espécies classificadas como raras, de acordo com a sua

frequência de ocorrência. Das espécies identificadas em CG, 50% foram consideradas raras e, em DMG, 36,7%, sendo observadas apenas no início do experimento, enquanto no controle a abundância relativa de espécies raras foi de 25,4%.

A densidade média inicial da comunidade fitoplanctônica foi de $14.441 \text{ ind mL}^{-1}$ e os valores mínimo e máximo encontrados foram de $1.970 \text{ ind mL}^{-1}$ (CG - 11 dias) e $96.919 \text{ ind mL}^{-1}$ (DUG - 3 dias), respectivamente (Figura 18, Tabela 20 do Apêndice B). Verificou-se um aumento acentuado na densidade fitoplanctônica em DUG logo após a morte e retirada dos girinos desse tratamento, sendo observada diferença significativa em relação ao controle ($p=0,007$). Apesar da densidade fitoplanctônica neste tratamento ter diminuído entre a terceira e a quarta coleta, os valores de densidades continuaram significativamente maiores em relação ao controle até a última coleta.

O fator "girinos" foi considerado significativo na diminuição da densidade fitoplanctônica ($p=0,023$). Nos tratamentos que possuíam girinos até o final de experimento (CG e DMG), foram registrados os menores valores de densidade a partir de sete dias após a primeira contaminação. Observou-se também que os tratamentos contaminados que não continham girinos até o final do experimento (DM, DU e DUG) apresentaram as maiores densidades fitoplanctônicas durante a maior parte do período experimental. No entanto, o elevado desvio padrão existente entre as réplicas de cada tratamento dificultou a observação de diferenças significativas entre os mesmos (Tabela 20 do Apêndice B).

Figura 18. Densidade fitoplanctônica média (ind mL^{-1}) nos diferentes tratamentos durante todo o período experimental.

Na Figura 19 e na Tabela 20 do Apêndice B, são apresentados os valores dos índices ecológicos (riqueza, diversidade, dominância e equitabilidade) para a comunidade fitoplanctônica de todos os tratamentos durante todo o período experimental. Antes da primeira contaminação, foi encontrada uma riqueza média de 26 espécies nos mesocosmos. De maneira geral, observou-se uma tendência de redução nos valores de riqueza fitoplanctônica durante o experimento, a qual foi mais acentuada nos tratamentos que apresentavam girinos. O tratamento DMG foi o que apresentou o menor número de espécies, com apenas seis espécies observadas na penúltima coleta, sendo a sua riqueza significativamente menor que a do controle nas duas últimas coletas ($p=0,0005$ e $p=0,04$, respectivamente). CG também apresentou uma riqueza significativamente menor que a verificada no controle nas coletas realizadas 7 e 11 dias após a contaminação ($p=0,03$ e $p=0,003$, respectivamente).

Os valores de diversidade fitoplanctônica observados durante o experimento foram, de maneira geral, elevados, variando entre 1,6 bits ind⁻¹ (DMG - 15 dias) e 3,6 bits ind⁻¹ (C - 3h). Logo após a retirada dos girinos mortos de DUG, quando esse tratamento apresentou um pico no valor de densidade fitoplanctônica, houve uma diminuição significativa na riqueza e diversidade do mesmo ($p=0,006$) (Figura 19). A partir da quarta coleta, houve uma recuperação do tratamento e DUG passou a apresentar, juntamente com DM, os maiores valores de riqueza e diversidade dentro todos os tratamentos.

De maneira inversa à riqueza e à diversidade, houve uma tendência de aumento da dominância na maioria dos tratamentos, variando entre 0,1 (antes da contaminação) e 0,5 no tratamento DMG na penúltima coleta. Os valores de equitabilidade se mantiveram relativamente estáveis durante o experimento, não apresentando diferença significativa em relação à coleta realizada antes da contaminação. Os maiores valores de equitabilidade foram observados no tratamento CG (máximo de 0,83 na coleta realizada 11 dias após a contaminação) e os menores, em DU (mínimo de 0,49 na última coleta).

Figura 19. Valores médios de riqueza, diversidade (bits ind⁻¹), dominância e equitabilidade do fitoplâncton nos diferentes tratamentos durante todo o período experimental.

Em termos de abundância relativa, antes da contaminação, os mesocosmos apresentavam um equilíbrio entre Chlorophyceae, com 29,7% dos indivíduos, Cyanophyceae, com 28,4%, e Chlamydomonadophyceae, com 22,3%, seguidos por Cryptophyceae, com 9,1%, e Bacillariophyceae, com 6,4% (Figura 20). A partir da segunda coleta, em termos de densidade, Cyanophyceae foi a classe mais abundante em quase todos os tratamentos e coletas.

Após a contaminação, houve um aumento significativo ($p=0,049$) da densidade de Cyanophyceae nos tratamentos com a maior concentração de Vertimec (DU e DUG). Nos tratamentos que apresentaram girinos até o final do experimento (CG e DMG), houve uma diminuição mais acentuada na riqueza e densidade de Chlorophyceae se comparado aos demais tratamentos.

Na coleta realizada três dias após a primeira contaminação, houve um bloom das espécies *Aphanocapsa delicatissima* e *Pseudanabaena mucicola* no tratamento DUG, atingindo uma densidade média de Cyanophyceae de 86.496 ind mL⁻¹. Na coleta seguinte, houve uma diminuição da densidade de espécies desta classe para 11.596 ind mL⁻¹ e um aumento da densidade e abundância relativa de Chlamydoephyceae [de 2.290 ind mL⁻¹ (2,3%) para 15.863 ind mL⁻¹ (30,4%)], Cryptophyceae [de 1.132 ind mL⁻¹ (0,3%) para 7.397 ind mL⁻¹ (10,9%)] e Euglenophyceae [de 263 ind mL⁻¹ (1,2%) para 4.950 ind mL⁻¹ (14,9%)]. A densidade de Cryptophyceae se manteve elevada até a penúltima coleta e de Euglenophyceae, até a última coleta. Em relação à riqueza de espécies em DUG, observou-se, de maneira geral, uma diminuição no número de espécies de Chlorophyceae durante o experimento, com 22 espécies identificadas na primeira coleta e 15 na última. Já a riqueza de espécies de Cyanophyceae e Euglenophyceae aumentou.

Figura 20. Abundância relativa média (%) dos táxons fitoplantônicos nos diferentes tratamentos durante todo o período experimental.

Em relação aos grupos funcionais, os grupos K, MP, X1, X2, W2, L_O, S1, F e J foram os mais abundantes, sendo representados principalmente pelas espécies *Aphanocapsa delicatissima*, *Pseudanabaena galeata*, *Chlorella vulgaris*, *Chlamydomonas* sp., *Trachelomonas* sp., *Merismopedia tenuissima*, *Pseudanabaena mucicola*, *Kirchneriella lunaris* e *Scenedesmus ecornis*, respectivamente (Figura 21).

Antes da primeira contaminação, a comunidade fitoplantônica era composta principalmente por espécies pertencentes ao grupo X2 (29,6%), K (23,5%), X1 (15,8%) e J (9,6%), reforçando o equilíbrio observado entre os grupos Chlorophyceae, Cyanophyceae e Chlamydomonadophyceae no início do experimento. Na segunda coleta (3h após a contaminação), verificou-se um aumento significativo ($p < 0,05$) na densidade das espécies do grupo funcional K em todos os tratamentos contaminados com o agrotóxico. O mesmo não ocorreu considerando apenas o fator "girino", não sendo constatada diferença significativa entre C e

CG; DM e DMG; e DU e DUG. A partir da coleta realizada sete dias após a contaminação, no entanto, houve uma diminuição da densidade das espécies pertencentes aos grupos funcionais J e F em CG, e esse tratamento passou a apresentar diferença significativa em relação ao controle.

Três dias após a contaminação, houve um aumento significativo da abundância relativa dos grupos funcionais K e S1 em DUG, diferindo significativamente de todos os demais tratamentos ($p < 0,05$). A partir da quarta coleta, houve um aumento significativo dos grupos W1 e W2 em DUG e, a partir da quinta coleta, dos grupos X1, X2 e Y. Observou-se também, neste tratamento, uma diminuição significativa dos grupos J e F na quinta e sexta coletas, respectivamente. No último dia do experimento, não se observou mais diferença significativa entre o controle e os tratamentos CG, DM, DMG e DU ($p > 0,05$). DUG continuou apresentando uma densidade de K significativamente maior do que a observada no controle até o final do experimento ($p = 0,007$).

Figura 21. Abundância relativa média (%) dos principais grupos funcionais fitoplancctônicos nos diferentes tratamentos durante todo o período experimental.

Os efeitos do Vertimec e da inserção de girinos de *Lithobates catesbeianus* sobre a comunidade fitoplancctônica podem ser observados na PRC apresentada na Figura 22. A PRC mostra que, considerando um nível de confiança de 95%, os tratamentos DM, DU e DUG apresentaram um desvio significativo em relação ao controle, mas, com exceção de DUG, se recuperaram até o fim do experimento. Considerando um nível de confiança de 90% ($\alpha=0,1$), CG e DMG também apresentaram um desvio em relação ao controle três dias após a primeira contaminação (somente DMG) e 15 dias após a primeira contaminação (CG e DMG). De acordo com a PRC, as espécies *Crucigenia tetrapedia*, *Euglena* sp., *Cryptomonas tetrapyrenoidosa* e *Trachelomonas* sp.1 foram favorecidas nos tratamentos contaminados que não apresentavam girinos até o final do experimento (DM, DU e DUG), aumentando

significativamente suas densidades a partir da coleta realizada 11 dias após a primeira contaminação ($p < 0,05$).

Figura 22. Principal Response Curves (PRC) resultante da análise dos dados de densidade das espécies fitoplancônicas durante todo o período experimental. De toda a variância, 34,9% pode ser atribuída aos tratamentos considerados e 11,4%, ao tempo. O peso das espécies (b_k) pode ser interpretado como a afinidade de cada espécie com a PRC. Permutações de Monte Carlo demonstraram que uma parte significativa da variância pode ser explicada pelos diferentes tratamentos apresentados no gráfico ($p = 0,002$).

7.6. Comunidade zooplancônica

Em relação à comunidade zooplancônica, foi observado um total de 42 táxons divididos entre Rotifera (20), Meroplâncton (9), Cladocera (8), Copepoda (4) e Protozoa (1) (Tabela 11). Apenas *Astramoeba* sp. foi considerada constante durante todo o período experimental, estando presente em 95,5% das amostras analisadas. As demais espécies foram consideradas comuns ou raras, uma vez que muitas delas foram observadas apenas em determinados tratamentos ou em apenas algumas coletas. Entre as espécies de Cladocera, destacaram-se *Ceriodaphnia silvestrii* e *Ceriodaphnia cornuta*, principalmente nos estágios de neonato e jovem. Entre os Copepoda, houve predomínio da Ordem Cyclopoida, também sendo representada principalmente pelas formas juvenis (náuplios e copepoditos). A composição taxonômica e a densidade de cada espécie em cada um dos tratamentos e períodos de coleta são apresentadas nas Tabelas 28 a 33 do Apêndice C.

Tabela 11. Composição taxonômica do zooplâncton, frequência de ocorrência (FO) e classificação funcional das espécies registradas durante todo o período experimental, considerando todos os tratamentos. FP: filtrador pequeno; FM: filtrador médio; FG: filtrador grande; P: predador.

Taxa	Grupo trófico funcional	FO (%)	Classificação FO
ROTIFERA			
<i>Ascomorpha ecaudis</i> Perty, 1850	FP	15,3	Rara
<i>Brachionus quadridentatus</i> Hermann, 1783	FP	12,6	Rara
<i>Conochilus unicornis</i> Rousselet, 1892	FP	23,4	Comum
<i>Euchlanis dilatata</i> Ehrenberg, 1832	FP	45,0	Comum
<i>Filinia opoliensis</i> (Zacharias, 1898)	FP	30,6	Comum
<i>Hexarthra intermedia</i> (Wiszniewski, 1929)	FP	35,1	Comum
<i>Kellicottia bostoniensis</i> (Rousselet, 1908)	FP	26,1	Comum
<i>Keratella americana</i> Carlin, 1943	FP	13,5	Rara
<i>Keratella cochlearis</i> (Gosse, 1851)	FP	4,5	Rara
<i>Keratella lenzi</i> Hauer, 1953	FP	7,2	Rara
<i>Keratella tropica</i> (Apstein, 1907)	FP	5,4	Rara
<i>Lecane bulla</i> (Gosse, 1851)	FP	24,3	Comum
<i>Lecane luna</i> (Müller, 1776)	FP	0,9	Rara
<i>Lecane cf. nana</i> (Murray, 1913)	FP	18,0	Rara
<i>Lecane pyriformis</i> (Daday, 1905)	FP	4,5	Rara
<i>Lepadella patella</i> (Müller, 1773)	FP	18,0	Rara
<i>Ploesoma truncatum</i> (Levander, 1894)	P	16,2	Rara
<i>Polyarthra vulgaris</i> Carlin, 1943	FP	48,6	Comum
<i>Synchaeta stylata</i> Wierzejski, 1893	FP	19,8	Rara
<i>Trichocerca cylindrica</i> (Imhof, 1891)	FP	27,9	Comum
COPEPODA			
Calanoida			
Náuplio	FM	9,9	Rara
<i>Argyrodaptomus furcatus</i> (Sars, 1901)	FG	7,2	Rara
<i>Notodaptomus deitersi</i> (Poppe, 1891)	FG	14,4	Rara
Cyclopoida			
Náuplio	FP	37,8	Comum
Copepodito	FM	21,6	Comum
<i>Metacyclops leptopus</i> (Kiefer, 1927)	P	17,1	Rara

Harpacticoida			
Copepodito	P	1,8	Rara
CLADOCERA			
<i>Bosmina freyi</i> De Melo & Hebert, 1994	FM	3,6	Rara
<i>Bosmina hagmanni</i> Stingelin, 1904	FM	11,7	Rara
<i>Ceriodaphnia cornuta</i> Sars, 1886	FM	11,7	Rara
<i>Ceriodaphnia silvestrii</i> Daday, 1902	FM	20,7	Comum
<i>Daphnia gessneri</i> Herbst, 1967	FM	11,7	Rara
<i>Diaphanosoma birgei</i> Korineck, 1981	FM	2,7	Rara
<i>Ilyocryptus spinifer</i> Herrick, 1882	FM	5,4	Rara
<i>Simocephalus serrulatus</i> (Koch, 1841)	FM	5,4	Rara
MEROPLÂNTON			
<i>Chaoborus</i> sp.		12,6	Rara
Chironomidae		2,7	Rara
Collembola		17,1	Rara
Coleoptera		0,9	Rara
Diptera		27,9	Comum
Hydracarina		44,1	Comum
Nematoda		2,7	Rara
Ostracoda		5,4	Rara
Turbellaria		34,2	Comum
PROTOZOA			
<i>Astramoeba</i> sp.		95,5	Constante

Ao contrário do que foi verificado em relação ao fitoplâncton, foi observado um número maior de espécies zooplânctônicas nos tratamentos sem a presença do agrotóxico. Foram identificadas 36 espécies em C, 35 em CG, 29 em DM, 26 em DU, 25 em DUG e 23 em DMG. No entanto, de maneira semelhante ao que foi observado para o fitoplâncton, os tratamentos que continham girinos até o final do experimento (CG e DMG) foram os que apresentaram a maior porcentagem de espécies classificadas como raras (que só foram observadas nas primeiras coletas), representando 48,6% e 47,8% do total de espécies observadas em CG e em DMG, respectivamente. No controle, a abundância relativa de espécies raras foi de apenas 16,7%.

De maneira geral, foram observados baixos valores de densidade zooplânctônica durante o experimento, variando entre 1.754 ind L⁻¹, no tratamento DUG na última coleta, e

apenas 3 ind L⁻¹, no tratamento DMG também na última coleta (Figura 23, Tabela 27 do Apêndice C). A partir da coleta realizada três dias após a contaminação, os tratamentos que ainda possuíam girinos (CG e DMG) passaram a apresentar os menores valores de densidade entre todos os tratamentos, mantendo-se assim até o fim do experimento. O tratamento CG apresentou densidades significativamente menores que o controle até a coleta realizada 11 dias após a contaminação ($p < 0,05$). Já DMG se manteve com densidades significativamente menores até a última coleta ($p < 0,05$). Os tratamentos DM, DU e DUG também apresentaram densidades significativamente menores em relação ao controle nas coletas realizadas 3 e 7 dias após a contaminação ($p < 0,05$). A partir da coleta realizada 11 dias após a contaminação, observou-se um aumento significativo da densidade zooplancônica em DUG, atingindo uma densidade de 1.754 ind L⁻¹ no último dia do experimento.

Figura 23. Densidade zooplancônica média (ind L⁻¹) nos diferentes tratamentos durante todo o período experimental.

Assim como foi observado para a comunidade fitoplanctônica, verificou-se uma tendência geral de diminuição da riqueza e diversidade, e um aumento da dominância na comunidade zooplancônica durante o experimento (Figura 24, Tabela 27 do Apêndice C). Antes da primeira contaminação, os tratamentos possuíam uma média de 19 espécies, 3 bits ind⁻¹ de diversidade e 0,18 de dominância. Na última coleta, observou-se no controle uma média de apenas cinco espécies, 1,7 bits ind⁻¹ de diversidade e 0,39 de dominância. Nos demais tratamentos, com exceção de DUG, houve uma diminuição ainda mais significativa

nos valores de diversidade e riqueza, chegando a ser encontrada uma média de apenas uma espécie nas réplicas do tratamento DMG nas últimas três coletas realizadas.

Os valores de equitabilidade variaram entre 0,86 (DMG - 7 dias) e 0,21 (C - 7 dias), mantendo-se relativamente estáveis na maioria dos tratamentos durante o experimento. Sete dias após a contaminação, observou-se uma diminuição significativa da equitabilidade no controle ($p=0,005$) e um aumento significativo no tratamento DMG ($p=0,01$). Após esta coleta, houve uma recuperação da equitabilidade no controle, aproximando-se, até a última coleta, dos valores observados inicialmente. Já no tratamento DMG, houve uma diminuição da equitabilidade, mantendo-se estável nas duas últimas coletas.

Figura 24. Valores médios de riqueza, diversidade (bits ind⁻¹), dominância e equitabilidade do zooplâncton nos diferentes tratamentos durante todo o período experimental.

Em termos de abundância relativa, antes da contaminação, os mesocosmos apresentavam uma dominância de Rotifera, com 49,1% dos indivíduos, e Copepoda, com

30,5%, seguidos por Cladocera (10,5%), Protozoa (8,2%) e Meroplâncton (1,7%) (Figura 25). Após a contaminação, os tratamentos sem a adição do agrotóxico (C e CG) passaram a apresentar maior abundância relativa de Copepoda, principalmente com organismos jovens (náuplios e copepoditos) da Ordem Cyclopoida. No controle, foram observadas espécies de todos os cinco grandes grupos considerados. No entanto, a partir da coleta realizada 11 dias após a contaminação, houve uma diminuição na densidade e riqueza de Rotifera, que passou a apresentar apenas as espécies *Euchlanis dilatata*, *Hexarthra intermedia* e *Lecane bulla*, e de Cladocera, representada apenas por indivíduos da espécie *Ilyocryptus spinifer*. Em CG, nas duas últimas coletas, não foram observados indivíduos de Rotifera e Cladocera.

No tratamento DM, houve uma diminuição significativa na densidade de copépodos e cladóceros na primeira coleta após a contaminação ($p=0,006$ e $p=0,0003$, respectivamente) e a total eliminação dos mesmos a partir da coleta seguinte. Na última coleta, observou-se novamente a presença de cladóceros (*Bosmina freyi*) em baixa densidade (apenas $0,1 \text{ ind L}^{-1}$) nesse tratamento, indicando uma possível recuperação das espécies desta Ordem. Em DMG, os cladóceros e copépodos não foram encontrados na coleta realizada três horas após a primeira contaminação, mas, na coleta seguinte, foram observadas baixas densidades da espécie *Bosmina hagmanni* e de náuplios de Calanoida. A partir da terceira coleta após a contaminação, não foram mais encontradas espécies de Copepoda e Cladocera nesse tratamento. Em ambos os tratamentos, após a contaminação houve um predomínio de algumas espécies de Rotifera. No tratamento com a presença de girinos (DMG), no entanto, também houve o desaparecimento das espécies de Rotifera a partir da coleta realizada 11 dias após a contaminação, sendo encontradas apenas espécies de Protozoa e do Meroplâncton.

Nos tratamentos com a maior concentração do agrotóxico (DU e DUG), os copépodos foram totalmente eliminados a partir da coleta realizada três horas após a contaminação, não se recuperando até o fim do experimento. Em DUG, os cladóceros também foram totalmente eliminados a partir da primeira coleta após a contaminação. Em DU, houve uma diminuição significativa na densidade dos cladóceros logo após a contaminação (de 37 ind L^{-1} para $0,1 \text{ ind L}^{-1}$, $p=0,0003$), sendo totalmente eliminados na coleta seguinte. Em ambos os tratamentos, a comunidade de cladóceros também não se recuperou até o fim do experimento.

Após o desaparecimento das espécies de Cladocera e Copepoda do tratamento DU, houve um aumento significativo na densidade de indivíduos da Classe Turbellaria, alcançando uma densidade de 160 ind L^{-1} , seguido por uma predominância de espécies de Rotifera e Protozoa. Em DUG, houve um aumento significativo de *Chaoborus* sp., *Astramoeba* sp. e de espécies da Classe Turbellaria, alcançando as densidades de 22 ind L^{-1} , 94 ind L^{-1} e 38 ind L^{-1} ,

respectivamente. A partir da coleta realizada 11 dias após a contaminação, DUG passou a ser dominado por espécies de rotíferos, apresentando na última coleta uma densidade elevada de *Ploesoma truncatum* (1.406 ind L⁻¹), *Keratella lenzi* (173 ind L⁻¹), *Lecane bulla* (83 ind L⁻¹) e *Polyarthra vulgaris* (65 ind L⁻¹).

Figura 25. Abundância relativa média (%) dos táxons zooplanctônicos nos diferentes tratamentos durante todo o período experimental.

A partir da PRC elaborada com os dados de densidade da comunidade zooplanctônica, verificou-se que 43,9% da variância dos dados pode ser atribuída aos tratamentos considerados e 35,2%, ao tempo ($p=0,002$) (Figura 26). Grande parte dos grupos zooplanctônicos apresentaram densidades muito baixas durante o experimento, o que dificultou a observação de efeitos estatisticamente significativos nesses grupos.

A comunidade zooplanctônica foi influenciada em todos os tratamentos considerados, tanto pelo agrotóxico, como pela inserção dos girinos de *Lithobates catesbeianus*, apresentando um desvio significativo em relação ao controle ($p<0,05$). Apesar da tendência de recuperação dos tratamentos, apenas CG se recuperou totalmente até o fim do experimento, não apresentando diferença significativa em relação ao controle ($p>0,05$) a partir da coleta realizada 11 dias após a primeira contaminação. O táxon mais sensível aos tratamentos foi a forma mais jovem de Cyclopoida (náuplio), que desapareceu completamente nos tratamentos

com a presença de Vertimec e apresentou uma diminuição significativa da densidade em CG. *Ceriodaphnia silvestrii* e os copepoditos de Cyclopoida também foram significativamente afetados em todos os tratamentos com a presença do agrotóxico ($p < 0,05$). A densidade de algumas espécies de Rotifera aumentaram nos tratamentos contaminados. Houve um aumento significativo das densidades de *P. vulgaris*, *L. bulla*, *K. bostoniensis* e *L. patella* em DM e DU, e de *K. lenzi*, *P. truncatum*, *P. vulgaris*, *L. bulla*, *L. cf. nana* e *K. tropica* em DUG.

Figura 26. *Principal Response Curves* (PRC) resultante da análise dos dados de densidade das espécies zooplantônicas durante todo o período experimental. De toda a variância, 43,9% pode ser atribuída aos tratamentos considerados e 35,2%, ao tempo. O peso das espécies (b_k) pode ser interpretado como a afinidade de cada espécie com a PRC. Permutações de Monte Carlo demonstraram que uma parte significativa da variância pode ser explicada pelos diferentes tratamentos apresentados no gráfico ($p=0,002$).

8. DISCUSSÃO

8.1. Efeitos da inserção de girinos de *Lithobates catesbeianus* sobre as comunidades zooplanctônica e fitoplanctônica

Segundo Dodds e Whiles (2010), a introdução de espécies exóticas em diferentes habitats tem ocorrido em taxas bastante elevadas em todo o mundo, o que pode gerar efeitos negativos para o ecossistema e para a comunidade nativa. A espécie de anfíbio *Lithobates catesbeianus* (rã-touro) é originária do leste dos Estados Unidos e Canadá, mas tem sido introduzida em diversos países para o consumo humano (BOTH et al., 2011; CUNHA; DELARIVA, 2009; GIOVANELLI et al., 2008). Atualmente, há populações de rã-touro em cerca de 40 países na África, América do Sul, Central e do Norte, Ásia, ilhas do Mediterrâneo e Caribe (KRAUS, 2009). No Brasil, há registros da ocorrência desta espécie em 130 municípios e se acredita que a sua distribuição ainda continua em expansão (BOTH et al., 2011).

Considerando a conectividade existente entre os diferentes táxons presentes em uma cadeia trófica, analisou-se o impacto da inserção de girinos de *Lithobates catesbeianus*, no estágio 25 de Gosner, sobre a comunidade planctônica e a qualidade da água de mesocosmos. Nesse sentido, o conceito de cascata trófica determina que alterações em diferentes níveis da cadeia alimentar ou na disponibilidade de recursos básicos no meio podem gerar alterações em toda a cadeia (CARPENTER et al., 1985; CARPENTER; KITCHELL, 1993; HEATH et al., 2014). Existem dois tipos principais de propagação de efeitos no fenômeno da cascata trófica: "bottom-up" e "top-down". No primeiro, os efeitos são gerados inicialmente a partir de mudanças nas fontes de recursos dos produtores primários (por exemplo, os nutrientes) e então difundidos para os demais elos da cadeia trófica. No segundo, os efeitos são iniciados a partir de modificações nos predadores de topo e então difundidos para os níveis tróficos mais baixos (HEATH et al., 2014).

Com a inserção de girinos de *Lithobates catesbeianus* no tratamento CG (controle com girinos), sem a adição de nenhum contaminante ou qualquer outra alteração no meio, procurou-se analisar a existência de efeitos "top-down" na cadeia trófica. Uma cadeia hipotética dos efeitos ocorridos a partir da inserção dos girinos sobre a qualidade da água e sobre a comunidade fitoplanctônica e zooplanctônica é apresentada na Figura 27.

Figura 27. Resumo esquemático da cadeia hipotética de efeitos diretos e indiretos causados pela inserção de girinos de *Lithobates catesbeianus* sobre a qualidade da água e sobre as comunidades fitoplanctônica e zooplanctônica.

A concentração de oxigênio dissolvido nos tratamentos, de maneira geral, manteve-se baixa durante todo o período experimental. Isto provavelmente estava relacionado ao confinamento da água, simulando um ambiente lântico, com baixa turbulência, o que dificulta os mecanismos de difusão do oxigênio. Além disso, todas as coletas, com exceção da primeira após a inserção dos girinos, foram realizadas no início da manhã. Segundo Esteves (2011), em ambientes lânticos rasos, as menores concentrações de oxigênio são encontradas no período da madrugada ou da manhã, uma vez que a atividade fotossintética é baixa nesse período do dia.

Após a inserção de girinos em CG, houve uma redução na concentração de oxigênio dissolvido, sendo observada diferença significativa em relação ao controle a partir da terceira coleta, quando a concentração de oxigênio dissolvido chegou a $2,58 \text{ mg L}^{-1}$. Esta redução ocorreu, dentre outras razões, como consequência do consumo de oxigênio pelos girinos através da respiração. Devido à intensa atividade metabólica para a realização da metamorfose, girinos em estágio pré-metamórfico apresentam uma elevada demanda de oxigênio (CROWDER et al., 1998; ORLOFSKE; HOPKINS, 2009).

Apesar da diminuição significativa na concentração de oxigênio em CG, não houve mortalidade dos girinos presentes no tratamento. Segundo Crowder et al. (1998), os girinos de rã-touro podem sobreviver em ambientes com baixas concentrações de oxigênio. Isto ocorre porque os girinos desta espécie em estágio pré-metamórfico possuem um sistema respiratório eficiente, podendo respirar na água pelas brânquias e pele, mas também realizar ocasionalmente respiração aérea na superfície da água (CROWDER et al., 1998). Em um estudo realizado por Castro e Pinto (2000), girinos de rã-touro cultivados na densidade de 1 ind L⁻¹ apresentaram elevada resistência a baixos níveis de oxigênio dissolvido. Não foi observada mortalidade e nem alteração no ganho de peso dos indivíduos mesmo quando foram mantidos por prolongados períodos de tempo em ambientes com concentrações de oxigênio dissolvido menores que 1 mg L⁻¹, sendo a concentração mínima observada de apenas 0,05 mg L⁻¹.

A diminuição da concentração de oxigênio dissolvido também foi favorecida pela decomposição das fezes dos girinos. De acordo com Vanni (2002), a excreção dos organismos consumidores é uma importante fonte de nutrientes dissolvidos e matéria orgânica para micro-organismos e produtores primários. A excreção dos girinos é responsável pela liberação na água de fósforo, matéria orgânica dissolvida e, principalmente, nitrogênio na forma de amônio (POUGH et al., 2008; RUGENSKI et al., 2012).

A concentração de nutrientes na água dos mesocosmos já se encontrava inicialmente elevada, sendo todos os tratamentos classificados como hipereutróficos. O elevado grau de trofia inicial observado nos tratamentos, provavelmente, estava relacionado ao confinamento do sistema e à elevada concentração de nutrientes da água de origem, proveniente do reservatório do Lobo (MORUZZI et al., 2012). Com a excreção dos girinos, houve um aumento significativo na concentração das formas dissolvidas de fósforo no tratamento CG, alcançando a concentração de 94,3 µg L⁻¹ de fosfato inorgânico na quarta coleta, e de 123,0 µg L⁻¹ de fosfato total dissolvido na terceira. Esse aumento na concentração de fosfato também pode ter sido favorecido pela baixa concentração de oxigênio dissolvido na água, visto que o déficit de oxigênio favorece a liberação do íon fosfato na coluna d'água, diminuindo a precipitação do mesmo com metais como o ferro (DODDS; WHILES, 2010; ESTEVES, 2011).

Também foi observado um aumento significativo na concentração de nitrogênio total e, principalmente, de amônio na água, que aumentou de 36 µg L⁻¹ (3h após a inserção dos girinos) para 551,3 µg L⁻¹ (11 dias após a inserção). Altas concentrações do íon amônio podem causar implicações ecológicas significativas. Além de influenciar fortemente a

dinâmica do oxigênio dissolvido no meio, o íon amônio, em pH básico e altas temperaturas, se transforma em amônia livre (NH_3), que pode ser tóxica para alguns organismos dependendo da sua concentração (ESTEVES, 2011). Com o aumento na concentração de nutrientes, observou-se também um aumento significativo da condutividade da água, que chegou a $88 \mu\text{S cm}^{-1}$ durante a quarta coleta. De acordo com Dodds e Whiles (2010), águas com elevadas concentrações de nutrientes tendem a apresentar elevados valores de condutividade. Vale ressaltar, no entanto, que os valores de condutividade se mantiveram abaixo do limite superior estimado para águas naturais brasileiras, que é de $100 \mu\text{S cm}^{-1}$ (CETESB, 2014).

As concentrações de nitrato e nitrito se mantiveram baixas durante quase todo o período experimental. De acordo com Esteves (2011), a concentração de amônio na água pode se manter elevada devido a pouca eficiência do processo de nitrificação em condições de déficit de oxigênio. Apenas a partir da penúltima coleta, observou-se um aumento na concentração de nitrato e nitrito em CG, alcançando, na última coleta, os valores de $354,4 \mu\text{g L}^{-1}$ e $309,9 \mu\text{g L}^{-1}$, respectivamente. Esse aumento pode estar relacionado ao processo de nitrificação da amônia, que é oxidada a nitrito, e este a nitrato. Esse processo também é responsável pelo consumo de oxigênio (demanda nitrogenada) e pode indicar uma tendência de recuperação do sistema a partir do fenômeno da autodepuração (VON SPERLING, 2005).

A Análise de Componentes Principais (ACP) sugeriu a mesma tendência observada nos dados limnológicos. A partir da coleta realizada sete dias após a inserção dos girinos, o tratamento CG apresentou uma correlação positiva com as variáveis nitrogênio total, condutividade e amônio.

A inserção de girinos, além de influenciar a qualidade da água, também pode interferir em diferentes níveis da cadeia trófica. Em muitos ambientes, os girinos modificam significativamente os recursos disponíveis, influenciando outros consumidores (KUPFERBERG, 1997; RANVESTEL et al., 2004; WHILES et al., 2006). Segundo Schiesari et al. (2009), eles são importantes componentes das cadeias alimentares aquáticas, pois são abundantes, consomem grandes quantidades de alimento e são presas em potencial para diversos organismos. Os girinos da espécie *Lithobates catesbeianus* apresentam hábitos alimentares generalistas e um comportamento predatório não seletivo, consumindo não só componentes do perifíton e do fitoplâncton, mas também insetos e espécies do zooplâncton (SCHIESARI et al., 2009; WHILES et al., 2010).

Na coleta realizada três dias após a inserção dos girinos, observou-se uma diminuição significativa na densidade e riqueza zooplanctônica, sendo encontradas em CG apenas oito

espécies e uma densidade média de 40 ind L⁻¹, enquanto no controle (C) foram encontradas 17 espécies e uma densidade de 1.223 ind L⁻¹. A partir da penúltima coleta (15 dias após a inserção dos girinos), foi observado o desaparecimento das espécies de Rotifera e Cladocera e um predomínio dos estágios mais jovens de Copepoda, de espécies pertencentes ao Meroplâncton e Protozoa.

Esta diminuição na densidade e riqueza zooplancônica provavelmente ocorreu como um resultado dos efeitos diretos (aumento da predação e da competição por recursos alimentares) e indiretos (diminuição na concentração de oxigênio dissolvido) da inserção dos girinos. De acordo com Dodds e Whiles (2010), como um resultado das baixas concentrações de oxigênio dissolvido, as comunidades invertebradas são dominadas por larvas de Diptera, espécies de Turbellaria e de chironomídeos, e por espécies pequenas com baixas demandas de oxigênio como, por exemplo, os anelídeos e planárias. Baixas concentrações de oxigênio dissolvido têm um efeito significativo sobre os cladóceros e rotíferos, diminuindo a sua taxa de crescimento e reprodução, e aumentando a taxa de mortalidade (FERREIRA et al. 2008; YOSHIMURA et al., 2003). A amônia livre (NH₃) também é reconhecida por causar toxicidade a espécies de Cladocera e Rotifera (CAMARGO; ALONSO, 2006; LYU et al., 2013). No presente trabalho, no entanto, acredita-se que a maior parte do nitrogênio amoniacal estava presente na forma de amônio, pois a amônia livre é instável em valores de pH ácidos ou neutros (DODDS; WHILES, 2010).

Logo após a inserção dos girinos, também houve uma diminuição na densidade do fitoplâncton, mantendo-se abaixo da densidade observada no controle durante todo o período experimental. No entanto, devido à elevada variabilidade observada entre as réplicas nas variáveis relativas à comunidade planctônica, apenas nas coletas realizadas sete e 11 dias após a inserção dos girinos, verificou-se uma redução significativa na densidade e riqueza do fitoplâncton. Uma diminuição significativa na concentração de clorofila *a* na água já foi observada a partir da terceira coleta, mantendo-se significativamente menor que a observada no controle até o fim do experimento. Esta diminuição na densidade fitoplanctônica também pode ter favorecido a permanência de baixas concentrações de oxigênio dissolvido na água devido à diminuição na fotossíntese. Apesar da maior densidade de espécies de Cyanophyceae no meio, as espécies fitoplanctônicas mais afetadas foram as pertencentes aos grupos funcionais J e F, compostos por espécies de Chlorophyceae, o que pode estar relacionado ao fato de algumas cianobactérias serem consideradas impalatáveis devido ao seu revestimento gelatinoso e à produção de toxinas (KUPFERBERG et al., 1994; WARINGER-LÖSCHENKOHL; SCHARGERL, 2001).

Arribas et al. (2014) estudaram os efeitos da inserção de seis espécies de girinos na estrutura da comunidade presente em lagoas temporárias através de estudos em mesocosmos, e observaram que os girinos afetaram a qualidade da água, a abundância fitoplanctônica e a diversidade zooplanctônica. De acordo com os autores, a diminuição na diversidade zooplanctônica pode ter sido causada tanto pela predação direta dos girinos como pela competição entre o zooplâncton e os girinos para o consumo de espécies do fitoplâncton. Kupferberg (1997) analisou os efeitos da invasão de girinos de *Lithobates catesbeianus* no norte da Califórnia (EUA) em experimentos em pequena escala e verificou uma diminuição significativa na abundância algal nos tratamentos com a presença desta espécie. Segundo o autor, as alterações na comunidade fitoplanctônica causaram indiretamente a diminuição da sobrevivência e da massa corpórea na metamorfose da espécie nativa de girino *Rana boylei*. Através da combinação de pesquisas de campo e experimentos em mesocosmos, Preston et al. (2012) também constataram que a inserção de girinos de rã-touro, não nativa da região estudada, reduziu a taxa de crescimento de espécies nativas de girinos.

Como pode ser observado nos resultados da presente pesquisa e dos demais trabalhos citados, girinos de rã-touro podem ocasionar diversos impactos sobre a qualidade da água e em outras espécies presentes no meio. Esta é uma espécie de grande porte, bastante resistente, com elevada taxa de fecundidade e hábitos alimentares generalistas, tornando-se uma espécie invasora de sucesso e podendo, assim, prejudicar as espécies nativas de anfíbios e a dinâmica dos ecossistemas (BOELTER; CECHIN, 2007; KAEFER et al., 2007; ROCHA-MIRANDA et al., 2006). Nesse sentido, verifica-se a necessidade de ações efetivas de controle desta espécie no Brasil.

8.2. Impacto da aplicação única e múltipla do agrotóxico Vertimec® 18 CE nas comunidades zooplanctônica e fitoplanctônica

Como grande parte dos inseticidas, a abamectina também age no sistema nervoso dos organismos. Ela atua como agonista do GABA (ácido gama-aminobutírico), neurotransmissor das células nervosas. Além disso, pode se ligar aos canais de cloro com glutamato em células nervosas e musculares de invertebrados. Em ambos os casos, ela causa um forte influxo de cloreto, bloqueando a transmissão de sinais neurais e provocando, assim, a paralisia e morte dos parasitas (CAMPBELL, 1989; TIŠLER; ERŽEN, 2006). Desta maneira, é esperado que a abamectina cause maior toxicidade sobre os organismos vertebrados e invertebrados em relação às algas.

Esta tendência foi verificada nos tratamentos contaminados com o Vertimec tanto em dose múltipla, com a concentração nominal de $2 \mu\text{L L}^{-1}$ (DM), como em dose única, com a concentração de $8 \mu\text{L L}^{-1}$ (DU). Na primeira coleta após a aplicação do agrotóxico, já foi observada a diminuição e até mesmo a eliminação das espécies zooplancônicas pertencentes aos grupos Cladocera e Copepoda. Consequentemente, houve uma diminuição da predação e da competição por recursos por parte desses grupos, o que favoreceu o aumento da densidade de algumas espécies tolerantes de Rotifera, do fitoplâncton e também da concentração de clorofila *a* na água (Figura 28).

Com o aumento da densidade fitoplanctônica, houve uma diminuição na concentração das formas dissolvidas de nitrogênio (amônio, nitrito e nitrato). Esta redução provavelmente estava relacionada à assimilação dessas formas nitrogenadas pelo fitoplâncton para a composição de moléculas como, por exemplo, as proteínas (DODDS; WHILES, 2010; ESTEVES, 2011). Além disso, embora tenha ocorrido uma tendência de aumento da condutividade da água em todos os mesocosmos, os tratamentos DM e DU apresentaram os menores valores de condutividade dentre todos os tratamentos a partir da primeira coleta após a contaminação. Foi observada diferença significativa em relação ao controle a partir da coleta realizada sete dias após a contaminação, o que também pode estar relacionado à redução da concentração de nutrientes dissolvidos na água.

Figura 28. Resumo esquemático da cadeia hipotética de efeitos diretos e indiretos causados pela aplicação do Vertimec® 18 CE em dose múltipla ($2 \mu\text{L L}^{-1}$) e em dose única ($8 \mu\text{L L}^{-1}$) sobre a qualidade da água e sobre as comunidades fitoplanctônica e zooplanctônica.

Ambos os tratamentos apresentaram a mesma tendência geral de alterações nas comunidades planctônicas e na qualidade da água. No entanto, foram observadas diferenças significativas entre os mesmos quando comparada a composição da comunidade planctônica e a intensidade dos impactos no decorrer do experimento. Já na primeira coleta após a contaminação, houve uma diminuição significativa na densidade de Cladocera em ambos os tratamentos, com o desaparecimento das espécies deste grupo na coleta seguinte. Na última coleta, houve o reaparecimento da espécie *Bosmina freyi* em DM, o que pode indicar uma recuperação da população de Cladocera neste tratamento. O mesmo não foi observado em DU. Também houve o desaparecimento das espécies de Copepoda a partir da segunda coleta após a contaminação em DM e logo na primeira coleta após a contaminação em DU.

Verificou-se assim um elevado impacto das concentrações testadas de Vertimec nas espécies de Cladocera e Copepoda. Estes grupos zooplanctônicos são reconhecidos por serem sensíveis à contaminação por inseticidas (DAAM et al., 2008a; HANAZATO, 2001; LÓPEZ-

MANCISIDOR et al., 2008a; NOVELLI et al., 2012a; VAN WIJNGAARDEN et al., 2004). Chang et al. (2005), por exemplo, também observaram a eliminação dos cladóceros após a aplicação de $0,5 \text{ mg L}^{-1}$ do inseticida carbaril em mesocosmos. Além disso, em estudos realizados anteriormente, é possível constatar que concentrações de Vertimec mais baixas do que as utilizadas no presente estudo já são bastante tóxicas aos microcrustáceos (Tabela 12).

Tabela 12. Sensibilidade de diferentes espécies ao agrotóxico Vertimec® 18 CE ou ao seu princípio ativo (abamectina). Todas as concentrações são apresentadas em função do princípio ativo ($\mu\text{g abamectina L}^{-1}$) para facilitar a comparação. Para *Chaoborus* sp. foram encontrados, na mesma referência, mais de um valor para o endpoint considerado, sendo apresentado o intervalo de valores (mínimo - máximo).

Espécie	Grupo taxonômico	Endpoint	Valor ($\mu\text{g abamectina L}^{-1}$)	Referência
<i>Daphnia similis</i>	Cladocera	CE ₅₀ , 48h - imobilidade	$5,1 \cdot 10^{-3}$	Novelli et al. (2012a)
<i>Daphnia magna</i>	Cladocera	CE ₅₀ , 48h - imobilidade	0,25	Tišler e Eržen (2006)
<i>Simocephalus</i> sp.	Cladocera	CE ₅₀ , 48h - imobilidade	0,3	EC (2006)
<i>Diaphanosoma</i> sp.	Cladocera	CE ₅₀ , 48h - imobilidade	0,53	EC (2006)
<i>Ceriodaphnia silvestrii</i>	Cladocera	CE ₅₀ , 48h - imobilidade	1,47	Casali-Pereira (2013)*
<i>Chironomus sancticaroli</i>	Insecta	CL ₅₀ , 96h - mortalidade	$9,7 \cdot 10^{-2}$	Ramos (2013)*
<i>Chironomus xanthus</i>	Insecta	CL ₅₀ , 96h - mortalidade	2,67	Novelli et al. (2012a)
<i>Chaoborus</i> sp.	Insecta	CE ₅₀ , 24h - imobilidade	41 - 190	EC (2006)
<i>Danio rerio</i>	Pisces	CL ₅₀ , 48h - mortalidade	33	Novelli et al. (2012a)
<i>Danio rerio</i>	Pisces	CL ₅₀ , 96h - mortalidade	55,1	Tišler e Eržen (2006)
<i>Girardia tigrina</i>	Platyhelminthes	CL ₅₀ , 96h - mortalidade	494	Ramos (2013)*
<i>Lithobates catesbeianus</i> 21G	Amphibia	CL ₅₀ , 96h - mortalidade	54,9	Vasconcelos (2014)*
<i>Lithobates catesbeianus</i> 25G	Amphibia	CL ₅₀ , 96h - mortalidade	138,4	Vasconcelos (2014)*
<i>Hydra viridissima</i>	Hydrozoa	CL ₅₀ , 96h - mortalidade	$2,5 \cdot 10^3$	Ramos (2013)*
<i>Brachionus calyciflorus</i>	Rotifera	CE ₅₀ , 24h - imobilidade	$4 \cdot 10^3$	EC (2006)
<i>Pseudokirchneriella subcapitata</i>	Chlorophyceae	CE ₅₀ , 96h - crescimento	$1,5 \cdot 10^4$	Vieira (2010)
<i>Scenedesmus subspicatus</i>	Chlorophyceae	CE ₅₀ , 72h - crescimento	$4,4 \cdot 10^3$	Tišler e Eržen (2006)
<i>Scenedesmus obliquus</i>	Chlorophyceae	CE ₅₀ , 96h - crescimento	$9,9 \cdot 10^3$	Ma et al. (2002)
<i>Chlorella pyrenoidosa</i>	Chlorophyceae	CE ₅₀ , 96h - crescimento	$7,3 \cdot 10^3$	Ma et al. (2002)

* Teste de toxicidade realizado com o produto comercial Vertimec® 18 CE.

Logo após a contaminação, a densidade fitoplanctônica nos tratamentos DM e DU passou a ser significativamente maior que a observada no controle, ocorrendo um aumento das espécies de Cyanophyceae e Chlorophyceae. A densidade média do fitoplâncton em DM e DU se manteve superior ao controle durante todo o período experimental. No entanto, devido à elevada variabilidade das réplicas em relação aos parâmetros da comunidade, verificou-se diferença significativa apenas nas duas primeiras coletas após a contaminação. Já a concentração de clorofila *a* na água se manteve significativamente maior até a penúltima coleta em DM e até o final do experimento em DU. Diversos autores também observaram um aumento significativo da densidade do fitoplâncton devido à contaminação por inseticidas (COTHRAN et al., 2011; DAAM et al., 2008b; GRONER; RELYEA, 2011; RELYEA; DIECKS, 2008). Cothran et al. (2011) e Groner e Relyea (2011), em estudos realizados em mesocosmos, notaram a ocorrência de blooms fitoplanctônicos em todos os tratamentos contaminados com o inseticida malation. Esse aumento do fitoplâncton provavelmente está relacionado à diminuição da herbivoria ocorrida devido à diminuição da densidade de algumas espécies zooplanctônicas, pertencentes, principalmente, à ordem Cladocera.

Com a diminuição na competição e predação devido à eliminação das espécies de Cladocera e Copepoda, e o aumento da disponibilidade de alimento (aumento do fitoplâncton), observou-se um aumento significativo na densidade de algumas espécies tolerantes de Rotifera como *K. bostoniensis*, *P. vulgaris*, *L. bulla*, *L. patella* e *K. americana*. Várias espécies de Rotifera são frequentemente citadas por aumentar a sua densidade em sistemas contaminados com inseticidas como um resultado da redução da predação e competição causada pela diminuição na densidade de cladóceros (CHANG et al., 2005; DAAM et al., 2008b; FLEEGER et al., 2003; HANAZATO; YASUNO, 1990; VAN WIJNGAARDEN et al., 2005). Além disso, a maioria das espécies de rotíferos é considerada R-estrategista, podendo apresentar elevada densidade mesmo em ambientes dominados por Cyanophyceae, como nos mesocosmos estudados (SANTOS, 2014).

A concentração de amônio na água apresentou diminuição significativa, em DM e DU, a partir da primeira coleta após a contaminação. A partir da coleta realizada sete dias após a contaminação, a concentração de amônio voltou a subir, mantendo-se, no entanto, menor que a encontrada no controle durante todo o período experimental. As concentrações de nitrito e nitrato também diminuíram significativamente em ambos os tratamentos. Como citado anteriormente, as formas dissolvidas inorgânicas de nitrogênio são nutrientes essenciais para os organismos fotossintéticos (DODDS; WHILES, 2010; ESTEVES, 2011). Assim, a redução

observada nas concentrações de amônio, nitrito e nitrato pode estar relacionada ao aumento da densidade fitoplanctônica nesses tratamentos. Na última coleta, observou-se, em DM, uma tendência de aumento de nitrito e nitrato. Já DU manteve concentrações baixas desses nutrientes até o fim do experimento.

Durante o período do experimento (20 dias), apenas o tratamento DM apresentou um possível início de recuperação do grupo Cladocera, mas não foi possível verificar uma recuperação clara da comunidade planctônica em ambos os tratamentos. O tempo de meia vida da abamectina na água é considerado pequeno, sendo de apenas 12 horas na superfície da água e de quatro dias em lagos (CAMPBELL, 1989). No entanto, a formulação comercial apresenta, além do princípio ativo, outros componentes, conhecidos como "ingredientes inertes", que geralmente não são descritos na bula do produto. Dentre esses ingredientes, encontram-se os surfactantes, que são utilizados para aumentar o período de atividade do agrotóxico, o que pode, consequentemente, aumentar a sua toxicidade. Novelli et al. (2012b), em experimento realizado em mesocosmos com o Vertimec, relataram que a toxicidade do produto se prolongou por mais tempo do que o observado apenas com a abamectina. Diversos autores também verificaram, para outros agrotóxicos, uma maior toxicidade da formulação comercial em relação ao ingrediente ativo (BEGGEL et al., 2010; COX; SURGAN, 2006; LIPOK et al., 2010; PEREIRA et al., 2009).

8.3. Efeitos combinados do agrotóxico Vertimec® 18 CE e da inserção de girinos de *Lithobates catesbeianus* sobre as comunidades zooplanctônica e fitoplanctônica

Como foi mostrado nos itens 8.1 e 8.2, girinos da espécie *Lithobates catesbeianus* e o agrotóxico Vertimec podem produzir efeitos diretos e indiretos tanto na qualidade da água como na comunidade planctônica. Nesse contexto, procurou-se determinar os efeitos de interação produzidos por esses dois fatores de estresse para a comunidade planctônica. Como afirmaram Sih et al. (2004), no ambiente os organismos estão expostos a vários estressores, tanto naturais como induzidos pelo homem, que podem atuar de maneira sinérgica.

De acordo com Hanazato (1998), os produtos tóxicos podem alterar de maneira diferenciada a densidade populacional de presas e predadores, afetando as interações existentes na comunidade. Nos tratamentos com aplicação do Vertimec e introdução dos girinos de rã-touro (DMG e DUG), as duas dosagens do agrotóxico aplicadas ($2 \mu\text{L L}^{-1}$ e $8 \mu\text{L L}^{-1}$) causaram impactos de diferentes intensidades sobre os girinos, ocasionando respostas também diferenciadas da comunidade planctônica e da qualidade da água (Figuras 29 e 30).

No tratamento em que o agrotóxico foi aplicado em dose múltipla, na concentração nominal de $2 \mu\text{L L}^{-1}$, não houve mortalidade de girinos. No entanto, segundo Vasconcelos (2014), neste tratamento houve um aumento do período larval dos organismos (tempo até a metamorfose), não apresentando ao final do experimento nenhum indivíduo metamorfoseado. No tratamento controle com girinos (CG), a proporção de indivíduos metamorfoseados foi de 4,6%. Além disso, segundo a autora, no tratamento DMG houve uma maior perda de massa corpórea dos girinos em relação ao peso médio inicial se comparado aos girinos presentes em CG. Já no tratamento com dose única (DUG), que foi contaminado com uma concentração nominal equivalente à $\text{CL}_{50,96\text{h}}$ para girinos de *Lithobates catesbeianus* ($8 \mu\text{L L}^{-1}$), todos os girinos morreram em menos de 12h.

Figura 29. Resumo esquemático da cadeia hipotética de efeitos diretos e indiretos causados pela inserção de girinos de *Lithobates catesbeianus* e pela aplicação do Vertimec® 18 CE em dose múltipla ($2 \mu\text{L L}^{-1}$) sobre a estrutura e funcionamento do ecossistema.

Figura 30. Resumo esquemático da cadeia hipotética de efeitos diretos e indiretos causados pela inserção de girinos de *Lithobates catesbeianus* e pela aplicação do Vertimec® 18 CE em dose única ($8 \mu\text{L L}^{-1}$) sobre a estrutura e funcionamento do ecossistema. Obs.: A variável matéria orgânica está acompanhada pelo símbolo (?) por ter sido a única variável do esquema não determinada diretamente no presente trabalho.

No início do experimento, ambos os tratamentos possuíam girinos de rã-touro na densidade de $0,4 \text{ ind L}^{-1}$ e, assim como foi observado em CG, a qualidade da água dos mesocosmos foi modificada pela presença dos mesmos. Como já foi discutido no item 8.1 do presente trabalho, a excreção dos girinos provavelmente causou o aumento da concentração de fósforo total, fosfato inorgânico, fosfato total dissolvido, nitrogênio total e, principalmente, de amônio na água, o que favoreceu o aumento da condutividade. Com a decomposição dos excretas produzidos pelos girinos e a respiração desses organismos, houve uma diminuição significativa da concentração de oxigênio dissolvido na água.

Como em DMG não houve mortalidade dos girinos, a comunidade planctônica e a qualidade da água nesse tratamento foram influenciadas não só pela contaminação com o agrotóxico, mas também pela presença dos girinos durante todo o período experimental. Provavelmente devido à predação dos girinos, houve uma diminuição significativa na densidade e riqueza da comunidade fitoplanctônica e da concentração de clorofila *a* na água.

Com a diminuição da fotossíntese, a utilização de oxigênio durante o processo de nitrificação do amônio, a respiração dos girinos e a decomposição dos seus excretas, a concentração de oxigênio dissolvido nesse tratamento foi a menor dentre todos os tratamentos durante quase todo o período experimental, mantendo-se abaixo de 2 mg L^{-1} a partir da coleta realizada três dias após a contaminação.

A predação dos girinos também contribuiu, juntamente com o Vertimec, para a diminuição da densidade zooplancônica logo na primeira coleta após a contaminação, com a completa eliminação das espécies de Copepoda e Cladocera a partir da coleta realizada sete dias após a contaminação. Na quarta coleta após a contaminação, também se observou o desaparecimento das espécies de Rotifera em DMG, sendo encontradas nesse tratamento apenas espécies pertencentes aos grupos Meroplâncton e Protozoa. Esta diminuição nas espécies de rotíferos, provavelmente, estava relacionada à presença dos girinos, visto que, no tratamento DM, que foi contaminado com a mesma concentração do agrotóxico, houve o aumento da densidade de espécies tolerantes de Rotifera.

Chang et al. (2005) avaliaram as respostas do zooplâncton ao inseticida carbaril, em mesocosmos, com diferentes densidades populacionais de um predador invertebrado (*Mesocyclops pehpeiensis*). Após a aplicação do inseticida, os cladóceros foram eliminados independentemente da densidade de predadores presente. Em contrapartida, após o desaparecimento dos cladóceros, a densidade de rotíferos aumentou apenas nos tanques com baixa densidade de predadores. Assim, os autores concluíram que a elevada abundância de predadores que não são significativamente afetados pelos produtos químicos pode exercer um sério impacto sobre as espécies de presas restantes. Os predadores podem reprimir o aumento populacional das mesmas, visto que a eliminação de alimentos alternativos pelos contaminantes aumenta a pressão de predação sobre as presas.

Além disso, acredita-se que esse impacto significativo na comunidade zooplancônica também tenha sido causado pela propagação de efeitos indiretos, como a baixa concentração de oxigênio dissolvido na água e a diminuição da disponibilidade de alimento (fitoplâncton). Ferreira et al. (2008) e Hanazato e Dodson (1995) também relataram efeitos sinérgicos entre agrotóxicos e baixas concentrações de oxigênio dissolvido na água. No estudo realizado por Ferreira et al. (2008), os valores de $CL_{50,48h}$ do agrotóxico carbendazim para *Daphnia magna* passaram de $145,3 \text{ } \mu\text{g L}^{-1}$ para $54,1 \text{ } \mu\text{g L}^{-1}$, ao variar a concentração de oxigênio dissolvido de 9 mg L^{-1} para $2,5 \text{ mg L}^{-1}$. Ao contrário do que foi observado em DM, a comunidade presente em DMG não demonstrou sinais de recuperação até o fim do experimento, evidenciando a influência da complexidade da cadeia trófica nos efeitos causados por agrotóxicos. Kattwinkel

et al. (2014) verificaram, a partir da utilização de um modelo ecológico, que o tempo de recuperação de uma população após a exposição a um contaminante pode ser mais de três vezes superior na presença de espécies competidoras.

Em DUG, embora os girinos mortos tenham sido retirados assim que foi notificada a morte dos mesmos (cerca de 12 horas depois), provavelmente, houve um aumento na concentração de matéria orgânica presente no meio, sendo observado um aumento significativo da turbidez da água, que também foi favorecido pelo aumento da densidade fitoplanctônica. A elevada temperatura da água (média de 26,4 °C durante o experimento) favoreceu a ocorrência de elevadas taxas de decomposição da matéria orgânica e, conseqüentemente, a diminuição da concentração de oxigênio dissolvido na água, que atingiu uma concentração de 0,3 mg L⁻¹ na coleta realizada três dias após a contaminação. A partir da coleta seguinte, verificou-se um aumento na concentração de oxigênio dissolvido (ainda mantida em níveis bastante baixos), visto que não havia mais consumo de oxigênio por parte dos girinos.

A concentração nominal de Vertimec aplicada em DUG (8 µL L⁻¹) também eliminou totalmente as espécies de Cladocera e Copepoda logo na coleta realizada três horas após a contaminação. Segundo Hanazato (2001), as espécies do macrozooplâncton são, em geral, mais sensíveis ao estresse químico do que o microzooplâncton. Após o desaparecimento dos cladóceros e copépodos, houve um aumento significativo de *Chaoborus* sp., *Astramoeba* sp. e de espécies da Classe Turbellaria em DUG. Em revisão realizada por Maltby et al. (2005), todos os 16 inseticidas investigados também foram mais tóxicos para os artrópodes do que para os invertebrados não artrópodes como, por exemplo, as espécies de Protozoa, Annelida, Platyhelminthes e Rotifera. Além disso, segundo Hanazato e Yasuno (1991), a espécie *Chaoborus* sp. também é mais tolerante a inseticidas se comparada às espécies de Cladocera, e pode sobreviver por longos períodos em ambientes com baixa concentração de oxigênio dissolvido.

A partir da coleta realizada 11 dias após a contaminação, houve um aumento significativo na densidade de algumas espécies tolerantes de Rotifera como *Ploesoma truncatum*, *Keratella lenzi*, *Polyarthra vulgaris*, *Lecane bulla*, *Lecane cf. nana* e *Keratella tropica*. Muitas espécies de rotíferos são reconhecidas por apresentarem uma elevada capacidade de tolerância às alterações ambientais, possuindo mecanismos fisiológicos e ecológicos que permitem o estabelecimento de suas populações (PERBICHE-NEVES et al., 2013; SENDACZ et al., 2006). Em diversos estudos, também foi observado um aumento de espécies de Rotifera em ambientes contaminados com inseticidas (DAAM et al., 2008b;

FLEEGER et al., 2003; VAN WIJNGAARDEN et al., 2005). Segundo os autores, esse aumento está relacionado à redução da predação e competição de/com cladóceros e copépodos.

O aumento na densidade de rotíferos também pode ter sido favorecido pela elevada disponibilidade de alimento ocorrida devido ao aumento da densidade fitoplanctônica. A eliminação dos girinos, copépodos e cladóceros, e a elevada concentração de nutrientes na água favoreceu a ocorrência de um bloom de cianofíceas, representadas principalmente por *Aphanocapsa delicatissima*, uma espécie oportunista que se desenvolve bem em águas enriquecidas por nutrientes (BEYRUTH, 2000; SANTOS, 2014). As vesículas de gás (aerótopos) dão às cianobactérias uma vantagem competitiva em condições eutróficas, permitindo que elas permaneçam na superfície, região com maior disponibilidade de luz (DODDS; WHILES, 2010). Uma baixa diversidade de espécies fitoplanctônicas, associada à dominância de cianobactérias, têm sido frequentemente observada em reservatórios eutrofizados tropicais (BEYRUTH, 2000; MOWE et al., 2014).

Após o bloom de *A. delicatissima*, observou-se um aumento da densidade de espécies de Chlamydomonadales, Cryptophyceae e Euglenophyceae, mantendo-se elevadas densidades dos dois últimos grupos até a penúltima e a última coleta, respectivamente. As algas pertencentes às classes Euglenophyceae e Cryptophyceae são comumente encontradas em ambientes eutróficos, sendo as espécies do gênero *Cryptomonas* reconhecidas por serem oportunistas (REYNOLDS et al., 2002). Em contrapartida, observou-se, de maneira geral, uma diminuição no número de espécies pertencentes aos grupos funcionais J e F, que são indicadoras de ambientes com maior estabilidade (PADISÁK et al., 2009).

A propagação de efeitos semelhantes a partir da aplicação de diferentes inseticidas tem sido relatada em outros estudos (DAAM et al., 2008b; FLEEGER et al., 2003; HANAZATO, 1998). Verifica-se, portanto, a importância do contexto ambiental para a determinação da toxicidade de um contaminante. Ambientes naturais são frequentemente expostos a uma combinação de estressores, que incluem a contaminação química, inserção de espécies exóticas, elevada concentração de nutrientes e de matéria orgânica e baixas concentrações de oxigênio dissolvido (FLEEGER et al., 2003). A compreensão da interação entre esses múltiplos estressores é fundamental para a aplicação da ecotoxicologia na resolução dos problemas ambientais.

8.4. Estudos em mesocosmos versus estudos em laboratório

Como apresentado no item 6.1 da seção Materiais e Métodos, simultaneamente ao presente trabalho, Casali-Pereira (2013) estudou os efeitos do Vertimec e da água proveniente dos mesocosmos sobre as espécies *Pseudokirchneriella subcapitata* e *Ceriodaphnia silvestrii*, e Vasconcelos (2014) avaliou os impactos desse agrotóxico sobre girinos da espécie *Lithobates catesbeianus* em mesocosmos e em laboratório.

Para a realização dos testes laboratoriais com a espécie de Chlorophyceae *Pseudokirchneriella subcapitata*, foram utilizadas amostras coletadas dos mesocosmos. A densidade inicial de células antes da contaminação foi de $2,42 \cdot 10^6$ cel mL⁻¹ (CASALI-PEREIRA, 2013). Verificou-se uma diminuição significativa da densidade de *P. subcapitata* nas amostras de DUG e um aumento nas amostras do controle (C) coletadas três dias após a contaminação. A partir da coleta realizada sete dias após a contaminação, houve uma diminuição significativa da densidade celular em todos os tratamentos, inclusive no controle, mantendo-se assim até o fim do experimento.

Esta diminuição na densidade de *P. subcapitata* não pode ser considerada resultante da ação direta do Vertimec, visto que os tratamentos não contaminados (C e CG) também apresentaram o mesmo comportamento. Estudos realizados anteriormente demonstraram uma menor toxicidade da abamectina ao fitoplâncton quando comparado ao zooplâncton, girinos e insetos (Tabela 12). Vieira (2010), por exemplo, em testes realizados com abamectina e a espécie *P. subcapitata*, encontrou um valor médio para a $CI_{50,96h}$ de $1,5 \cdot 10^4$ µg L⁻¹, que é mais de 100 vezes superior à maior concentração testada nos mesocosmos. Além disso, no experimento em mesocosmos, houve um aumento significativo na densidade e riqueza do fitoplâncton nos tratamentos que foram contaminados com o agrotóxico sem a inserção de girinos (DM e DU). Assim, a toxicidade observada em laboratório pode estar relacionada à competição por recursos entre a espécie testada e outras espécies fitoplantônicas, pertencentes principalmente ao grupo Cyanophyceae, que eram dominantes nas amostras provenientes dos mesocosmos.

Vasconcelos (2014) também constatou diferenças nos resultados obtidos em laboratório e em mesocosmos para girinos da espécie *Lithobates catesbeianus* expostos ao Vertimec. Em laboratório, a autora encontrou uma $CL_{50,96h}$ de 8 µL L⁻¹ para girinos no estágio 25 de Gosner. No tratamento DUG dos mesocosmos, que foi contaminado com a mesma concentração, todos os girinos morreram em cerca de 12h. A concentração de 2 µL L⁻¹ de Vertimec, em laboratório, não interferiu no desenvolvimento e crescimento dos girinos. Já nos

mesocosmos, houve um aumento do período larval dos organismos e uma maior perda de massa corpórea dos mesmos em relação ao peso médio inicial se comparado aos girinos presentes em CG. Esses resultados indicam que o agrotóxico Vertimec pode ser mais nocivo aos girinos desta espécie em condições naturais.

Relyea e Mills (2001) verificaram que baixas concentrações do inseticida carbaril (3 a 4% da $CL_{50,96h}$ para girinos de *Hyla versicolor*) mataram de 10 a 60% dos girinos desta espécie em condições experimentais mais realistas. Além disso, na presença de sinais químicos de um predador, o inseticida se tornou de duas a quatro vezes mais letal. Distel e Boone (2009, 2010) observaram que concentrações de até 2 mg L⁻¹ de carbaril, que não causaram efeitos diretos sobre a sobrevivência de girinos de *Bufo americanus* e *Rana pipiens* em estudos de laboratório, reduziram significativamente a sobrevivência dessas espécies em experimentos em mesocosmos.

Já para a espécie zooplancônica *Ceriodaphnia silvestrii*, Casali-Pereira (2013) encontrou, considerando a aplicação direta do Vertimec, uma $CE_{50,48h}$ média de 81,64 nL L⁻¹, que corresponde a 1,47 µg L⁻¹ de abamectina. Em testes de toxicidade crônica com duração de oito dias, a autora encontrou valores de CENO para fecundidade e sobrevivência de 9,37 nL L⁻¹ (168,66 ng L⁻¹ do ingrediente ativo) e 4,68 nL L⁻¹ (84,24 ng L⁻¹ do ingrediente ativo), respectivamente. Ao comparar os valores de toxicidade encontrados pela autora com os determinados em estudos realizados anteriormente, verifica-se que *Ceriodaphnia silvestrii* é menos sensível à abamectina do que outras espécies de Cladocera (Tabela 12). Novelli et al. (2012a), por exemplo, encontraram uma $CE_{50,48h}$ média de 5,1 ng L⁻¹ para a espécie *Daphnia similis*. Isto pode estar relacionado ao fato de menores espécies de Cladocera serem consideradas por alguns autores menos sensíveis a inseticidas quando comparadas às espécies maiores (DAAM et al., 2008b; HANAZATO, 1998).

Com as amostras dos mesocosmos, verificou-se toxicidade aguda para *Ceriodaphnia silvestrii* em todos os tratamentos contaminados a partir da primeira coleta realizada após a contaminação. Nos tratamentos com a maior concentração do agrotóxico (DU e DUG), as amostras se mantiveram tóxicas até o final do experimento, sendo observada toxicidade aguda mesmo na maior diluição testada (3,125%), que corresponde a uma concentração de 250 nL L⁻¹ de Vertimec. Nas amostras dos tratamentos com aplicação do agrotóxico em dose múltipla (DM e DMG), ocorreu um aumento nos valores de $CE_{50,48h}$ até a recontaminação. Com a recontaminação, houve novamente um aumento da toxicidade, sendo a redução desta toxicidade mais lenta do que após a primeira contaminação, o que pode indicar um efeito aditivo das duas aplicações.

As amostras provenientes dos controles sem e com girinos (C e CG) começaram a causar toxicidade para *Ceriodaphnia silvestrii* a partir das coletas realizadas, respectivamente, 11 e 7 dias após a contaminação, permanecendo tóxicas até o final do experimento. A toxicidade das amostras não contaminadas pode ter sido causada pelas alterações na qualidade da água dos mesocosmos decorrentes do confinamento do sistema. Segundo Caquet et al. (2001) e Petersen e Hastings (2001), o confinamento de ecossistemas e o delineamento experimental escolhido podem ter efeitos significativos sobre a estrutura e funcionamento do ecossistema fechado. Nesse sentido, é fundamental que haja tratamentos controles no experimento para permitir a distinção entre os efeitos naturais e os induzidos pelos tratamentos.

As duas concentrações nominais de Vertimec utilizadas na contaminação dos mesocosmos foram bastante superiores aos valores de CL_{50} determinados em laboratório para cladóceros considerando o mesmo agrotóxico ou o seu princípio ativo (Tabela 12). Assim, todas as espécies de Cladocera presentes na água foram eliminadas após a primeira contaminação em ambas as concentrações testadas, não sendo possível a determinação de valores de CENO e CL_{50} no experimento em mesocosmos.

Devido aos elevados custos demandados para a realização de experimentos em mesocosmos, eles geralmente apresentam um número limitado de concentrações testadas. No presente trabalho, optou-se por testar uma concentração equivalente à $CL_{50,96h}$ determinada por Vasconcelos (2014) para girinos de *Lithobates catesbeianus* ($8 \mu\text{L L}^{-1}$) para realizar uma comparação direta entre os efeitos do agrotóxico sobre os girinos desta espécie em laboratório e em mesocosmos. A segunda concentração testada ($2 \mu\text{L L}^{-1}$) foi equivalente à encontrada em amostras de *runoff* escoadas de um terreno com aplicação direta do Vertimec na concentração recomendada para a cultura de morango no Brasil (NOVELLI et al., 2012b; VIEIRA, 2010). Embora esta concentração seja superior ao que provavelmente estaria presente nos corpos d'água após a diluição do *runoff*, ela foi escolhida considerando que os agricultores no Brasil excedem com frequência a dose de aplicação recomendada (NUNES et al., 2009).

Vale ressaltar ainda a necessidade de adaptação dos métodos de coleta de amostras em mesocosmos para se adequar à área ocupada por eles, atenuar o estresse provocado nos organismos testados e evitar uma diminuição acentuada do volume de água presente nos mesmos. Além disso, o elevado custo e tempo demandado para a realização de estudos em mesocosmos dificulta a adoção de um número grande de réplicas. Nesse contexto, alguns

autores questionam o poder estatístico de experimentos desse tipo para demonstrar efeitos em nível de população (DE JONG et al., 2005; SANDERSON, 2002).

A replicabilidade dos mesocosmos é importante para garantir a detecção de respostas verdadeiras dos tratamentos estudados, considerando a variabilidade natural existente e a magnitude aceitável do erro estatístico. Para a determinação do "grau de replicabilidade" dos mesocosmos, tem sido comumente utilizado o coeficiente de variação (CV). Quanto maior é o CV, maior é o valor da diferença mínima detectável (MDD), ou seja, maior é a diferença mínima necessária entre o tratamento e o controle para se detectar um efeito estatisticamente significativo (BROCK et al., 2015). Isensee (1976) sugeriu que o limite superior considerado adequado para variáveis derivadas de estudos em mesocosmos fosse de 20 a 30%. Kraufvelin (1998) ressaltou, no entanto, que muitas vezes os valores sugeridos de CVs são calculados a partir de variáveis com baixa variabilidade natural como, por exemplo, a concentração de oxigênio dissolvido e o pH. O autor destacou a necessidade do uso mais intensivo de variáveis populacionais e da comunidade, que, em geral, apresentam maior variabilidade. Já Sanderson (2002) afirmou que não é possível determinar um valor de CV aceitável, porque o design experimental e as variáveis analisadas em cada experimento são diferentes.

Para avaliar a variabilidade entre as réplicas do presente trabalho, foram calculados os coeficientes de variação (CVs) de todas as variáveis abióticas da água e do sedimento, da clorofila *a* e das densidades fitoplancônica e zooplancônica, utilizando as três réplicas de cada tratamento e considerando cada uma variáveis e coletas separadamente. O valor médio encontrado foi de 17,4%, oscilando entre 0 e 139,8% (densidade zooplancônica). Cerca de 45% dos coeficientes de variação encontrados foram menores que 10%, 25,1% se encontravam entre 10 e 20%, e 13,6% entre 20 e 30% (Figura 31). Portanto, mais de 83% dos CVs calculados estavam de acordo com o intervalo indicado por Isensee (1976) como ideal (abaixo de 30%).

Sanderson (2002) realizou uma revisão considerando 17 estudos realizados em microcosmos ou mesocosmos e encontrou um CV médio de 45%. Kraufvelin (1998), por sua vez, considerando 50 variáveis populacionais e da comunidade, verificou que metade das variáveis apresentavam valores médios de CV maiores que 60%, com um intervalo observado de 0 a 200%.

Alguns estudos indicaram que há uma maior variabilidade das réplicas em sistemas mais impactados (ODUM, 1985; WARWICK; CLARKE, 1993). No presente trabalho, no entanto, não houve diferença significativa entre os valores médios de CV calculados para cada tratamento (considerando a média de todas as variáveis analisadas), variando entre 16,3%

(CG) e 19,6% (DU). Assim como observado por Kraufvelin (1998), houve um aumento dos valores médios de CV durante o experimento, variando de 11,1% (antes da contaminação) a 21,2% no último dia do experimento.

Figura 31. Distribuição dos coeficientes de variação (%) encontrados durante todo o período experimental, considerando todos os tratamentos e variáveis analisadas (variáveis abióticas da água e do sedimento, clorofila *a* e densidades fitoplanctônica e zooplanctônica). Total de coeficientes calculados: 633.

Como pode ser observado na Figura 32, os valores de CV encontrados para a comunidade planctônica foram, em geral, maiores do que os encontrados para as variáveis abióticas. O CV médio das variáveis abióticas da água foi de 12,1%; das variáveis do sedimento, de 22,9%; da clorofila *a*, de 23,1%; e das densidades fitoplanctônica e zooplanctônica, de 48,8%. O menor CV médio encontrado foi o da temperatura da água (0,3%) e o maior o da densidade zooplanctônica (56,3%). Segundo Caquet et al. (2001), a homogeneidade dos dados de temperatura está relacionada ao fato de que todos os mesocosmos são expostos a condições ambientais externas semelhantes. Já a variabilidade de parâmetros bióticos, como a clorofila *a*, e principalmente das variáveis diretamente relacionadas às comunidades biológicas geralmente é alta. De acordo com Gamble (1990), os parâmetros das populações e comunidades divergem entre réplicas de mesocosmos mesmo quando as condições físicas e químicas dos sistemas são praticamente iguais.

Figura 32. Boxplot dos coeficientes de variação (%) encontrados para cada uma das variáveis analisadas, considerando todo o período experimental e todos os tratamentos. *: outliers; NT: nitrogênio total; PT: fósforo total; MO: matéria orgânica.

Considerando a variabilidade recorrente entre as réplicas em estudos em mesocosmos e, com isso, a maior probabilidade de ocorrência de um erro estatístico do tipo II (aceitarmos erroneamente uma hipótese nula que era falsa), muitos autores tem sugerido a adoção de um nível de significância de $\alpha=0,1$ para esses tipos de estudos (LAWRENCE; ZEDLER, 2011; PIERCE et al., 2010; SANDERSON et al., 2009; WASSERMAN et al., 2013). Além disso, tem sido recomendada a utilização de testes estatísticos multivariados para analisar os efeitos de contaminantes em nível de comunidade (VAN DEN BRINK; TER BRAAK, 1999).

Apesar da elevada variabilidade observada nos estudos em mesocosmos e a consequente dificuldade de interpretação de alguns dos seus resultados, eles permitem a avaliação de efeitos diretos e indiretos em várias espécies simultaneamente. Nos experimentos laboratoriais uniespecíficos, apenas os efeitos diretos em um número limitado de espécies podem ser observados. Como mostrado nos itens 8.1 a 8.3 do presente trabalho, tanto

alterações tróficas como a inserção de um contaminante no ecossistema aquático podem ocasionar uma complexa cadeia de efeitos diretos e indiretos, que muitas vezes não são elucidados apenas com a realização de testes em laboratório. Além disso, como verificado para os girinos de *Lithobates catesbeianus*, os efeitos diretos produzidos pela mesma concentração de um contaminante podem ser diferentes em laboratório e em ambientes mais próximos ao natural, com a presença de outros estressores.

A contaminação de ambientes naturais apresenta um elevado grau de complexidade, uma vez que o destino e a biodisponibilidade dos contaminantes não dependem apenas da composição dos mesmos, mas também das características bióticas e abióticas do ambiente contaminado. Os estudos em mesocosmos permitem: i) a demonstração de causalidade entre a exposição e os efeitos ecológicos; ii) o estudo das interações intra e inter-espécies e dos efeitos indiretos dentro de uma comunidade; iii) a integração de regimes de exposição mais realistas de substâncias tóxicas, com a avaliação de endpoints em níveis mais elevados de organização biológica (por exemplo, populações e comunidades); e iv) a observação de efeitos a médio e longo prazo, possibilitando que a recuperação da comunidade seja avaliada (SCHMITT-JANSEN et al., 2008). Assim, para a compreensão dos efeitos dos contaminantes em ambientes naturais, é fundamental a utilização conjunta de experimentos laboratoriais e em mesocosmos.

9. CONCLUSÕES

A partir da análise dos resultados obtidos no presente trabalho, foi possível estabelecer as seguintes conclusões:

- A inserção de girinos da espécie *Lithobates catesbeianus* causou efeitos diretos sobre a comunidade fitoplanctônica e zooplanctônica devido à predação e competição por recursos alimentares, e também efeitos sobre a qualidade da água dos mesocosmos, destacando-se o aumento na concentração de nutrientes (principalmente, amônio) e a diminuição na concentração de oxigênio dissolvido na água. A partir das alterações na qualidade da água e na comunidade planctônica, houve a propagação de efeitos indiretos na cadeia trófica. Assim, destaca-se a importância de estudar o impacto da disseminação desta espécie nos ecossistemas brasileiros e também de investir em técnicas de controle das mesmas em ranários para que o escape para ambientes próximos seja minimizado;
- Devido à propagação de efeitos indiretos, os efeitos "top-down" e "bottom-up" do fenômeno da cascata trófica se combinam e podem ocorrer simultaneamente. No presente trabalho, a inserção de girinos provocou efeitos nos níveis mais baixos da cadeia trófica ("top-down"). Já a modificação da qualidade da água ocorrida após a inserção dos mesmos afetou a disponibilidade de recursos (nutrientes, por exemplo), gerando efeitos "bottom-up" nos diversos níveis da cadeia trófica;
- Ambas as dosagens testadas do Vertimec ($2 \mu\text{L L}^{-1}$ e $8 \mu\text{L L}^{-1}$) foram tóxicas para as espécies de Cladocera e Copepoda, levando à propagação de efeitos indiretos sobre a qualidade da água e sobre outras espécies da cadeia trófica como, por exemplo, o aumento da densidade fitoplanctônica e de espécies tolerantes de Rotifera;
- O Vertimec foi considerado mais nocivo aos girinos de *Lithobates catesbeianus* em condições mais próximas ao ambiente natural (com a presença de outras espécies da cadeia trófica e variações na qualidade da água), visto que o valor da $CL_{50,96h}$ obtida em laboratório para girinos dessa espécie expostos ao Vertimec ($8 \mu\text{L L}^{-1}$) causou a morte de todos os girinos nos mesocosmos em cerca de 12h;

- Os girinos e o Vertimec conjuntamente causaram um maior impacto na comunidade planctônica e na qualidade da água do que cada um deles separadamente, indicando que a complexidade da cadeia trófica e a inserção de fatores de estresse naturais (como a presença de predadores e competidores) podem influenciar nos efeitos causados por um contaminante;
- A realização de experimentos em mesocosmos é importante para a compreensão dos impactos causados por um contaminante, uma vez que os efeitos diretos gerados por um produto podem ser diferentes em laboratório e em condições mais próximas ao ambiente natural. Além disso, o experimento em mesocosmos permite a observação de efeitos indiretos sobre espécies de diferentes níveis da cadeia trófica e sobre a qualidade da água.

10. CONSIDERAÇÕES FINAIS E RECOMENDAÇÕES

A partir da análise dos resultados obtidos na presente pesquisa e de trabalhos realizados anteriormente, a primeira, a segunda e a quarta hipóteses assumidas inicialmente foram integralmente confirmadas, já a terceira não pôde ser validada.

A primeira hipótese foi confirmada através da análise dos resultados do tratamento CG. Com a inserção de girinos da espécie exótica *Lithobates catesbeianus* nesse tratamento, verificou-se uma diminuição significativa da concentração de oxigênio dissolvido na água e o aumento da concentração de alguns nutrientes (principalmente do íon amônio). Além disso, observou-se uma diminuição na densidade e riqueza tanto da comunidade fitoplanctônica como da zooplanctônica. Esta diminuição provavelmente estava relacionada, entre outros fatores, aos hábitos alimentares generalistas dos girinos desta espécie.

Verificou-se também que o Vertimec provoca efeitos diretos sobre algumas espécies da comunidade, principalmente sobre os girinos de *Lithobates catesbeianus* e as espécies zooplanctônicas de Cladocera e Copepoda. A maior toxicidade sobre os animais vertebrados e invertebrados já era esperada, uma vez que, assim como muitos inseticidas, a abamectina afeta o sistema nervoso dos organismos. Como o agrotóxico afetou de maneira diferenciada a densidade populacional de presas e predadores, houve uma alteração das interações tróficas existentes no meio, ocorrendo a propagação de efeitos indiretos na cadeia trófica como, por exemplo, o aumento da densidade de espécies tolerantes de Rotifera devido à diminuição da competição por recursos, e do fitoplâncton como consequência da diminuição da predação. Assim, confirmou-se integralmente a segunda hipótese.

Não foi possível, no entanto, associar as respostas observadas em DM e DMG à aplicação múltipla do agrotóxico, não sendo confirmada a terceira hipótese apresentada. Isto ocorreu, porque os tratamentos com dosagem múltipla e única receberam concentrações diferentes do Vertimec ($2 \mu\text{L L}^{-1}$ e $8 \mu\text{L L}^{-1}$, respectivamente), o que não permitiu a associação direta dos efeitos observados ao número de aplicações do agrotóxico. Além disso, a concentração testada em dose múltipla já causou a mortalidade de todos os cladóceros e copépodos logo no início do experimento e a comunidade não se recuperou até o dia da aplicação da segunda dose. Isto dificultou a observação, em DM e DMG, de diferenças significativas na comunidade planctônica entre a coleta anterior à recontaminação e as coletas posteriores. É fundamental que estudos futuros com agrotóxicos também avaliem os impactos da aplicação múltipla desses produtos, uma vez que, para garantir a proteção dos cultivos, eles geralmente são aplicados mais de uma vez ao longo do ciclo de vida dos organismos.

A quarta hipótese, por sua vez, foi confirmada. A partir da comparação dos resultados obtidos em laboratório e em campo, considerou-se que os estudos experimentais em mesocosmos podem ser mais representativos para avaliar os efeitos tóxicos de um contaminante em relação aos estudos realizados em laboratório. Com o experimento em mesocosmos, verificou-se que o agrotóxico Vertimec pode ser mais nocivo aos girinos da espécie *Lithobates catesbeianus* em condições mais próximas ao ambiente natural. Além disso, nos mesocosmos foi possível detectar efeitos indiretos do contaminante, que não foram observados nos experimentos em laboratório, e também compreender melhor a propagação desses efeitos através da cadeia trófica e as alterações ocorridas na qualidade da água.

Assim, ressalta-se a importância da utilização de estudos em mesocosmos para a avaliação de risco ambiental de agrotóxicos quando estudos em laboratório indicam um risco potencial. Destaca-se ainda a necessidade da realização de mais estudos ecotoxicológicos com representantes da fauna nativa e também estudos que avaliem o impacto da introdução de espécies exóticas.

Em estudos futuros, recomenda-se a realização de experimentos de maior duração. O período de tempo considerado no presente trabalho não permitiu a observação clara do potencial de recuperação do sistema, visto que algumas variáveis não apresentaram sinal de recuperação e outras apresentaram uma tendência de recuperação apenas nas últimas coletas. Na região tropical, os agrotóxicos geralmente são utilizados durante todo o ano, sendo necessária a realização de estudos adicionais sobre o potencial de recuperação dos ecossistemas aquáticos a partir da contaminação por agrotóxicos durante períodos mais longos (DAAM; VAN DEN BRINK, 2010). Além disso, a interpretação dos resultados de experimentos em escala mais próxima ao ambiente natural nem sempre é fácil. Assim, é importante que haja o investimento em estudos de longo prazo sobre as mudanças temporais na estrutura da comunidade para melhorar a concepção, interpretação e extrapolação de estudos em mesocosmos (KNAUER et al., 2005).

Sugere-se também a inclusão em estudos futuros da análise das comunidades bentônica e perifítica, e dos efeitos da mistura de mais de um agrotóxico, visto que muitas vezes diferentes agrotóxicos são aplicados simultaneamente (HEGDE et al., 2014; HUA; RELYEA, 2014; RELYEA, 2009). Halstead et al. (2014) realizaram um experimento em mesocosmos para avaliar os efeitos de misturas de diferentes classes de agrotóxicos (herbicida, inseticida e fungicida) em 24 espécies. Segundo os autores, as respostas observadas foram em grande parte previsíveis a partir da integração de informações sobre: i) a sensibilidade de cada grupo funcional para determinadas classes de agrotóxicos; ii) as taxas

reprodutivas das espécies; iii) a força da interação entre os diferentes grupos funcionais; e iv) as relações entre a comunidade e as propriedades dos ecossistemas. Os autores destacaram a importância da realização de estudos preditivos mais próximos ao ambiente natural para a avaliação de risco dos agrotóxicos e de suas misturas, e também para o registro de novos produtos, como já é realizado nos Estados Unidos.

Vale lembrar que o Brasil não exige a realização de estudos em mesocosmos para o registro de agrotóxicos. O país apresenta um cenário preocupante em relação ao uso desses produtos: é o maior consumidor mundial de agrotóxicos desde 2008 e, desde 2012, o maior importador, adquirindo muitas vezes agrotóxicos proibidos em outros países (CARNEIRO et al., 2015). Este cenário se torna ainda mais crítico ao considerar as estatísticas de contaminação de alimentos e intoxicações humanas ocasionadas por agrotóxicos (ANVISA, 2013, 2014; SINITOX, 2015). Verifica-se que não há uma fiscalização efetiva do uso desses produtos no país e nem o acesso abrangente a informações sobre os métodos adequados de utilização dos mesmos (CARNEIRO et al., 2015). Além disso, a situação em algumas agências reguladoras brasileiras limita a aplicação da regulamentação dos agrotóxicos. Como exemplo, pode-se citar a morosidade na reavaliação de 14 princípios ativos (PAs), dentre eles a abamectina (PA do Vertimec), que está sendo realizada pela ANVISA desde 2008 e somente foi concluída para seis PAs.

Alerta-se ainda sobre os riscos das mudanças recentes na legislação que regula o uso de agrotóxicos no Brasil e da criação de projetos de lei que flexibilizam a função regulatória do estado. A Lei nº 12.873/13 e o Decreto nº 8.133/13, aprovados recentemente, autorizam o registro temporário de agrotóxicos no país em casos de emergência fitossanitária ou zoossanitária sem avaliação prévia dos setores reguladores da saúde e do meio ambiente (BRASIL, 2013a, 2013b). Já o Projeto de Lei nº 209/2013 do Senado propõe a restrição da atuação das áreas de saúde e meio ambiente no processo de autorização para registro de agrotóxicos no Brasil (BRASIL, 2013c). Ressalta-se assim a importância do investimento brasileiro em estudos que analisem o impacto dos agrotóxicos previamente à liberação do uso de novos princípios ativos e produtos comerciais e durante a reavaliação dos produtos já comercializados.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA (ANVISA). Programa de Análise de Resíduos de Agrotóxicos em Alimentos (PARA). **Relatório de atividades de 2011 e 2012**. 2013. 44 p.

AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA (ANVISA). Programa de Análise de Resíduos de Agrotóxicos em Alimentos (PARA). **Relatório complementar relativo à segunda etapa das análises de amostras coletadas em 2012**. 2014. 32 p.

AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA (ANVISA). **Monografias dos ingredientes ativos de agrotóxicos, domissanitários e preservantes de madeira: Monografia do ingrediente ativo A18 - ABAMECTINA**. Disponível em: <<http://portal.anvisa.gov.br/wps/wcm/connect/8b49a9804745870f90a7d43fbc4c6735/Microsoft+Word+-+A18++Abamectina.pdf?MOD=AJPERES>>. Acesso em: 22 mar. 2015.

ALLEN-KING, R. M.; SCHULTHEIS, K. A.; SCHAUMLOFFEL, C.; KELLER, K. **Mechanisms of Pesticide Transport to Surface Water at the Field Scale in a Dryland Agriculture Region**. Washington State University, Pullman, 2000. 24 p.

ALONSO, A.; CASTRO-DÍEZ, P. What explains the invading success of the aquatic mud snail *Potamopyrgus antipodarum* (Hydrobiidae, Mollusca)? **Hydrobiologia**, v. 614, p. 107-116, 2008.

AMERICAN PUBLIC HEALTH ASSOCIATION (APHA). American Water Works Association, Water Environment Federation. **Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater**. 19 ed. New York. 1995. 1268 p.

AMERICAN PUBLIC HEALTH ASSOCIATION (APHA). American Water Works Association, Water Environment Federation. **Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater**. 21 ed. Washington. 2005.

ANAGNOSTIDIS, K.; KOMARÉK, J. Modern approach to the classification system of Cyanophytes. 2 - Chlorococcales. **Algological Studies**, v. 73, p. 157-226, 1986.

_____. Modern approach to the classification system of Cyanophytes. 3 - Oscillatoriales. **Algological Studies**, v. 80, p. 327-472, 1988.

_____. Modern approach to the classification system of Cyanophytes. 4 - Nostocales. **Algological Studies**, v. 82, p. 327-472, 1989.

ANDERSEN, J. M. An ignition method for determination of total phosphorus in lake sediments. **Water Research**, v. 10, p. 329-331, 1976.

ARAÚJO, A. J.; LIMA, J. S.; MOREIRA, J. C.; JACOB, S. C.; SOARES, M. O.; MONTEIRO, M. C. M.; AMARAL, A. M.; KUBOTA, A.; MEYER, A.; COSENZA, C. A. N.; NEVES, C.; MARKOWITZ, S. Exposição múltipla a agrotóxicos e efeitos à saúde: estudo transversal em amostra de 102 trabalhadores rurais, Nova Friburgo, RJ. **Ciência & Saúde Coletiva**, v. 12, n. 1, p. 115-130, 2007.

ARIAS, A. R. L.; BUSS, D. F.; ALBURQUERQUE, C.; INÁCIO, A. F.; FREIRE, M. M.; EGLER, M.; MUGNAI, R.; BAPTISTA, D. F. Utilização de bioindicadores na avaliação de impacto e no monitoramento da contaminação de rios e córregos por agrotóxicos. **Ciência & Saúde Coletiva**, v. 12, n. 1, p. 61-72, 2007.

ARRIBAS, R.; DÍAZ-PANIAGUA, C.; GOMEZ-MESTRE, I. Ecological consequences of amphibian larvae and their native and alien predators on the community structure of temporary ponds. **Freshwater Biology**, v. 59, p. 1996-2008, 2014.

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

BERTOLETE, J. M.; FLEISCHMANN, A.; EDDLESTON, M.; GUNNELL, D. Deaths from pesticide poisoning: a global response. **The British Journal of Psychiatry**, v. 189, p. 201-203, 2006.

BEYRUTH, Z. Periodic disturbances, trophic gradient and phytoplankton characteristics related to cyanobacterial growth in Guarapiranga Reservoir, São Paulo State, Brazil. **The Trophic Spectrum Revisited**, v. 150, p. 51-65, 2000.

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

BOELTER, R. A.; CECHIN, S. Z. Impacto da dieta de rã-touro (*Lithobates catesbeianus* - Anura, Ranidae) sobre a fauna nativa: estudo de caso na região de Agudo, RS, Brasil. **Natureza e Conservação**, v. 5, p. 45-53, 2007.

BOLTOVSKOY, D.; CORREA, N.; CATALDO, D.; SYLVESTER, F. Dispersion and ecological impact of the invasive freshwater bivalve *Limnoperna fortunei* in the Río de la Plata watershed and beyond. **Biological Invasions**, v. 8, p. 947-963, 2006.

BOONE, M. D.; JAMES S. M. Aquatic and terrestrial mesocosms in amphibian ecotoxicology. **Applied Herpetology**, v. 2, p. 231-257, 2005.

BOTH, C.; LINGNAU, R.; SANTOS-JR, A.; MADALOZZO, B.; LIMA, L. P.; GRANT, T. Widespread occurrence of the American bullfrog, *Lithobates catesbeianus* (Shaw, 1802)

(Anura: Ranidae), in Brazil. **South American Journal of Herpetology**, v. 6, n. 2, p. 127-134, 2011.

BOURRELY, P. **Les algues d'eau douce - initiation à la systématique - les algues vertes**. Paris: N. Boubée, v. 1, 1972a.

_____. **Les algues d'eau douce - les algues bleues et rouges - les eugléniens, péridiniens et cryptomonadines**. Paris: N. Boubée, v. 3, 1972b.

_____. **Les algues d'eau douce - les algues jaunes et brunes**. Paris: N. Boubée, v. 2, 1981.

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

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, seus componentes e afins, e dá outras providências. **Diário Oficial da União**, Brasília, DF, 12 jul. 1989. Disponível em: <http://www.planalto.gov.br/ccivil_03/Leis/L7802.htm>. Acesso em: 21 abr. 2015.

BRASIL. Lei nº. 12.873, de 24 de outubro de 2013. (a) Autoriza o Poder Executivo a declarar estado de emergência fitossanitária ou zoossanitária, quando for constatada situação epidemiológica que indique risco iminente de introdução de doença exótica ou praga quarentenária ausente no País, ou haja risco de surto ou epidemia de doença ou praga já existente. **Diário Oficial da União**, Brasília, DF, 25 out. 2013. Disponível em: <http://www.planalto.gov.br/ccivil_03/_ato2011-2014/2013/Lei/L12873.htm>. Acesso em: 21 abr. 2015.

BRASIL. Decreto nº. 8.133, de 28 de outubro de 2013. (b) Dispõe sobre a declaração de estado de emergência fitossanitária ou zoossanitária de que trata a Lei nº 12.873, de 24 de outubro de 2013, e dá outras providências. **Diário Oficial da União**, Brasília, DF, 29 out. 2013. Disponível em: <http://www.planalto.gov.br/ccivil_03/_ato2011-2014/2013/Decreto/D8133.htm>. Acesso em: 21 abr. 2015.

BRASIL. Congresso. Senado. **Projeto de Lei do Senado nº 209, de 2013**. (c) Altera a Lei nº. 7.802, de 11 de junho de 1989, que 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, seus componentes e afins, e dá outras providências para fixar prazo para o processo de registro de agrotóxicos, seus componentes e afins pelo órgão federal. Disponível em: <http://www.senado.gov.br/atividade/materia/detalhes.asp?p_cod_mate=112945>. Acesso em: 21 abr. 2015.

BRAUN, A. S.; NOVELLI, A.; VIEIRA, B. H.; ESPINDOLA, E. L. G. Ecotoxicological effects of Vertimec[®] 18 EC on plankton. **Journal of the Brazilian Society of Ecotoxicology**, v. 7, n. 2, p. 23-29, 2012.

BROCK, T. C. M.; ARTS, G. H. P.; MALTBY, L.; VAN DEN BRINK, P. J. 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.

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

BROWN, C. D.; TURNER, N.; HOLLIS, J.; BELLAMY, P.; BIGGS, J.; WILLIAMS, P.; ARNOLD, D.; PEPPER, T.; MAUND, S. Morphological and physic-chemical properties of British aquatic habitats potentially exposed to pesticides. **Agriculture, Ecosystems and Environment**, v. 113, p. 307-319, 2006.

BUNDSCHUHA, M.; GOEDKOOPE, W.; KREUGER, J. Evaluation of pesticide monitoring strategies in agricultural streams based on the toxic-unit concept - Experiences from long-term measurements. **Science of The Total Environment**, v. 484, p. 84-91, 2014.

BURG, R. W.; MILLER, B. M.; BAKER, E. E.; BIRNBAUM, J.; CURRIE, S. A.; HARTMAN, R.; KONG, Y.; MONAGHAN, R. L.; OLSON, G.; PUTTER, I.; TUNAC, J. B.; WALLICK, H.; STAPLEY, E. O.; OIWA, R.; ÔMURA, S. Avermectins, new family of potent anthelmintic agents: producing organism and fermentation. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**, v. 15, n. 3, p. 361-367, 1979.

CAMARGO, J. A.; ALONSO, A. Ecological and toxicological effects of inorganic nitrogen pollution in aquatic ecosystems: a global assessment. **Environment International**, v. 32, n. 6, p. 831-849, 2006.

- CAMPBELL, W. C. **Ivermectin and Abamectin**. New York: Springer Verlag, 1989. 363 p.
- CAQUET, T.; LAGADIC, L.; STEVEN, R. S. Mesocosm in ecotoxicology (1): Outdoor aquatic systems. **Environmental Contamination and Toxicology**, v. 165, p. 1-38, 2000.
- CAQUET, T.; LAGADIC, L.; MONOD, G.; LACAZE, J-C.; COUTE, A. Variability of Physicochemical and Biological Parameters between Replicated Outdoor Freshwater Lentic Mesocosms. **Ecotoxicology**, v. 10, p. 51-66, 2001.
- 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.
- CARNEIRO, L. S.; CALIMAN, A.; GUARIENTO, R. D.; ROCHA, A. M.; QUESADO, L. B.; FONTE, E. S.; SANTANGELO, J. M.; LEAL, J. J. F.; LOPES, P. M.; MEIRELLES-PEREIRA, F.; ESTEVES, F. A.; BOZELLI, R. L. Effects of food web structure and resource subsidies on the patterns and mechanisms of temporal coherence in a tropical coastal lagoon: an experimental mesocosm approach. **Acta Limnologica Brasiliensia**, v. 25, n. 3, p. 315-325, 2013.
- CARNEIRO, F. F.; AUGUSTO, L. G. S.; RIGOTTO, R. M.; FRIEDRICH, K.; BÚRIGO, A. C. **Dossiê ABRASCO: um alerta sobre os impactos dos agrotóxicos na saúde**. São Paulo: Expressão Popular, 2015. 624 p.
- CARPENTER, S. R.; KITCHELL, J. F.; HODGSON, J. R. Cascading trophic interactions and lake productivity. **Biosciences**, v. 35, n. 10, p. 634-639, 1985.
- CARPENTER, S. R.; KITCHELL, J. F. **The Trophic Cascade in Lakes**. Cambridge: Cambridge University Press, 1993. 385 p.
- CASALI-PEREIRA, M. P. **Efeitos do agrotóxico Vertimec® 18 EC para o zooplâncton e fitoplâncton: análises laboratoriais com o produto comercial e amostras de mesocosmos artificialmente contaminados**. 2013. 195 f. Dissertação (Mestrado) - Escola de Engenharia de São Carlos, Universidade de São Paulo, São Carlos, 2013.
- CASTRO, A. A. J.; BICUDO, C. E. M.; BICUDO, D. C. Criptógamos do Parque Estadual das Fontes do Ipiranga, São Paulo, SP. Algas: 2 - Chrytophyceae. **Hoehnea**, v. 18, p. 87-106, 1991.
- CASTRO, J. C.; PINTO, A. T. Qualidade da água em tanques de girinos de rã-touro, *Rana catesbeiana* Shaw, 1802, cultivados em diferentes densidades de estocagem. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 29, n. 6, p. 1903-1911, 2000.
- CHAGNON, M; KREUTZWEISER, D.; MITCHELL, E. A. D.; MORRISSEY, C. A.; NOOME, D. A.; VAN DER SLUIJS, J. P. Risks of large-scale use of systemic insecticides to

ecosystem functioning and services. **Environmental Science and Pollution Research**, v. 22, p. 119-134, 2015.

CHANG, K. H.; SAKAMOTO, M.; HANAZATO, T. Impact of pesticide application on zooplankton communities with different densities of invertebrate predators: An experimental analysis using small-scale mesocosms. **Aquatic Toxicology**, v. 72, p. 373-382, 2005.

CHELINHO, S.; LOPES, I.; NATAL-DA-LUZ, T.; DOMENE, X.; NUNES, M. E. T.; ESPÍNDOLA, E. L. G.; RIBEIRO, R.; SOUSA, J. P. Integrated ecological risk assessment of pesticides in tropical ecosystems: a case study with carbofuran in Brazil. **Environmental Toxicology and Chemistry**, v. 31, n. 2, p. 437-445, 2012.

CHUNG, K.; YANG, C.; WU, M.; DENG, J.; TSAI, W. Agricultural Avermectins: An Uncommon but Potentially Fatal Cause of Pesticide Poisoning. **Annals of Emergency Medicine**, v. 34, p. 51-57, 1999.

COELHO, R. M. P. Métodos de coleta, preservação, contagem e determinação de biomassa em zooplâncton de águas epicontinentais. In: BICUDO, C. E. M.; BICUDO, D. C. **Amostragem em Limnologia**. São Carlos: RiMa, 2004. p. 149-165.

COMPANHIA AMBIENTAL DO ESTADO DE SÃO PAULO (CETESB). **Guia nacional de coleta e preservação de amostras: água, sedimento, comunidades aquáticas e efluentes líquidos**. São Paulo: CETESB, 2011. 326 p.

COMPANHIA AMBIENTAL DO ESTADO DE SÃO PAULO (CETESB). **Qualidade das águas superficiais no estado de São Paulo 2013**. São Paulo: CETESB, 2014. 434 p.

COTHRAN, R. D.; RADARIAN, F.; RELYEA, R. A. Altering aquatic food webs with a global insecticide: arthropod-amphibian links in mesocosms that simulate pond communities. **Journal of the North American Benthological Society**, v. 30, n. 4, p. 893-912, 2011.

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

CROWDER, W. C.; NIE, M.; ULTSCH, G. R. Oxygen Uptake in Bullfrog Tadpoles (*Rana catesbeiana*). **The Journal of Experimental Zoology**, v. 280, p. 121-134, 1998.

CUNHA, E. R.; DELARIVA, R. L. Introdução da rã-touro, *Lithobates catesbeianus* (Shaw, 1802): uma revisão. **SaBios - Revista de Saúde e Biologia**, v. 4, n. 2, p. 34-46, 2009.

DAAM, M. A.; VAN DEN BRINK, P. J.; NOGUEIRA, A. J. A. Impact of single and repeated applications of the insecticide chlorpyrifos on tropical freshwater plankton communities. **Ecotoxicology**, v. 17, p. 756-771, 2008a.

DAAM, M. A.; CRUM, S. J. H.; VAN DEN BRINK, P. J.; NOGUEIRA, A. J. A. Fate and effects of the insecticide chlorpyrifos in outdoor plankton-dominated microcosms in Thailand. **Environmental Toxicology and Chemistry**, v. 27, n. 12, p. 2530-2538, 2008b.

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

DAAM, M. A.; CEREJEIRA, M. J.; VAN DEN BRINK, P. J.; BROCK, T. C. M. Is it possible to extrapolate results of aquatic microcosm and mesocosm experiments with pesticides between climate zones in Europe? **Environmental Science and Pollution Research**, v. 18, p. 123-126, 2011.

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

DAWSON, A. H.; EDDLESTON, M.; SENARATHNA, L.; MOHAMED, F.; GAWARAMMANA, I.; BOWE, S. J.; MANUWEERA, G.; BUCKLEY, N. A. Acute human lethal toxicity of agricultural pesticides: A prospective cohort study. **Plos Medicine**, v. 7, n. 10, p. 1-10, 2010.

DE JONG, F. M. W.; MENSINK, B. J. W. G.; SMIT, C. E.; MONTFORTS, M. H. M. M. Evaluation of ecotoxicological field studies for authorization of plant protection products in Europe. **Human and Ecological Risk Assessment**, v. 11, n. 6, p. 1157-1176, 2005.

DISTEL, C. A.; BOONE, M. D. Effects of aquatic exposure to the insecticide carbaryl and density on aquatic and terrestrial growth and survival in American toads. **Environmental Toxicology and Chemistry**, v. 28, p. 1963-1969, 2009.

DISTEL, C. A.; BOONE, M. D. Effects of aquatic exposure to the insecticide carbaryl are species-specific across life stages and mediated by heterospecific competitors in anurans. **Functional Ecology**, v. 24, p. 1342-1352, 2010.

DODDS, W. K.; WHILES, M. **Freshwater Ecology: Concepts & Environmental Applications of Limnology**. Academic Press, 2010. 829 p.

DODSON, S. I.; HANAZATO, T.; GORSKI, P. R. Behavioral responses of *Daphnia pulex* exposed to carbaryl and *Chaoborus kairomone*. **Environmental Toxicology and Chemistry**, v. 14, p. 43-50, 1995.

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

DORNFELD, C. B.; ESPÍNDOLA, E. L. G.; FRACÁCIO, R.; RODRIGUES, B. K.; NOVELLI, A. 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, n. 2, p. 161-166, 2006.

DOWNING, A. L.; DE VANNA, K. M.; RUBECK-SCHURTZ, C. N.; TUHELA, L.; GRUNKEMEYER, H. Community and ecosystem responses to a pulsed pesticide disturbance in freshwater ecosystems. **Ecotoxicology**, v. 17, p. 539-548, 2008.

DUDGEON, D.; ARTHINGTON, A. H.; GESSNER, M. O.; KAWABATA, Z-I.; KNOWLER, D. J.; LÉVÊQUE, C.; NAIMAN, R. J.; PRIEUR-RICHARD, A-H.; SOTO, D.; STIASSNY, M. L. J.; SULLIVAN, C. A. Freshwater biodiversity: importance, threats, status and conservation challenges. **Biological Reviews**, v. 81, n. 2, p. 163-182, 2006.

EDDLESTON, M. Patterns and problems of deliberate self-poisoning in the developing world. **Q J Med.**, v. 93, n. 11, p. 715-731, 2000.

EDDLESTON, M.; KARALLIEDDE, L.; BUCKLEY, N.; FERNANDO, R.; HUTCHINSON, G.; ISBISTER, G.; KONRADSEN, F.; MURRAY, D.; PIOLA, J. C.; SENANAYAKE, N.; SHERIFF, R.; SINGH, S.; SIWACH, S. B.; SMIT, L. Pesticide poisoning in the developing world - a minimum pesticides list. **The Lancet**, v. 360, p. 1163-1167, 2002.

ELMOOR-LOUREIRO, L. M. **Manual de identificação de Cladóceros límnicos do Brasil**. Brasília: Editora Universa, 1997. 156 p.

ERŽER, N. K.; KOLAR, L.; FLAJS, V. C.; KUŽNER, J.; MARC, I.; POGAČNIK, M. Degradation of Abamectin and Doramectin on Sheep Grazed Pasture. **Ecotoxicology**, v. 14, p. 627-635, 2005.

ESTEVEES, F. A. **Fundamentos de limnologia**. 3 ed. Rio de Janeiro: Interciência/FINEP, 2011. 826 p.

EUROPEAN COMISSION (EC). **Abamectin, Draft Assessment Report**. Initial risk assessment by the rapporteur Member State The Netherlands for the existing active substance Abamectin. v. 3. Public Version, 2006.

FARIA, N. M. X.; FASSA, A. G.; MEUCCI, R. D. Association between pesticide exposure and suicide rates in Brazil. **NeuroToxicology**, v. 45, p. 355-362, 2014.

FERREIRA, C. M.; LOMBARDI, J. V.; MACHADO-NETO, J. G.; BUENO-GUIMARÃES, H. M.; SOARES, S. R. C.; SALDIVA, P. H. N. Effects of Copper Oxychloride in *Rana catesbeiana* Tadpoles: Toxicological and Bioaccumulative Aspects. **Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology**, v. 73, p. 465-470, 2004.

FERREIRA, A. L. G.; LOUREIRO, S.; SOARES, A. Toxicity prediction of binary combinations of cadmium, carbendazim and low dissolved oxygen on *Daphnia magna*. **Aquatic Toxicology**, v. 89, p. 28-39, 2008.

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

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

FORDHAM, C. L.; TESSARI, J. D.; RAMSDELL, H. S.; KEEFE, T. J. Effects of malathion on survival, growth, development, and equilibrium posture of bullfrog tadpoles (*Rana catesbeiana*). **Environmental Toxicology and Chemistry**, v. 20, n. 1, p. 179-184, 2001.

FREIRE, M. M.; SANTOS, V. G.; GINUINO, I. S. F.; ARIAS, A. R. L. Biomarcadores na avaliação da saúde ambiental dos ecossistemas aquáticos. **Oecologia Australis**, v. 12, p. 347-354, 2008.

GAMBLE, J. C. 1990. Mesocosms: Statistical and experimental design considerations. In: LALLI, C. M. **Enclosed Experimental Marine Ecosystems: A review and Recommendations**. Coastal and Estuarine Studies, v. 37. Heidelberg: Springer-Verlag, 1990. p. 188-196.

GARCIA, E. G.; BUSSACOS, M. A.; FISCHER, F. M. Impacto da legislação no registro de agrotóxicos de maior toxicidade no Brasil. **Revista de Saúde Pública**, v. 39, n. 5, p. 832-839, 2005.

GARRIC, J.; VOLLAT, B.; DUIS, K; PÉRY, A.; JUNKER, T.; RAMIL, M.; FINK, G.; TERNES, T. A. Effects of the parasiticide ivermectin on the cladoceran *Daphnia magna* and the green alga *Pseudokirchneriella subcapitata*. **Chemosphere**, v. 69, p. 903-910, 2007.

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

GIOVANELLI, J. G. R.; HADDAD, C. F. B.; ALEXANDRINO, J. Predicting the potential distribution of the alien invasive American bullfrog (*Lithobates catesbeianus*) in Brazil. **Biological Invasions**, v. 10, n. 5, p. 585-590, 2008.

GOLTERMAN, H. L.; CLYMO, R. S.; OHNSTAD, M. A. M. **Methods for physical and chemical analysis of freshwaters**. 2 ed. Oxford: Blackwell Scientific Publication, 1978. 213 p.

GOSNER, K. L. A simplified table for staging anuran embryos and larvae with notes on identification. **Herpetologica**, v. 16, p. 183-190, 1960.

GRABOWSKI, M.; BACELA, K.; KONOPACKA, A. How to be an invasive gammarid (Amphipoda: Gammaroidea) - comparison of life history traits. **Hydrobiologia**, v. 590, n. 1, p. 75-84, 2007.

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.

GRONER, M. L.; RELYEA, R. A. A tale of two pesticides: how common insecticides affect aquatic communities. **Freshwater Biology**, v. 56, n. 11, p. 2391-2404, 2011.

GUNNELL, D.; EDDLESTON, M. Suicide by intentional ingestion of pesticides: a continuing tragedy in developing countries. **International Journal of Epidemiology**, v. 32, p. 902-909, 2003.

GUNNEL, D.; EDDLESTON, M.; PHILLIPS, M. R.; KONRADSEN, F. The global distribution of fatal pesticide self-poisoning: systematic review. **BMC Public Health**, v. 7, p. 357-371, 2007.

GUSMÃO, L. F. M. de. **Efeitos do cobre e cromo na comunidade zooplanctônica**: Um estudo experimental em mesocosmos. 2004. 288 f. Dissertação (Mestrado) - Escola de Engenharia de São Carlos, Universidade de São Paulo, São Carlos, 2004.

HALSTEAD, N. T.; MCMAHON, T. A.; JOHNSON, S. A.; RAFFEL, T. R.; ROMANSIC, J. M.; CRUMRINE, P. W.; ROHR, J. R. Community ecology theory predicts the effects of agrochemical mixtures on aquatic biodiversity and ecosystem properties. **Ecology Letters**, v. 17, p. 932-941, 2014.

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.

HANAZATO, T. Pesticides as chemical agents inducing helmet formation in *Daphnia ambigua*. **Freshwater Biology**, v. 26, p. 419-424, 1991.

HANAZATO, T.; YASUNO, M. Insights into competition in zooplankton communities derived from studies using experimental ponds. **Internationale Vereinigen Limnologie**, v. 24, p. 1572-1580, 1991.

HANAZATO, T.; DODSON, S. I. Complex effects of a kairomone of *Chaoborus* and an insecticide on *Daphnia pulex*. **Journal of Plankton Research**, v. 14, p. 1743-1755, 1992.

HANAZATO, T.; DODSON, S. I. Morphological responses of four species of cyclomorphic *Daphnia* to a short term exposure to the insecticide carbaryl. **Journal of Plankton Research**, v. 15, n. 9, p. 1087-1095, 1993.

HANAZATO, T.; DODSON, S. I. Synergistic effects of low-oxygen concentration, predator kairomone, and a pesticide on the cladoceran *Daphnia pulex*. **Limnology and Oceanography**, v. 40, n. 4, p. 700-709, 1995.

HANAZATO, T. Response of a zooplankton community to insecticide application in experimental ponds: a review and the implications of the effects of chemicals on the structure and functioning of freshwater communities. **Environmental Pollution**, v. 101, p. 361-373, 1998.

HANAZATO, T. Pesticide effects on freshwater zooplankton: an ecological perspective. **Environmental Pollution**, v. 112, p. 1-10, 2001.

HANEY, J. F.; HALL, D. J. Sugar-coated *Daphnia*: a preservation technique for Cladocera. **Limnology and Oceanography**, v. 18, p. 331-339, 1973.

HEATH, M. R.; SPEIRS, D. C.; STEELE, J. H. Understanding patterns and processes in models of trophic cascades. **Ecology Letters**, v. 17, p. 101-114, 2014.

HEGDE, G.; MANDYA, M.; GOKARNAKAR, S. S.; BABU, V. N.; SHIVARAMAIAH, V. N.; KRISHNAMURTHY, S. V. Influence of combinations of pesticides and fertilizers on aquatic productivity. **Journal of Environmental Protection**, v. 5, p. 434-440, 2014.

HUA, J.; RELYEA, R. Chemical cocktails in aquatic systems: Pesticide effects on the response and recovery of >20 animal taxa. **Environmental Pollution**, v. 189, p. 18-26, 2014.

INSTITUTO BRASILEIRO DO MEIO AMBIENTE E DOS RECURSOS NATURAIS RENOVÁVEIS (IBAMA). **Manual para requerimento de avaliação ambiental: agrotóxicos e afins**. Brasília: Ibama, 2009. 180 p. Disponível em: <http://www.ibama.gov.br/phocadownload/Qualidade_Ambiental/manual_de_procedimento_agrotoxicos_ibama_2009-11.pdf>. Acesso em: 21 abr. 2015.

INSTITUTO BRASILEIRO DO MEIO AMBIENTE E DOS RECURSOS NATURAIS RENOVÁVEIS (IBAMA). **Boletim de Comercialização de Agrotóxicos e Afins**. Histórico de Vendas - 2000 a 2012. Brasília: Ibama, 2013. Disponível em: <http://www.ibama.gov.br/phocadownload/Qualidade_Ambiental/boletim%20de%20comercializacao_2000_2012.pdf>. Acesso em: 25 mar. 2015.

INSTITUTO BRASILEIRO DO MEIO AMBIENTE E DOS RECURSOS NATURAIS RENOVÁVEIS (IBAMA). **Boletim Anual de Produção, Importação, Exportação e**

Vendas de Agrotóxicos no Brasil - Ano 2013. Brasília: Ibama, 2014. Disponível em: <<http://ibama.gov.br/areas-tematicas-qa/relatorios-de-comercializacao-de-agrotoxicos/pagina-3>>. Acesso em: 25 mar. 2015.

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

JESS, S.; KILDEA, S.; MOODY, A.; RENNICK, G.; MURCHIE, A. K.; COOKE, L. R. European Union policy on pesticides: implications for agriculture in Ireland. **Pest Management Science**, v. 70, n. 11, p. 1646-1654, 2014.

JOHNSON, P. T. J.; OLDEN, J. D.; SOLOMON, C. T.; ZANDEN, M. J. V. Interactions among invaders: community and ecosystem effects of multiple invasive species in an experimental aquatic system. **Oecologia**, v. 159, p. 161-170, 2009.

KAEFER, I. L.; BOELTER, R. A.; CECHIN, S. Z. Reproductive biology of the invasive bullfrog *Lithobates catesbeianus* in southern Brazil. **Annales Zoologici Fennici**, v. 44, n. 6, p. 435-444, 2007.

KATTWINKEL, M.; LIESS, M. Competition matters: species interactions prolong the long-term effects of pulsed toxicant stress on populations. **Environmental Toxicology and Chemistry**, v. 33, n. 7, p. 1458-1465, 2014.

KETTUNEN, M.; GENOVESI, P.; GOLLASCH, S.; PAGAD, S.; STARFINGER, U.; TEN BRINK, P.; SHINE, C. **Technical support to EU strategy on invasive alien species (IAS) - Assessment of the impacts of IAS in Europe and the EU.** Brussels: Institute for European Environmental Policy (IEEP), 2009. 44 p.

KNAUER, K.; MAISE, S.; THOMA, G.; HOMMEN, U.; GONZALEZ-VALERO, J. Long-term variability of zooplankton populations in aquatic mesocosms. **Environmental Toxicology and Chemistry**, v. 24, p. 1182-1189, 2005.

KÖHLER, H-R.; TRIEBSKORN R. Wildlife ecotoxicology of pesticides: can we track effects to the population level and beyond? **Science**, v. 341, p. 759-765, 2013.

KOLAR, L.; ERŽEN, N. K.; HOGERWERF L.; VAN GESTEL C. A. M. Toxicity of abamectin and doramectin to soil invertebrates. **Environmental Pollution**, v. 151, p. 182-189, 2008.

KOMARÉK, J.; FOTT, B. Chlorophyceae (Grünalgen). Ordnung: Chlorococcales. In: HUBER-PESTALOZZI, G. **Das phytoplankton des süßwassers:** systematik und biologie. Stuttgart: E. Schweizerbart, 1983. 1440 p.

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

KOSTE, W. **Rotatoria die radertiere mitteleuropas, Übeordnung Monogononta.** Berlin: Gebriider Bernträger, 1978. 1010 p.

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

KRAUS, F. **Alien reptiles and amphibians: a scientific compendium and analysis.** Netherlands: Springer, 2009. 563 p.

KUPFERBERG, S. J.; MARKS, J. C.; POWER, M. E. Effects of variation in natural algal and detrital diets on larval anuran (*Hyla regilla*) life-history traits. **Copeia**, n. 2, p. 446-457, 1994.

KUPFERBERG, S. J. Bullfrog (*Rana catesbeiana*) invasion of a California river: the role of larval competition. **Ecology**, v. 78, n. 6, p. 1736-1751, 1997.

LAABS, V.; WEHRHAN, A.; PINTO, A.; DORES, E.; AMELUNG, W. Pesticide fate in tropical wetlands of Brazil: an aquatic microcosm study under semi-field conditions. **Chemosphere**, v. 67, n. 5, p. 975-989, 2007.

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

LAMPARELLI, M. C. **Grau de trofia em corpos d'água do estado de São Paulo: avaliação de métodos de monitoramento.** 2004, 238 f. Tese (Doutorado) - Instituto de Biociências, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2004.

LAWRENCE, B. A.; ZEDLER, J. B. Formation of tussocks by sedges: effects of hydroperiod and nutrients. **Ecological Applications**, v. 21, n. 5, p. 1745-1759, 2011.

LEBBORONI, M.; RICCHIARDINO, G.; BELLAVITA, M.; CHELAZZI, G. Potential use of anurans as indicators of biological quality in upstreams of central Italy. **Amphibia-Reptilia**, v. 27, p. 73-79, 2006.

LERCH, R. N.; BLANCHARD, P. E. Watershed vulnerability to herbicide transport in northern Missouri and southern Iowa streams. **Environmental Science Technology**, v. 37, p. 5518-5527, 2003.

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

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

LOMBARDI, J. V.; PERPÉTUO, T. R.; FERREIRA, C. M.; MACHADO-NETO, J. G.; MARQUES, H. L. A. Acute toxicity of the fungicide copper oxychloride to tadpoles of the bullfrog *Rana catesbeiana*. **Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology**, v. 69, p. 415-420, 2002.

LONDON, L.; FLISHER, A. J.; WESSELING, C.; MERGLER, D.; KROMHOUT, H. Suicide and exposure to organophosphate insecticides: cause or effect? **American Journal of Industrial Medicine**, v. 47, p. 308-321, 2005.

LÓPEZ-MANCISIDOR, P.; CARBONELL, G.; FERNÁNDEZ, C.; TARAZONA, J. V. Ecological impact of repeated applications of chlorpyrifos on zooplankton community in mesocosms under Mediterranean conditions. **Ecotoxicology**, v. 17, p. 811-825, 2008a.

LÓPEZ-MANCISIDOR, P.; CARBONELL, G.; MARINA, A.; FERNÁNDEZ, C.; TARAZONA, J. V. Zooplankton community responses to chlorpyrifos in mesocosms under Mediterranean conditions. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 71, p. 16-25, 2008b.

LOVISI, G. M.; SANTOS, S. A.; LEGAY, L.; ABELHA, L.; VALENCIA, E. Análise epidemiológica do suicídio no Brasil entre 1980 e 2006. **Revista Brasileira de Psiquiatria**, v. 31, p. 86-93, 2009.

LUNA, A. J.; SALES, L. T.; SILVA, R. F. **Agrotóxicos: responsabilidade de todos - Uma abordagem da questão dentro do paradigma do desenvolvimento sustentável**. 2004. 19 p.

LYU, K.; CAO, H.; CHEN, R.; WANG, Q.; YANG, Z. Combined effects of hypoxia and ammonia to *Daphnia similis* estimated with life-history traits. **Environmental Science and Pollution Research**, v. 20, p. 5379-5387, 2013.

MA, J.; ZHENG, R.; XU, L.; WANG, S. Differential sensitivity of two green algae, *Scenedesmus obliquus* and *Chlorella pyrenoidosa*, to 12 pesticides. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 52, p. 57-61, 2002.

MACKERETH, F. J. H.; HERON, J.; TALLING, J. F. Water analysis: some revised methods for limnologists. Kendal, **Freshwater Biological Association**, Scientific Publication n. 36, Titus Wilson and Sons Ltd. Kendal, 1978. 120 p.

MAGURRAN, A. E. **Measuring biological diversity**. Oxford: Blackwell Publishing, 2004. 264 p.

MALTBY, L.; BLAKE, N.; BROCK, T. C. M.; VAN DEN BRINK, P. J. Insecticide species sensitivity distributions: importance of test species selection and relevance to aquatic ecosystems. **Environmental Toxicology and Chemistry**, v. 24, n. 2, p. 379-388, 2005.

MARCANTONIO A. S.; LUI J. F.; STÉFANI M. V. Estudo citogenético da rã-touro (*Rana catesbeiana* Shaw, 1802). **ARS Veterinária**, v. 18, n. 2, p. 174-178, 2002.

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

MASIÁ, A.; CAMPO, J.; NAVARRO-ORTEGA, A.; BARCELÓ, D.; PICÓ, Y. Pesticide monitoring in the basin of Llobregat River (Catalonia, Spain) and comparison with historical data. **Science of The Total Environment**, v. 503-504, p. 58-68, 2015.

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. 371 f. Tese (Doutorado) - Escola de Engenharia de São Carlos, Universidade de São Paulo, São Carlos, 2004.

MATSUMURA-TUNDISI, T. Latitudinal distribution of Calanoida copepods in freshwater aquatic systems of Brazil. **Revista Brasileira de Biologia**, v. 46, n. 3, p. 527-553, 1986.

MENDES, L. B. **Análise dos efeitos do agrotóxico Vertimec® 18 CE em *Danio rerio* (Cypriniformes, Ciprinidae) por meio de estudos experimentais**. 2011. 123 f. Dissertação (Mestrado) - Escola de Engenharia de São Carlos, Universidade de São Paulo, São Carlos, 2011.

METCALFE J. L. Biological water quality assessment of running waters based on macroinvertebrates communities: history and present status in Europe. **Environmental Pollution**, v. 60, p. 101-139, 1989.

MEYER-BARON, M.; KNAPP, G.; SCHÄPER, M.; THRIEL, C. V. Meta-analysis on occupational exposure to pesticides - Neurobehavioral impact and dose-response relationships. **Environmental Research**, v. 136, p. 234-245, 2015.

MILIGI, L.; COSTANTINI, A. S.; VERALDI, A.; BENVENUTI, A.; WILL; VINEIS, P. Cancer and pesticides: an overview and some results of the Italian multicenter case-control study on hematolymphopoietic malignancies. **Annals of the New York Academy of Sciences**, p. 366-377, 2006.

MILLER, M.; BHALLA, K. An urgent need to restrict access to pesticides based on human lethality. **Plos Medicine**, v. 7, n. 10, p. 1-2, 2010.

MINISTÉRIO DA AGRICULTURA, PECUÁRIA E ABASTECIMENTO (MAPA). **Sistema de Agrotóxicos Fitossanitários (AGROFIT) - Consulta de Produtos Formulados**. Disponível em: <http://agrofit.agricultura.gov.br/agrofit_cons/principal_agrofit_cons>. Acesso em: 01 abr. 2015.

MOHR, S.; BERGHAHN, R.; FEIBICKE, M.; MEINECKE, S.; OTTENSTROER, T.; SCHMIEDLING, I.; SCHMIEDICH, R.; SCHMIDT, R. Effects of the herbicide metazachlor

on macrophytes and ecosystem function in freshwater pond and stream mesocosms. **Aquatic Toxicology**, v. 82, p. 73-84, 2007.

MORAES, R.; ELFVENDAHL, S.; KYLIN, H.; MOLANDER, S. Pesticide residues in rivers of a brazilian rain forest reserve: assessing potential concern for effects on aquatic life and human health. **AMBIO: A Journal of the Human Environment**, v. 32, n. 4, p. 258-263, 2003.

MORUZZI, R. B.; CONCEIÇÃO, F. T.; SARDINHA, D. S.; HONDA, F. P.; NAVARRO, G. R. B. Avaliação de cargas difusas e simulação de autodepuração no córrego da Água Branca, Itirapina (SP). **Geociências**, v. 31, n. 3, p. 447-458, 2012.

MOWE, M. A. D.; MITROVIC, S. M.; LIM, R. P.; FUREY, A.; YEO, D. C. J. Tropical cyanobacterial blooms: a review of prevalence, problem taxa, toxins and influencing environmental factors. **Journal of Limnology**, v. 73, 2014.

NOVELLI, A.; VIEIRA, B. H.; CORDEIRO, D.; CAPPELINI, L. T. D.; VIEIRA, E. M.; ESPÍNDOLA, E. L. G. Lethal effects of abamectin on the aquatic organisms *Daphnia similis*, *Chironomus xanthus* and *Danio rerio*. **Chemosphere**, v. 86, p. 36-40, 2012a.

NOVELLI, A.; VIEIRA, B. H.; VASCONCELOS, A. M.; PERET, A. C.; ESPÍNDOLA, E. L. G. Field and laboratory studies to assess the effects of Vertimec® 18 EC on *Daphnia similis*. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 75, p. 87-93, 2012b.

NUNES, M. E. T.; RODRIGUES, B. K.; LIMA, N. C.; NISHIKAWA, D. L. L.; ESPÍNDOLA, E. L. G.; BRIGANTE, J. O uso de agrotóxicos e a inserção da agricultura alternativa no município de Bom Repouso, Minas Gerais. In: ESPÍNDOLA, E. L. G.; BRIGANTE, J. **Projeto Mogi-Guaçu: desenvolvendo ações socioambientais**. São Carlos: Editora RiMa, 2009. p. 111-141.

NUNES, M. E. T.; ESPÍNDOLA, E. L. G. Sensitivity of *Eisenia andrei* (Annelida, Oligochaeta) to a commercial formulation of abamectin in avoidance tests with artificial substrate and natural soil under tropical conditions. **Ecotoxicology**, v. 21, n. 4, p. 1063-1071, 2012.

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 S.A., 1983. 434 p.

ODUM, E. P. The Mesocosm. **Bioscience**, v. 34, p. 558-562, 1984.

ODUM, E. P. Trends expected in stressed ecosystems. **Bioscience**, v. 35, p. 419-422, 1985.

ORLOFSKE, S. A.; HOPKINS, W. A. Energetics of metamorphic climax in the pickerel frog (*Lithobates palustris*). **Comparative Biochemistry and Physiology, Part A**, v. 154, p. 191-196, 2009.

PABLO, F.; KRASSOI, F. R.; JONES, P. R. F.; COLVILLE, A. E.; HOSE, G. C.; LIM, R. P. Comparison of the fate and toxicity of chlorpyrifos – Laboratory versus a coastal mesocosm system. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 71, p. 219-229, 2008.

PABLO, F.; HYNE, R. V. Endosulfan application to a stream mesocosm: studies on fate, uptake into passive samplers and caged toxicity test with the fish *M. ambigua*. **Environmental Contamination Toxicology**, v. 56, p. 525-535, 2009.

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

PARRA, O. O.; GONÇALES, M.; DELLAROSSA, V.; RIVIERA, P.; ORELLANA, M. **Manual taxonómico del fitoplancton de aguas continentales, con referencia al plancton de Chile**. II. Crhysophyceae e Xantophyceae. Concepción: Ed. Universidad de Concepción. 1982a. 82 p.

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

_____. **Manual taxonómico del fitoplancton de aguas continentales, con referencia al plancton de Chile**. IV. Bacillariophyceae. Concepción: Ed. Universidad de Concepción. 1982c. 97 p.

_____. **Manual taxonómico del fitoplancton de aguas continentales, con referencia al plancton de Chile**. V. Chlorophyceae. Concepción: Ed. Universidad de Concepción. 1983. 353 p.

PECHMANN, J. H. K.; WILBUR, H. M. Putting declining amphibians' populations in perspective: natural and human impacts. **Herpetologica**, v. 50, p. 65-84, 1994.

PEITHER, A.; JÜTTNER, I.; KETRUP, A.; LAY, J-P. A pond mesocosm study to determine direct and indirect effects of lindane on a natural zooplankton community. **Environmental Pollution**, v. 93, n. 1, p. 49-56, 1996.

PERBICHE-NEVES, G.; FILETO, C.; LAÇO-PORTINHO, J.; TROGUER, A.; SERAFIM-JÚNIOR, M. Relations among planktonic rotifers, cyclopoid copepods, and water quality in two Brazilian reservoirs. **Latin American Journal of Aquatic Research**, v. 41, n. 1, p. 138-149, 2013.

PEREIRA, J. L.; ANTUNES, S. C.; CASTRO, B. B.; MARQUES, C. R.; GONÇALVES, A. M. M.; GONÇALVES, F.; PEREIRA, R. Toxicity evaluation of three pesticides on non-target aquatic and soil organism: commercial formulation versus active ingredient. **Ecotoxicology**, v. 18, p. 455-463, 2009.

PERES, F.; MOREIRA, J. C.; DUBOIS, G. S. Agrotóxicos, saúde e ambiente: uma introdução ao tema. In: PERES, F.; MOREIRA, J. C. (Ed.). **É veneno ou remédio? Agrotóxicos, saúde e ambiente**. Rio de Janeiro: Editora FIOCRUZ, 2003. p. 21-41.

PESTANA, J. L. T.; LUOREIRO, S.; BAIRD, D. J.; SOARES, A. M. V. M. Pesticide exposure and inducible antipredator responses in the zooplankton grazer, *Daphnia magna* Straus. **Chemosphere**, v. 78, p. 241-248, 2010.

PETERSEN, J. E.; HASTINGS, A. Dimensional approaches to scaling experimental ecosystems: designing mousetraps to catch elephants. **The American Naturalist**, v. 157, n. 3, p. 324-333, 2001.

PIELOU, E. C. **Population and community ecology: principles and methods**. New York: Gordon and Breach, 1974. 424 p.

PIERCE, S. C.; MOORE, M. T.; LARSEN, D.; PEZESHKI, S. R. Macronutrient (N, P, K) and redoximorphic metal (Fe, Mn) allocation in *Leersia oryzoides* (Rice Cutgrass) grown under different flood regimes. **Water, Air and Soil Pollution**, v. 207, p. 73-84, 2010.

PIMENTEL, D. Pesticide use. **Science**, p. 252-258, 1991.

POUGH, F. H.; JANIS, C. M.; HEISER, J. B. **A Vida dos Vertebrados**. 4 ed. São Paulo: Atheneu Editora, 2008. 750 p.

PRESTON, D. L.; HENDERSON, J. S.; JOHNSON, P. T. J. Community ecology of invasions: direct and indirect effects of multiple invasive species on aquatic communities. **Ecology**, v. 93, n. 6, p. 1254-1261, 2012.

PYŠEK, P.; RICHARDSON, D. M.; PERGL, J.; JAROŠÍK, V.; SIXTOVÁ, Z.; WEBER, E. Geographical and taxonomic biases in invasion ecology. **Trends in Ecology & Evolution**, v. 23, n. 5, p. 237-244, 2008.

RAMOS, R. C. **Avaliação dos efeitos do agrotóxico Vertimec® 18 CE em ecossistemas de água doce por meio de estudos experimentais em laboratório e *in situ***. 2013. 149 f. Tese (Doutorado) - Escola de Engenharia de São Carlos, Universidade de São Paulo, São Carlos, 2013.

RANVESTEL, A. W.; LIPS, K. R.; PRINGLE, C. M.; WHILES, M. R.; BIXBY, R. J. Neotropical tadpoles influence stream benthos: evidence for the ecological consequences of decline in amphibian populations. **Freshwater Biology**, v. 49, p. 274-285, 2004.

REID, J. W. Chave de identificação e lista de referências bibliográficas para as espécies continentais de vida livre da ordem Cyclopoida (Crustácea - Copepoda). **Boletim de Zoologia**, v. 9, p. 17-143, 1985.

RELYEA, R. A.; MILLS, N. Predator-induced stress makes the pesticide carbaryl more deadly to gray treefrog tadpoles (*Hyla versicolor*). **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, v. 98, p. 2491-2496, 2001.

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

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

RELYEA, R. A. A cocktail of contaminants: how mixtures of pesticides at low concentrations affect aquatic communities. **Oecologia**, v. 159, p. 363-376, 2009.

REYNOLDS, C. S.; HUSZAR, V.; KRUK, C.; NASELLI-FLORES, L.; MELO, S. Towards a functional classification of the freshwater phytoplankton. **Journal of Plankton Research**, v. 24, n. 5, p. 417-428, 2002.

RIGOTTO, R. M.; VASCONCELOS, D. P.; ROCHA, M. M. Pesticide use in Brazil and problems for public health. **Cadernos de Saúde Pública**, v. 30, n. 7, p. 1360-1362, 2014.

ROCHA, O.; MATSUMURA-TUNDISI, T. **Atlas do zooplâncton (Represa do Broa, São Carlos)**. I. Copepoda. São Carlos: EdUFSCar, 1976. 68 p.

ROCHA-MIRANDA, F.; MARTINS-SILVA, M.; MENDONÇA, A. First occurrence of bullfrogs (*Rana catesbeiana*) in Federal District, Central Brazil. **Froglog**, v. 74, p. 2-3, 2006.

ROWE, C. L.; DUNSON, W. A. The Value of Simulated Pond Communities in Mesocosms for Studies of Amphibian Ecology and Ecotoxicology. **Journal of Herpetology**, v. 28, p. 346-356, 1994.

RUGENSKI, A. T.; MÚRRIA, C.; WHILES, M. R. Tadpoles enhance microbial activity and leaf decomposition in a neotropical headwater stream. **Freshwater Biology**, v. 57, p. 1904-1913, 2012.

SALEEM, U.; EJAZ, S.; ASHRAF, M.; OMER, M. O.; ALTAF, I.; BATOOL, Z.; FATIMA, R.; AFZAL, M. Mutagenic and cytotoxic potential of Endosulfan and Lambda-cyhalothrin - In vitro study describing individual and combined effects of pesticides. **Journal of Environmental Sciences**, v. 26, p. 1471-1479, 2014.

SANCHES, S. M.; SILVA, C. H. T. P.; CAMPOS, S. X.; VIEIRA, E. M. Pesticidas e seus respectivos riscos associados à contaminação da água. **Pesticidas: Revista de Ecotoxicologia e Meio Ambiente**, v. 13, p. 53-58, 2003.

SANCHEZ-BAYO, F.; HYNE, R. V. Comparison of environmental risks of pesticides between tropical and nontropical regions. **Integrated Environmental Assessment and Management**, v. 7, n. 4, p. 577-586, 2011.

SANDERSON, H. Pesticide studies - replicability of micro/mesocosms. **Environmental Science and Pollution Research**, v. 9, n. 6, p. 429-435, 2002.

SANDERSON, H.; LAIRD, B.; POPE, L.; BRAIN, R.; WILSON, C.; JOHNSON, D.; BRYNING, G.; PEREGRINE, A. S.; BOXALL, A.; SOLOMON, K. Assessment of the environmental fate and effects of ivermectin in aquatic mesocosms. **Aquatic Toxicology**, v. 85, p. 229-240, 2007.

SANDERSON, H.; LAIRD, B.; BRAIN, R.; WILSON, C. J.; SOLOMON, K. R. Detectability of fifteen aquatic micro/mesocosms. **Ecotoxicology**, v. 18, p. 838-845, 2009.

SANT'ANNA, C. L.; AZEVEDO, M. T. P.; AGUIJARO, L. F.; CARVALHO, M. C.; CARVALHO, L. R.; SOUZA, R. C. R. **Manual ilustrado para identificação e contagem de cianobactérias planctônicas de águas continentais brasileiras**. Rio de Janeiro: Interciência, 2006. 58 p.

SANTOS, R. L. **O uso de praguicidas nas atividades aquícolas: destino e efeitos após aplicações em tanques experimentais e avaliação nas pisciculturas e pesqueiros da bacia do rio Mogi-Guaçu**. 2007. 142 f. Tese (Doutorado) - Escola de Engenharia de São Carlos, Universidade de São Paulo, São Carlos, 2007.

SANTOS, R. M. **Estrutura das comunidades fito e zooplancônicas do Reservatório Guarapiranga (São Paulo) e relações com a hidrodinâmica e a eutrofização**. 2014. 239 f. Tese (Doutorado) - Universidade Federal de São Carlos, São Carlos, 2014.

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. **Diário da Assembleia Legislativa**, SP, 01 set. 2009. p. 23. Disponível em: <<http://www.al.sp.gov.br/propositura/?id=886882>>. Acesso em: 22 mar. 2015.

SCHIESARI, L.; WERNER, E. E.; KLING, G. W. Carnivory and resource-based niche differentiation in anuran larvae: implications for food web and experimental ecology. **Freshwater Biology**, v. 54, p. 572-586, 2009.

SCHMITT-JANSEN, M.; VEIT, U.; DUDEL, G.; ALTENBURGER, R. An ecological perspective in aquatic ecotoxicology: approaches and challenges. **Basic and Applied Ecology**, v. 9, n. 4, p. 337-345, 2008.

SCHULZ, R. Field studies on exposure, effects, and risk mitigation of aquatic nonpoint source insecticide pollution: a review. **Journal of Environmental Quality**, v. 33, p. 419-448, 2004.

SENDACZ, S.; CALEFFI, S.; SANTOS-SOARES, J. Zooplankton biomass of reservoirs in different trophic conditions in the state of São Paulo, Brazil. **Brazilian Journal of Biology**, v. 66, n. 1b, p. 337-350, 2006.

SHINN, C.; DELELLO-SCHNEIDER, D.; MENDES, L. B.; SANCHEZ, A. L.; MÜLLER, R.; ESPÍNDOLA, E. L. G.; ARAÚJO, C. V. M. Immediate and mid-term effects of pyrimethanil toxicity on microalgae by simulating an episodic contamination. **Chemosphere**, v. 120, p. 407-413, 2015.

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.

SIH, A.; BELL, A. M.; KERBY, J. L. Two stressors are far deadlier than one. **Trends in Ecology and Evolution**, v. 19, n. 6, p. 274-276, 2004.

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

SILVA, L. H. S.; ARCIFA, M. S.; SALAZAR-TORRES, G.; HUSZAR, V. L. M. *Tilapia rendalli* increases phytoplankton biomass of a shallow tropical lake. **Acta Limnologica Brasiliensia**, v. 26, n. 4, p. 429-441, 2014.

SISTEMA NACIONAL DE INFORMAÇÕES TÓXICO FARMACOLÓGICAS (SINITOX). **Evolução dos casos registrados de intoxicação humana por agente tóxico. Brasil, 2012**. Disponível em: <http://www.fiocruz.br/sinitox/media/Tabela%2010_2012.pdf> Acesso em: 22 mar. 2015.

STAMPFLI, N. C.; KNILLMANN, S.; NOSKOV, Y. A.; SCHÄFER, R. B.; LIESS, M.; BEKETOV, M. A. Environmental stressors can enhance the development of community tolerance to a toxicant. **Ecotoxicology**, v. 23, p. 1690-1700, 2014.

STATSOFT, INC. **Statistica (data analysis software system), version 7.0**. Tulsa, USA, 2004.

STONE, W. W.; GILLIOM, R. J.; MARTIN, J. D. **An overview comparing results from two decades of monitoring for pesticides in the Nation's streams and rivers, 1992-2001 and 2002-2011**: U.S. Geological Survey Scientific Investigations Report, 2014. 23 p., Disponível em <<http://dx.doi.org/10.3133/sir20145154>>. Acesso em: 04 abr. 2015.

STOPPELLI, I. M. B. S.; CRESTANA, S. Pesticide exposure and cancer among rural workers from Bariri, Sao Paulo State, Brazil. **Environmental International**, v. 31, p. 731-738, 2005.

STRAYER, D. L. Alien species in freshwaters: ecological effects, interactions with other stressors, and prospects for the future. **Freshwater Biology**, v. 55, p. 152-174, 2010.

SYNGENTA. **Proteção de cultivos - Especificações técnicas Vetimec® 18 EC**. Disponível em: <<http://www.syngenta.com/country/br/pt/produtosemarcas/protecao-de-cultivos/Pages/VERTIMEC-18-EC.aspx>>. Acesso em: 25 mar. 2015.

TER BRAAK, C. J. F.; SMILAUER, P. **CANOCO Reference Manual and CanoDraw for Windows User's Guide**. Software for Canonical Community Ordination (version 4.5). New York: Microcomputer Power, 2002. 500 p.

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

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

TRINDADE, M. **Nutrientes em sedimento da represa do Lobo (Brotas/Itirapina, SP)**. 1980. 219 f. Dissertação (Mestrado) - Universidade Federal de São Carlos, São Carlos, 1980.

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

VAN DEN BRINK, P. J.; TER BRAAK, C. J. F. Principal response curves: analysis of time-dependent multivariate responses of biological community to stress. **Environmental Toxicology and Chemistry**, v. 18, n. 2, p. 138-148, 1999.

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

VAN WIJNGAARDEN, R. P. A.; CUPPEN, J. G. M.; ARTS, G. H. P.; CRUM, S. J. H.; VAN DEN HOORN, M. W.; VAN DEN BRINK, P. J.; BROCK, T. C. M. Aquatic risk assessment of a realistic exposure to pesticides used in bulb crops: a microcosm study. **Environmental Toxicology and Chemistry**, v. 23, n. 6, p. 1479-1498, 2004.

VAN WIJNGAARDEN, R. P. A.; BROCK, T. C. M.; VAN DEN BRINK, P. J. Threshold levels of insecticides in freshwater ecosystems: a review. **Ecotoxicology**, v. 14, p. 353-378, 2005.

VANNI, M. J. Nutrient cycling by animals in freshwater ecosystems. **Annual Review of Ecology and Systematics**, v. 33, p. 341-370, 2002.

VASCONCELOS, A. M. **Avaliação dos efeitos do agrotóxico Vertimec® 18 CE sobre girinos de *Lithobates catesbeianus* (Amphibia, Anura, Ranidae)**. 2014. 149 f. Tese (Doutorado) - Escola de Engenharia de São Carlos, Universidade de São Paulo, São Carlos, 2014.

VEIGA, M. M.; SILVA, D. M.; VEIGA, L. B. E.; FARIA, M. V. C. Análise da contaminação dos sistemas hídricos por agrotóxicos numa pequena comunidade rural do Sudeste do Brasil. **Cadernos de Saúde Pública**, v. 22, n. 11, p. 2391-2399, 2006.

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

VON SPERLING, M. **Introdução à qualidade das águas e ao tratamento de esgotos**. 3 ed. Belo Horizonte: Editora UFMG, 2005. 452 p.

WARINGER-LÖSCHENKOHL, A.; SCHARGERL, M. Algal exploitation by tadpoles - an experimental approach. **International Review of Hydrobiology**, v. 86, p. 105-125, 2001.

WARWICK, R. M.; CLARKE, K. R. Increased variability as a symptom of stress in marine communities. **Journal of Experimental Marine Biology and Ecology**, v. 172, p. 215-226, 1993.

WASSERMAN, R. J.; NOYON, M.; AVERY, T. S.; FRONEMAN, P. W. Trophic level stability-inducing effects of predaceous early juvenile fish in an estuarine mesocosm study. **Plos One**, v. 8, n. 4, p. 1-10, 2013.

WESSELING, C.; KEIFER, M.; AHLBOM, A.; MCCONNELL, R.; MOON, J-D.; ROSENSTOCK, L.; HOGSTEDT, C. Long-term neurobehavioral effects of mild poisonings with organophosphate and n-methyl carbamate pesticides among banana workers. **International Journal of Occupational and Environmental Health**, v. 8, n. 1, p. 27-34, 2002.

WHILES, M. R.; LIPS, K. R.; PRINGLE, C. M.; KILHAM, S. S.; BIXBY, R. J.; BRENES, R.; CONNELLY, S.; COLON-GAUD, J. C.; HUNTE-BROWN, M.; HURYN, A. D.; MONTGOMERY, C.; PETERSON, S. The effects of amphibian population declines on the structure and function of Neotropical stream ecosystems. **Frontiers in Ecology and the Environment**, v. 4, p. 27-34, 2006.

WHILES, M. R.; GLADYSHEV, M. I.; SUSHCHIK, N. N.; MAKHUTOVA, O. N.; KALACHOVA, G. S.; PETERSON, S. D.; REGESTER, K. J. Fatty acid analyses reveal high

degrees of omnivory and dietary plasticity in pond-dwelling tadpoles. **Freshwater Biology**, v. 55, p. 1533-1547, 2010.

WILSON, C.; TISDELL, C. Why farmers continue to use pesticides despite environmental, health and sustainability costs. **Ecological Economics**, v. 39, p. 449-462, 2001.

WONHAM, M. Species invasions. In: GROOM, M. J.; MEFFE, G. K.; CARROLL, C. R. (Ed.). **Principles of conservation biology**. Sunderland: Sinauer Associates Inc., 2006. p. 293-331.

WORLD HEALTH ORGANIZATION (WHO). **The WHO recommended classification of pesticides by hazard and guidelines to classification**: 2009. Geneva: World Health Organization, 2010. 78 p.

WORLD HEALTH ORGANIZATION (WHO). **Health Topics - Pesticides**. Disponível em: <<http://www.who.int/topics/pesticides/en/>>. Acesso em: 24 mar. 2015.

YANG, C. C. Avermectin Poisoning. **Clinical Toxicology**, v. 46, p. 404, 2008.

YOSHIMURA, K.; TANAKA, K.; YOSHIMATSU, T. A novel culture system for the ultra-high-density production of the rotifer, *Brachionus rotundiformis* - a preliminary report. **Aquaculture**, v. 227; p. 165-172, 2003.

ZAGATTO, P. A.; BERTOLETTI, E. **Ecotoxicologia Aquática: Princípios e Aplicações**. São Carlos: Editora RiMa, 2006. 464 p.

**Apêndice A - Variáveis climatológicas e variáveis
abióticas e biótica (clorofila *a*) da água e do
sedimento**

Tabela 13. Variáveis climatológicas durante todo o período experimental. Os dados foram obtidos através da estação climatológica localizada no CRHEA (EESC - USP), em Itirapina (SP) (Cód. ANA 2247196).

Data	Dias após a primeira contaminação	Temperatura Média do Ar (°C)	Precipitação (mm dia⁻¹)	Irradiância Solar Global (MJ m⁻² dia⁻¹)	Umidade Relativa do Ar (%)
27/01/2011	0	26,6	0,0	24,4	67,3
28/01/2011	1	26,4	0,0	27,7	76,0
29/01/2011	2	25,9	14,6	24,3	73,8
30/01/2011	3	26,3	0,0	26,1	73,0
31/01/2011	4	25,7	30,0	27,1	75,5
01/02/2011	5	22,1	0,0	22,1	84,3
02/02/2011	6	23,0	21,5	11,7	83,8
03/02/2011	7	21,7	4,4	15,7	88,0
04/02/2011	8	22,8	2,1	10,1	84,8
05/02/2011	9	24,9	41,1	16,4	76,5
06/02/2011	10	26,1	0,0	23,6	71,3
07/02/2011	11	23,1	0,0	28,7	82,0
08/02/2011	12	25,6	0,0	13,1	69,3
09/02/2011	13	25,6	0,0	29,3	74,5
10/02/2011	14	24,7	0,7	25,2	76,0
11/02/2011	15	24,9	0,0	23,6	78,8
12/02/2011	16	25,8	1,8	21,0	70,3
13/02/2011	17	24,8	6,1	27,0	76,3
14/02/2011	18	22,6	0,0	20,3	86,3
15/02/2011	19	23,7	0,0	17,0	76,3

Tabela 14. Temperatura da água (°C), pH, oxigênio dissolvido (mg L⁻¹) e condutividade (μS cm⁻¹) (média ± desvio padrão, n=3) dos diferentes tratamentos durante todo o período experimental.

Dias após a primeira contaminação														
Temperatura (°C)														
	0h		0,125 (3h)		3		7		11		15		19	
C	27,4	± 0,1	29,8	± 0,4	26,4	± 0,1	25,1	± 0,1	25,5	± 0,1	25,6	± 0,1	25,2	± 0,0
CG	27,3	± 0,1	29,5	± 0,2	26,4	± 0,1	25,0	± 0,0	25,5	± 0,1	25,6	± 0,1	25,3	± 0,1
DM	27,5	± 0,1	29,7	± 0,7	26,4	± 0,1	25,0	± 0,0	25,5	± 0,1	25,6	± 0,1	25,3	± 0,0
DMG	27,5	± 0,0	29,7	± 0,3	26,5	± 0,1	25,0	± 0,0	25,4	± 0,0	25,6	± 0,0	25,3	± 0,1
DU	27,5	± 0,1	30,0	± 0,2	26,5	± 0,1	25,0	± 0,0	25,4	± 0,0	25,6	± 0,0	25,2	± 0,0
DUG	27,6	± 0,1	30,0	± 0,3	26,5	± 0,0	24,9	± 0,0	25,4	± 0,0	25,6	± 0,0	25,2	± 0,0
pH														
	0h		0,125 (3h)		3		7		11		15		19	
C	6,85	± 0,04	7,46	± 0,21	7,07	± 0,08	6,69	± 0,20	6,72	± 0,04	7,18	± 0,10	7,48	± 0,05
CG	6,71	± 0,08	7,16	± 0,16	6,97	± 0,05	6,56	± 0,14	6,49	± 0,09	7,05	± 0,05	7,42	± 0,14
DM	6,92	± 0,06	7,31	± 0,06	7,10	± 0,19	7,08	± 0,07	6,58	± 0,18	7,09	± 0,13	7,28	± 0,06
DMG	6,76	± 0,03	7,08	± 0,05	6,91	± 0,07	7,08	± 0,12	6,61	± 0,18	6,93	± 0,08	7,33	± 0,15
DU	6,94	± 0,04	7,29	± 0,11	7,00	± 0,21	6,98	± 0,04	6,41	± 0,07	7,24	± 0,12	7,27	± 0,03
DUG	7,01	± 0,06	7,40	± 0,08	7,02	± 0,08	7,25	± 0,09	6,57	± 0,10	7,23	± 0,06	7,30	± 0,10
Oxigênio Dissolvido (mg L ⁻¹)														
	0h		0,125 (3h)		3		7		11		15		19	
C	4,94	± 0,57	6,05	± 0,73	4,04	± 0,45	2,10	± 1,45	3,98	± 0,42	4,20	± 0,65	4,04	± 0,80
CG	5,37	± 0,47	5,20	± 0,20	2,58	± 0,76	1,88	± 0,17	2,36	± 0,50	3,14	± 1,12	2,31	± 0,54
DM	5,33	± 0,24	6,75	± 0,61	4,79	± 0,49	3,96	± 0,33	4,71	± 0,08	3,80	± 0,61	4,10	± 0,64
DMG	4,24	± 0,95	4,47	± 1,42	1,79	± 0,34	1,80	± 0,61	2,05	± 0,63	1,37	± 0,28	1,47	± 0,26
DU	5,45	± 0,39	7,24	± 0,73	3,95	± 0,62	2,16	± 1,09	4,31	± 0,87	4,86	± 0,38	5,10	± 0,48
DUG	6,32	± 0,53	5,56	± 0,46	0,30	± 0,04	2,42	± 1,15	3,63	± 0,90	3,10	± 0,30	2,09	± 0,40
Condutividade (μS cm ⁻¹)														
	0h		0,125 (3h)		3		7		11		15		19	
C	35	± 2	37	± 3	43	± 2	61	± 5	72	± 7	77	± 7	79	± 7
CG	35	± 6	37	± 5	50	± 4	88	± 15	71	± 13	80	± 13	82	± 11
DM	37	± 3	35	± 2	40	± 3	43	± 7	47	± 9	51	± 9	52	± 10
DMG	35	± 2	37	± 3	50	± 3	67	± 4	77	± 3	85	± 5	92	± 7
DU	34	± 3	33	± 4	38	± 4	46	± 14	49	± 12	52	± 12	52	± 12
DUG	40	± 12	41	± 11	72	± 12	77	± 12	77	± 15	79	± 15	85	± 12

Tabela 15. Turbidez (UNT) e concentração de clorofila *a* (média $\pm$ desvio padrão, n=3) dos diferentes tratamentos durante todo o período experimental.

Dias após a primeira contaminação																			
Turbidez (UNT)																			
0h		0,125 (3h)			3			7			11			15			19		
C	6,0 ± 1,0	7,0	±	1,0	7,3	±	1,5	10,7	±	1,2	10,7	±	0,6	11,0	±	2,0	8,0	±	1,7
CG		5,7	±	0,6	6,3	±	1,5	7,3	±	1,5	4,7	±	0,6	5,3	±	0,6	4,0	±	1,0
DM		6,3	±	0,6	6,3	±	0,6	7,7	±	0,6	7,3	±	1,2	7,3	±	0,6	8,0	±	1,7
DMG		5,7	±	0,6	5,0	±	1,0	7,3	±	0,6	7,3	±	1,5	7,3	±	2,5	4,7	±	0,6
DU		5,3	±	0,6	5,7	±	1,2	11,3	±	2,3	8,3	±	3,1	7,7	±	2,5	5,3	±	1,2
DUG		8,3	±	0,6	18,3	±	1,5	15,0	±	0,0	28,7	±	5,0	16,0	±	4,0	9,3	±	1,5
Clorofila <i>a</i> (µg L ⁻¹)																			
0h		0,125 (3h)			3			7			11			15			19		
C	22,8 ± 8,8	19,8	±	3,3	15,2	±	2,3	8,8	±	2,3	8,4	±	0,0	10,2	±	1,9	11,6	±	2,3
CG		12,8	±	3,1	5,6	±	0,0	2,8	±	0,9	3,7	±	0,0	4,7	±	2,5	4,7	±	0,9
DM		22,1	±	2,1	22,9	±	2,1	21,1	±	3,5	25,6	±	1,4	18,0	±	4,4	20,2	±	11,7
DMG		10,8	±	1,7	11,6	±	0,5	6,5	±	2,5	4,7	±	0,9	5,0	±	1,4	4,3	±	1,9
DU		20,7	±	3,8	13,3	±	2,3	29,8	±	8,4	17,2	±	0,5	32,6	±	0,0	21,4	±	3,7
DUG		19,1	±	3,4	24,2	±	4,7	307,2	±	77,9	299,5	±	94,9	85,9	±	65,8	63,6	±	36,4

Tabela 16. Concentração de nitrogênio total (mg L^{-1}) e fósforo total ($\mu\text{g L}^{-1}$) (média $\pm$ desvio padrão, n=3) dos diferentes tratamentos durante todo o período experimental.

Dias após a primeira contaminação														
Nitrogênio total (mg L ⁻¹)														
0h		0,125 (3h)		3		7		11		15		19		
C	0,58 ± 0,02	0,40	± 0,03	0,61	± 0,05	0,47	± 0,05	0,50	± 0,22	0,47	± 0,00	0,25	± 0,10	
CG		0,37	± 0,14	0,59	± 0,16	0,98	± 0,20	1,14	± 0,07	1,62	± 0,17	1,35	± 0,05	
DM		0,79	± 0,09	0,16	± 0,02	0,44	± 0,03	0,50	± 0,14	0,56	± 0,08	0,26	± 0,19	
DMG		0,45	± 0,10	0,40	± 0,02	1,63	± 0,33	1,88	± 0,19	2,02	± 0,16	1,74	± 0,19	
DU		0,33	± 0,05	0,26	± 0,02	0,70	± 0,05	0,19	± 0,05	0,70	± 0,09	0,42	± 0,05	
DUG		0,16	± 0,02	1,14	± 0,27	0,42	± 0,09	2,10	± 0,29	1,17	± 0,13	0,96	± 0,02	
Fósforo total (µg L ⁻¹)														
0h		0,125 (3h)		3		7		11		15		19		
C	231,1 ± 0,2	214,4	± 0,8	302,9	± 14,4	224,4	± 21,2	105,4	± 19,6	222,5	± 23,6	263,0	± 16,9	
CG		340,7	± 2,9	353,3	± 5,0	267,3	± 26,4	117,6	± 5,2	258,4	± 32,8	272,0	± 10,1	
DM		249,5	± 12,2	300,2	± 5,4	251,2	± 8,8	79,6	± 0,0	239,2	± 29,4	261,1	± 4,0	
DMG		235,3	± 0,7	324,0	± 15,7	268,9	± 23,7	150,9	± 13,0	287,9	± 16,4	305,5	± 13,6	
DU		272,6	± 13,2	300,1	± 9,4	252,2	± 26,3	140,3	± 4,1	257,3	± 30,3	257,8	± 5,5	
DUG		264,4	± 56,0	825,6	± 14,0	846,9	± 14,7	704,1	± 28,0	529,5	± 61,5	461,6	± 49,4	

Tabela 17. Concentração de nitrito ($\mu\text{g L}^{-1}$), nitrato ($\mu\text{g L}^{-1}$) e amônio ($\mu\text{g L}^{-1}$) (média $\pm$ desvio padrão, n=3) dos diferentes tratamentos durante todo o período experimental.

Dias após a primeira contaminação													
Nitrito ($\mu\text{g L}^{-1}$)													
0h		0,125 (3h)		3		7		11		15		19	
C		2,7 $\pm$ 0,3		2,3 $\pm$ 0,4		3,3 $\pm$ 0,1		3,5 $\pm$ 0,7		11,4 $\pm$ 4,9		105,1 $\pm$ 21,9	
CG		2,6 $\pm$ 0,3		2,8 $\pm$ 0,6		3,4 $\pm$ 0,6		3,4 $\pm$ 0,2		25,8 $\pm$ 0,7		309,9 $\pm$ 20,8	
DM	6,1 $\pm$ 0,4	2,9 $\pm$ 1,0		2,5 $\pm$ 0,4		1,9 $\pm$ 0,1		2,0 $\pm$ 1,1		3,4 $\pm$ 0,2		30,4 $\pm$ 0,4	
DMG		2,4 $\pm$ 0,2		2,2 $\pm$ 0,2		2,4 $\pm$ 0,6		3,0 $\pm$ 1,2		16,2 $\pm$ 5,1		170,1 $\pm$ 23,8	
DU		2,7 $\pm$ 0,4		2,1 $\pm$ 0,1		2,6 $\pm$ 0,6		1,5 $\pm$ 0,5		1,9 $\pm$ 1,0		2,7 $\pm$ 0,4	
DUG		3,9 $\pm$ 0,8		3,2 $\pm$ 0,1		1,8 $\pm$ 0,1		1,6 $\pm$ 0,9		2,6 $\pm$ 1,4		15,8 $\pm$ 1,1	
Nitrato ($\mu\text{g L}^{-1}$)													
0h		0,125 (3h)		3		7		11		15		19	
C		33,9 $\pm$ 2,9		27,3 $\pm$ 3,8		31,5 $\pm$ 4,0		14,3 $\pm$ 0,3		15,2 $\pm$ 3,0		146,5 $\pm$ 29,2	
CG		24,4 $\pm$ 1,4		28,5 $\pm$ 1,6		33,0 $\pm$ 4,8		20,1 $\pm$ 5,1		46,8 $\pm$ 5,9		354,4 $\pm$ 23,4	
DM	28,5 $\pm$ 1,0	23,5 $\pm$ 3,6		31,4 $\pm$ 1,9		30,8 $\pm$ 1,7		14,1 $\pm$ 1,6		11,0 $\pm$ 1,3		65,6 $\pm$ 48,6	
DMG		21,5 $\pm$ 3,3		35,4 $\pm$ 11,0		27,0 $\pm$ 2,0		16,3 $\pm$ 2,6		8,4 $\pm$ 2,0		201,2 $\pm$ 49,4	
DU		22,6 $\pm$ 4,6		24,1 $\pm$ 4,9		11,4 $\pm$ 0,2		13,0 $\pm$ 2,2		6,6 $\pm$ 0,7		4,7 $\pm$ 3,0	
DUG		19,9 $\pm$ 3,5		14,7 $\pm$ 3,6		11,4 $\pm$ 2,7		12,9 $\pm$ 0,1		8,4 $\pm$ 3,2		0,2 $\pm$ 0,0	
Amônio ($\mu\text{g L}^{-1}$)													
0h		0,125 (3h)		3		7		11		15		19	
C		11,1 $\pm$ 5,8		48,2 $\pm$ 14,6		153,1 $\pm$ 9,2		256,0 $\pm$ 28,0		276,4 $\pm$ 37,5		244,0 $\pm$ 37,4	
CG		36,0 $\pm$ 3,9		282,5 $\pm$ 45,4		354,7 $\pm$ 5,8		551,3 $\pm$ 27,0		543,6 $\pm$ 38,8		443,0 $\pm$ 40,4	
DM	47,2 $\pm$ 2,2	13,3 $\pm$ 5,7		20,3 $\pm$ 0,1		65,0 $\pm$ 1,5		187,5 $\pm$ 47,0		173,3 $\pm$ 49,5		183,6 $\pm$ 55,0	
DMG		14,1 $\pm$ 3,3		206,4 $\pm$ 27,4		342,1 $\pm$ 4,8		559,3 $\pm$ 54,7		568,9 $\pm$ 53,0		483,4 $\pm$ 34,5	
DU		5,4 $\pm$ 1,6		10,1 $\pm$ 2,2		97,2 $\pm$ 10,7		242,0 $\pm$ 45,1		203,9 $\pm$ 60,1		183,7 $\pm$ 40,8	
DUG		7,2 $\pm$ 1,5		234,3 $\pm$ 59,1		287,7 $\pm$ 48,2		408,9 $\pm$ 89,3		351,6 $\pm$ 68,9		368,9 $\pm$ 46,8	

Tabela 18. Concentração de fosfato inorgânico ($\mu\text{g L}^{-1}$) fosfato total dissolvido ($\mu\text{g L}^{-1}$) e silicato (mg L^{-1}) (média $\pm$ desvio padrão, n=3) dos diferentes tratamentos durante todo o período experimental.

Dias após a primeira contaminação												
Fosfato Inorgânico ($\mu\text{g L}^{-1}$)												
	0h	0,125 (3h)		3		7		11		15		19
C		21,8 $\pm$ 0,1		31,0 $\pm$ 2,9		20,7 $\pm$ 0,4		7,4 $\pm$ 2,1		20,5 $\pm$ 0,6		3,5 $\pm$ 0,1
CG		63,8 $\pm$ 5,8		90,9 $\pm$ 13,3		94,3 $\pm$ 0,5		25,0 $\pm$ 0,5		57,1 $\pm$ 18,5		35,8 $\pm$ 15,6
DM	20,7 $\pm$ 0,1	33,7 $\pm$ 4,5		34,5 $\pm$ 5,1		20,6 $\pm$ 0,2		6,3 $\pm$ 0,1		20,3 $\pm$ 0,1		20,9 $\pm$ 0,0
DMG		34,3 $\pm$ 0,0		57,7 $\pm$ 2,5		57,3 $\pm$ 0,6		25,6 $\pm$ 4,7		57,5 $\pm$ 18,5		45,3 $\pm$ 21,5
DU		21,4 $\pm$ 0,1		24,4 $\pm$ 2,7		20,4 $\pm$ 0,1		7,6 $\pm$ 2,1		20,4 $\pm$ 0,2		21,0 $\pm$ 0,4
DUG		26,5 $\pm$ 6,1		425,1 $\pm$ 14,1		283,7 $\pm$ 26,8		52,2 $\pm$ 6,6		130,8 $\pm$ 0,2		129,2 $\pm$ 4,3
Fosfato Total Dissolvido ($\mu\text{g L}^{-1}$)												
	0h	0,125 (3h)		3		7		11		15		19
C		59,6 $\pm$ 4,7		63,1 $\pm$ 12,3		50,3 $\pm$ 14,4		10,3 $\pm$ 1,0		36,1 $\pm$ 11,2		42,8 $\pm$ 11,1
CG		99,4 $\pm$ 1,6		123,0 $\pm$ 11,5		103,8 $\pm$ 0,5		31,0 $\pm$ 0,2		69,7 $\pm$ 20,0		92,5 $\pm$ 17,7
DM	39,7 $\pm$ 8,3	62,3 $\pm$ 3,8		64,9 $\pm$ 2,8		37,5 $\pm$ 1,9		8,9 $\pm$ 1,1		32,2 $\pm$ 3,5		49,9 $\pm$ 1,2
DMG		63,9 $\pm$ 11,0		89,9 $\pm$ 5,8		72,0 $\pm$ 6,1		26,8 $\pm$ 7,3		69,4 $\pm$ 0,6		85,2 $\pm$ 1,9
DU		52,1 $\pm$ 10,6		63,8 $\pm$ 2,7		40,6 $\pm$ 2,9		9,3 $\pm$ 2,2		30,1 $\pm$ 0,1		46,0 $\pm$ 1,3
DUG		54,2 $\pm$ 2,5		458,6 $\pm$ 2,4		331,3 $\pm$ 18,2		59,5 $\pm$ 0,5		149,2 $\pm$ 35,1		176,2 $\pm$ 23,5
Silicato (mg L^{-1})												
	0h	0,125 (3h)		3		7		11		15		19
C		2,0 $\pm$ 0,2		3,4 $\pm$ 0,4		3,8 $\pm$ 0,3		3,4 $\pm$ 0,5		3,4 $\pm$ 0,4		4,2 $\pm$ 0,4
CG		2,2 $\pm$ 0,3		3,7 $\pm$ 0,3		3,2 $\pm$ 0,3		3,0 $\pm$ 0,6		3,2 $\pm$ 0,6		3,8 $\pm$ 0,7
DM	4,0 $\pm$ 0,6	2,0 $\pm$ 0,1		2,7 $\pm$ 0,1		2,5 $\pm$ 0,3		2,3 $\pm$ 0,4		2,4 $\pm$ 0,4		2,8 $\pm$ 0,4
DMG		1,4 $\pm$ 0,5		2,2 $\pm$ 0,3		3,1 $\pm$ 0,1		2,9 $\pm$ 0,2		2,8 $\pm$ 0,4		3,0 $\pm$ 0,3
DU		1,7 $\pm$ 0,2		2,3 $\pm$ 0,4		2,5 $\pm$ 0,3		2,5 $\pm$ 0,0		2,5 $\pm$ 0,1		2,9 $\pm$ 0,0
DUG		1,7 $\pm$ 0,56		1,8 $\pm$ 0,2		2,9 $\pm$ 0,1		2,8 $\pm$ 0,0		3,4 $\pm$ 0,3		3,2 $\pm$ 0,2

Tabela 19. Concentração de nitrogênio total (%), fósforo total ($\mu\text{g g}^{-1}$) e matéria orgânica (%) no sedimento (média $\pm$ desvio padrão, n=3) dos diferentes tratamentos antes da primeira contaminação por Vertimec® 18 CE (0h) e no último dia do experimento.

Dias após a primeira contaminação				
Nitrogênio total (%)				
0h		19		
C		0,04	±	0,02
CG		0,05	±	0,01
DM	0,04 ± 0,00	0,09	±	0,02
DMG		0,12	±	0,01
DU		0,06	±	0,03
DUG		0,06	±	0,02
Fósforo total (µg g ⁻¹)				
0h		19		
C		1,05	±	0,25
CG		1,17	±	0,28
DM	1,30 ± 0,12	1,53	±	0,08
DMG		1,56	±	0,31
DU		1,77	±	0,74
DUG		1,29	±	0,69
Matéria orgânica (%)				
0h		19		
C		6,31	±	0,92
CG		7,19	±	1,04
DM	7,03 ± 0,41	8,53	±	0,77
DMG		7,39	±	1,11
DU		8,75	±	0,76
DUG		7,25	±	0,91

Apêndice B - Comunidade fitoplanctônica

Tabela 20. Densidade (ind mL⁻¹), riqueza, diversidade (bits ind⁻¹), dominância e equitabilidade da comunidade fitoplanctônica (média ± desvio padrão, n=3) nos diferentes tratamentos durante todo o período experimental.

Dias após a primeira contaminação													
Densidade (ind mL ⁻¹)													
0h		0,125 (3h)		3		7		11		15		19	
C		8892	± 289	8536	± 5132	11440	± 9873	6782	± 2574	7278	± 3833	5190	± 857
CG		7689	± 890	4518	± 2282	2621	± 1313	1970	± 485	2408	± 1290	2811	± 1957
DM		12305	± 538	13154	± 5194	12321	± 6607	11314	± 5140	10288	± 6217	9122	± 4067
DMG	14441 ± 8662	15548	± 6774	7402	± 3816	6118	± 4946	2930	± 693	3556	± 1392	3699	± 2453
DU		16943	± 355	14671	± 6516	18530	± 6977	16336	± 8400	13006	± 5515	6167	± 2259
DUG		17280	± 3923	96919	± 10047	44620	± 16966	37146	± 10479	28422	± 9117	33576	± 17400
Riqueza													
0h		0,125 (3h)		3		7		11		15		19	
C		22	± 3	14	± 6	16	± 3	16	± 3	12	± 1	12	± 3
CG		20	± 2	10	± 2	8	± 3	8	± 1	8	± 3	7	± 4
DM		24	± 2	23	± 4	22	± 2	22	± 5	15	± 3	19	± 6
DMG	26 ± 4	24	± 6	14	± 3	12	± 3	8	± 3	6	± 1	7	± 1
DU		22	± 2	16	± 2	17	± 8	14	± 1	15	± 5	13	± 3
DUG		24	± 5	11	± 2	20	± 6	22	± 3	18	± 2	18	± 4
Diversidade de Shannon-Wiener (bits ind ⁻¹)													
0h		0,125 (3h)		3		7		11		15		19	
C		3,6	± 0,3	2,3	± 0,2	2,8	± 0,2	2,8	± 0,2	2,4	± 0,1	2,4	± 0,1
CG		3,5	± 0,3	2,4	± 0,7	2,3	± 0,3	2,4	± 0,1	2,4	± 0,6	2,0	± 0,6
DM		3,3	± 0,5	2,7	± 0,4	3,1	± 0,4	3,4	± 0,0	2,3	± 0,3	2,7	± 0,2
DMG	3,3 ± 0,4	3,0	± 0,4	2,7	± 0,3	2,5	± 0,5	2,1	± 0,7	1,6	± 0,4	2,2	± 0,2
DU		2,8	± 0,1	2,3	± 0,4	2,3	± 0,3	2,1	± 0,3	2,0	± 0,2	2,4	± 0,2
DUG		2,9	± 0,2	1,8	± 0,3	3,1	± 0,2	3,3	± 0,2	3,1	± 0,3	2,7	± 0,4
Dominância													
0h		0,125 (3h)		3		7		11		15		19	
C		0,13	± 0,03	0,30	± 0,05	0,22	± 0,05	0,22	± 0,04	0,31	± 0,04	0,29	± 0,01
CG		0,12	± 0,03	0,28	± 0,14	0,27	± 0,06	0,24	± 0,04	0,27	± 0,14	0,32	± 0,09
DM		0,18	± 0,07	0,29	± 0,05	0,24	± 0,14	0,17	± 0,07	0,39	± 0,19	0,29	± 0,13
DMG	0,10 ± 0,03	0,24	± 0,07	0,26	± 0,04	0,28	± 0,13	0,37	± 0,16	0,50	± 0,16	0,29	± 0,08
DU		0,27	± 0,01	0,33	± 0,08	0,37	± 0,13	0,41	± 0,18	0,45	± 0,17	0,33	± 0,12
DUG		0,27	± 0,01	0,38	± 0,06	0,18	± 0,02	0,15	± 0,02	0,18	± 0,06	0,27	± 0,13
Equitabilidade													
0h		0,125 (3h)		3		7		11		15		19	
C		0,80	± 0,04	0,63	± 0,10	0,70	± 0,10	0,71	± 0,06	0,68	± 0,05	0,69	± 0,07
CG		0,82	± 0,07	0,71	± 0,15	0,80	± 0,08	0,83	± 0,05	0,79	± 0,18	0,79	± 0,12
DM		0,72	± 0,09	0,61	± 0,07	0,69	± 0,15	0,76	± 0,09	0,58	± 0,15	0,62	± 0,11
DMG	0,70 ± 0,12	0,65	± 0,03	0,71	± 0,07	0,71	± 0,14	0,70	± 0,14	0,58	± 0,14	0,80	± 0,13
DU		0,63	± 0,02	0,56	± 0,07	0,56	± 0,11	0,54	± 0,16	0,61	± 0,08	0,49	± 0,15
DUG		0,64	± 0,01	0,52	± 0,06	0,72	± 0,05	0,73	± 0,02	0,64	± 0,25	0,67	± 0,15

Tabela 21. Densidade média (ind mL⁻¹) das espécies fitoplanctônicas no tratamento Controle (C) durante todo o período experimental.

TAXA	Dias após a primeira contaminação						
	0h	0,125 (3h)	3	7	11	15	19
Cyanophyceae	4257	2510	3647	5998	5007	4938	3323
<i>Anabaena</i> sp.	34	51	48	53	0	0	0
<i>Aphanocapsa delicatissima</i>	3629	2036	2058	2017	2574	3751	2535
<i>Aphanocapsa elachista</i>	82	67	0	118	342	0	0
<i>Chroococcus</i> sp.	0	0	0	87	261	118	65
<i>Epigloeosphaera</i> sp.	0	28	32	22	386	92	74
<i>Lyngbya</i> sp.	0	57	64	25	0	184	65
<i>Merismopedia tenuissima</i>	234	164	32	287	198	0	52
<i>Microcystis aeruginosa</i>	19	0	0	0	395	53	104
<i>Nodularia</i> sp.	0	0	0	0	0	0	22
<i>Oscillatoria</i> sp.	19	0	0	0	0	0	0
<i>Phormidium</i> sp.	20	0	0	0	18	92	0
<i>Pseudanabaena galeata</i>	116	51	1254	3016	646	392	43
<i>Pseudanabaena minima</i>	0	0	48	70	69	0	0
<i>Pseudanabaena mucicola</i>	0	57	111	305	92	257	332
<i>Rhabdoderma</i> sp.	102	0	0	0	0	0	0
<i>Synechococcus</i> sp.	0	0	0	0	25	0	31
Chlamydoephyceae	4152	1714	3519	3242	770	997	479
<i>Chlamydomonas</i> sp. 1	3861	1578	3434	3177	770	882	479
<i>Chlamydomonas</i> sp. 2	291	136	85	65	0	115	0
Chlorophyceae	3567	2672	1098	1895	805	842	729
<i>Ankistrodesmus falcatus</i>	40	0	0	0	0	0	0
<i>Botryococcus braunii</i>	0	107	0	0	26	0	0
<i>Chlorella vulgaris</i>	1557	1112	901	1193	559	678	677
<i>Coelastrum pulchrum</i> (= <i>C. cambricum</i>)	20	0	0	0	0	0	0
<i>Coenochloris pyrenoidosa</i>	0	0	0	53	26	0	0
<i>Crucigenia tetrapedia</i>	219	118	53	22	0	0	0
<i>Desmodesmus armatus</i> (= <i>S. armatus</i>)	19	85	0	43	0	0	31
<i>Eutetramorus</i> sp.	0	22	0	0	0	0	0
<i>Golenkinia radiata</i>	0	0	0	26	0	0	0
<i>Hariotina reticulata</i> (= <i>C. reticulatum</i>)	100	385	16	0	0	0	0
<i>Kirchneriella lunaris</i>	258	57	16	0	18	0	0
<i>Kirchneriella obesa</i>	20	0	0	0	18	0	0
<i>Micractinium pusillum</i>	19	57	0	26	0	0	0
<i>Monoraphidium arcuatum</i>	93	0	16	0	25	23	0
<i>Monoraphidium contortum</i>	0	28	0	26	45	26	0
<i>Monoraphidium griffithii</i>	228	22	32	25	45	23	22
<i>Monoraphidium minutum</i>	136	113	0	218	0	0	0
<i>Oocystis marssonii</i>	125	170	16	96	0	0	0

<i>Pediastrum duplex</i>	20	0	0	0	0	0	0
<i>Scenedesmus communis</i> (= <i>S. quadricauda</i>)	53	51	0	0	25	0	0
<i>Scenedesmus ecornis</i>	587	299	32	25	0	46	0
<i>Selenastrum gracile</i>	0	22	0	0	0	0	0
<i>Sphaerocystis</i> sp.	39	0	0	75	0	0	0
<i>Stauridium tetras</i> (= <i>P. tetras</i>)	0	0	16	0	0	0	0
<i>Tetraedron minimum</i>	0	22	0	22	18	46	0
<i>Treubaria</i> sp.	34	0	0	0	0	0	0
<i>Willea rectangularis</i> (= <i>C. rectangularis</i>)	0	0	0	43	0	0	0
Zygnemaphyceae	20	0	16	0	0	0	0
<i>Closterium</i> sp.	20	0	16	0	0	0	0
Euglenophyceae	149	57	16	123	112	224	190
<i>Euglena</i> sp.	108	0	16	25	18	46	92
<i>Phacus acuminatus</i>	0	0	0	0	0	23	0
<i>Trachelomonas</i> sp. 1	0	0	0	50	0	0	31
<i>Trachelomonas</i> sp. 2	41	28	0	22	0	76	68
<i>Trachelomonas superba</i>	0	0	0	26	94	0	0
<i>Trachelomonas volvocinopsis</i>	0	28	0	0	0	79	0
Cryptophyceae	1162	970	144	79	0	204	243
<i>Cryptomonas brasiliensis</i>	805	586	128	79	0	158	206
<i>Cryptomonas erosa</i>	20	113	0	0	0	0	0
<i>Cryptomonas tetrapyrenoidosa</i>	234	226	0	0	0	0	0
<i>Rhodomonas lacustris</i>	102	45	16	0	0	46	37
Chrysophyceae	329	232	16	26	26	0	0
<i>Mallomonas</i> sp.	329	232	16	26	26	0	0
Bacillariophyceae	804	735	80	76	61	72	225
<i>Cyclotella</i> sp.	180	327	64	0	25	46	37
<i>Eunotia</i> sp.	125	28	0	0	0	0	0
<i>Navicula</i> sp.	375	243	16	0	18	0	114
<i>Nupela</i> sp.	20	0	0	0	0	26	0
<i>Pinnularia</i> sp.	41	22	0	0	0	0	74
<i>Rhoicosphenia</i> sp.	61	57	0	50	0	0	0
<i>Surirella</i> sp.	0	57	0	0	0	0	0
<i>Synedra</i> sp.	0	0	0	26	18	0	0

Tabela 22. Densidade média (ind mL⁻¹) das espécies fitoplanctônicas no tratamento Controle com girinos (CG) durante todo o período experimental.

TAXA	Dias após a primeira contaminação						
	0h	0,125 (3h)	3	7	11	15	19
Cyanophyceae	4257	1797	2004	1281	955	1351	1356
<i>Anabaena</i> sp.	34	78	0	0	0	0	0
<i>Aphanocapsa delicatissima</i>	3629	1273	802	825	686	1033	1203
<i>Aphanocapsa elachista</i>	82	59	0	0	0	0	0
<i>Chroococcus</i> sp.	0	30	0	90	0	0	0
<i>Epigloeosphaera</i> sp.	0	149	64	0	90	0	61
<i>Lyngbya</i> sp.	0	19	832	41	0	0	0
<i>Merismopedia tenuissima</i>	234	19	46	113	25	0	61
<i>Microcystis aeruginosa</i>	19	0	74	31	43	112	0
<i>Oscillatoria</i> sp.	19	0	0	0	0	0	0
<i>Phormidium</i> sp.	20	0	0	0	0	0	0
<i>Planktolyngbya</i> sp.	0	0	0	0	22	0	0
<i>Pseudanabaena galeata</i>	116	78	89	59	90	75	0
<i>Pseudanabaena minima</i>	0	0	0	0	0	18	31
<i>Pseudanabaena mucicola</i>	0	0	0	92	0	75	0
<i>Rhabdoderma</i> sp.	102	59	0	0	0	0	0
<i>Synechococcus</i> sp.	0	0	74	31	0	37	0
<i>Synechocystis</i> sp.	0	34	25	0	0	0	0
Chlamydomonadales	4152	1244	1548	705	417	638	746
<i>Chlamydomonas</i> sp. 1	3861	982	1450	705	417	638	746
<i>Chlamydomonas</i> sp. 2	291	262	98	0	0	0	0
Chlorophyceae	3567	2647	684	522	355	253	371
<i>Ankistrodesmus falcatus</i>	40	34	0	0	0	0	0
<i>Botryococcus braunii</i>	0	19	0	0	0	0	0
<i>Chlorella vulgaris</i>	1557	1348	571	409	287	194	341
<i>Coelastrum proboscideum</i>	0	0	0	0	0	41	0
<i>Coelastrum pulchrum</i> (= <i>C. cambricum</i>)	20	0	25	0	0	0	31
<i>Crucigenia tetrapedia</i>	219	164	0	31	0	0	0
<i>Desmodesmus armatus</i> (= <i>S. armatus</i>)	19	34	0	0	0	0	0
<i>Golenkinia radiata</i>	0	34	0	0	22	0	0
<i>Hariotina reticulata</i> (= <i>C. reticulatum</i>)	100	135	0	0	0	0	0
<i>Kirchneriella lunaris</i>	258	19	0	0	0	0	0
<i>Kirchneriella obesa</i>	20	0	0	0	0	0	0
<i>Micractinium pusillum</i>	19	0	0	0	0	0	0
<i>Monoraphidium arcuatum</i>	93	30	0	0	0	0	0
<i>Monoraphidium contortum</i>	0	0	0	41	0	0	0
<i>Monoraphidium griffithii</i>	228	59	0	0	0	0	0
<i>Monoraphidium minutum</i>	136	323	0	0	0	0	0
<i>Oocystis marssonii</i>	125	34	0	0	0	0	0

<i>Pediastrum duplex</i>	20	0	0	0	0	0	0
<i>Scenedesmus communis</i> (= <i>S. quadricauda</i>)	53	0	0	0	0	0	0
<i>Scenedesmus ecornis</i>	587	336	67	41	25	0	0
<i>Sphaerocystis</i> sp.	39	0	0	0	0	18	0
<i>Stauridium tetras</i> (= <i>P. tetras</i>)	0	59	21	0	0	0	0
<i>Tetraedron minimum</i>	0	19	0	0	0	0	0
<i>Treubaria</i> sp.	34	0	0	0	22	0	0
Zygnemaphyceae	20	287	0	0	0	0	0
<i>Closterium</i> sp.	20	0	0	0	0	0	0
<i>Cosmarium</i> sp.	0	79	0	0	0	0	0
<i>Staurodesmus</i> sp.	0	208	0	0	0	0	0
Euglenophyceae	149	315	25	82	0	0	61
<i>Euglena</i> sp.	108	0	25	0	0	0	0
<i>Lepocinclis globulus</i> (= <i>L. ovum</i>)	0	0	0	41	0	0	0
<i>Trachelomonas</i> sp. 2	41	63	0	41	0	0	31
<i>Trachelomonas volvocinopsis</i>	0	252	0	0	0	0	31
Cryptophyceae	1162	512	166	0	156	59	61
<i>Cryptomonas brasiliensis</i>	805	239	166	0	115	18	61
<i>Cryptomonas erosa</i>	20	0	0	0	0	0	0
<i>Cryptomonas tetrapyrenoidosa</i>	234	273	0	0	0	41	0
<i>Rhodomonas lacustris</i>	102	0	0	0	41	0	0
Xantophyceae	0	19	0	0	0	0	0
<i>Goniochloris</i> sp.	0	19	0	0	0	0	0
Chrysophyceae	329	285	0	0	0	0	0
<i>Mallomonas</i> sp.	329	285	0	0	0	0	0
Bacillariophyceae	804	583	92	31	87	106	215
<i>Cyclotella</i> sp.	180	523	46	0	43	59	0
<i>Eunotia</i> sp.	125	0	0	0	0	0	0
<i>Navicula</i> sp.	375	0	46	0	43	28	154
<i>Nupela</i> sp.	20	0	0	0	0	0	0
<i>Pinnularia</i> sp.	41	59	0	31	0	18	31
<i>Rhoicosphenia</i> sp.	61	0	0	0	0	0	31

Tabela 23. Densidade média (ind mL⁻¹) das espécies fitoplanctônicas no tratamento Dose múltipla (DM) durante todo o período experimental.

TAXA	Dias após a primeira contaminação						
	0h	0,125 (3h)	3	7	11	15	19
Cyanophyceae	4257	4787	7633	7755	6170	7267	5443
<i>Anabaena</i> sp.	34	39	52	0	0	0	0
<i>Aphanocapsa delicatissima</i>	3629	4152	6739	5821	4305	6396	4489
<i>Aphanocapsa elachista</i>	82	189	82	0	0	0	0
<i>Chroococcus</i> sp.	0	0	0	75	25	69	53
<i>Epigloeosphaera</i> sp.	0	90	82	369	173	164	79
<i>Lyngbya</i> sp.	0	39	119	393	0	0	211
<i>Merismopedia tenuissima</i>	234	0	67	88	22	0	88
<i>Microcystis aeruginosa</i>	19	197	186	37	179	41	26
<i>Oscillatoria</i> sp.	19	19	37	0	0	0	0
<i>Phormidium</i> sp.	20	0	0	0	0	0	26
<i>Planktolyngbya</i> sp.	0	0	0	53	0	18	41
<i>Pseudanabaena galeata</i>	116	0	34	125	237	141	132
<i>Pseudanabaena minima</i>	0	39	0	74	87	47	152
<i>Pseudanabaena mucicola</i>	0	23	235	537	911	309	146
<i>Rhabdoderma</i> sp.	102	0	0	0	133	0	0
<i>Synechococcus</i> sp.	0	0	0	184	98	82	0
Chlamydomonadales	4152	2229	1099	841	1097	1299	1480
<i>Chlamydomonas</i> sp. 1	3861	1974	965	630	984	1299	1480
<i>Chlamydomonas</i> sp. 2	291	255	134	211	114	0	0
Chlorophyceae	3567	3762	3417	2929	3327	1305	1614
<i>Acanthosphaera</i> sp.	0	0	20	74	31	0	0
<i>Ankistrodesmus falcatus</i>	40	19	0	26	0	0	26
<i>Ankistrodesmus spiralis</i>	0	24	0	0	0	0	0
<i>Botryococcus braunii</i>	0	69	34	0	0	0	0
<i>Chlorella vulgaris</i>	1557	1616	1872	1318	1122	518	1018
<i>Coelastrum astroideum</i>	0	24	0	0	0	0	0
<i>Coelastrum pulchrum</i> (= <i>C. cambricum</i>)	20	0	0	0	22	0	26
<i>Coenochloris pyrenoidosa</i>	0	0	0	0	0	41	0
<i>Crucigenia tetrapedia</i>	219	135	184	498	657	198	26
<i>Desmodesmus armatus</i> (= <i>S. armatus</i>)	19	0	37	26	49	41	0
<i>Desmodesmus opoliensis</i> (= <i>S. opoliensis</i>)	0	24	0	0	0	0	0
<i>Golenkinia radiata</i>	0	23	197	0	90	47	0
<i>Hariotina reticulata</i> (= <i>C. reticulatum</i>)	100	233	71	0	0	0	0
<i>Kirchneriella lunaris</i>	258	67	71	207	308	208	0
<i>Kirchneriella obesa</i>	20	166	0	37	22	0	0
<i>Micractinium pusillum</i>	19	0	0	0	0	0	0
<i>Monoraphidium arcuatum</i>	93	71	139	141	388	37	20
<i>Monoraphidium contortum</i>	0	0	0	98	0	0	26

<i>Monoraphidium griffithii</i>	228	155	20	26	0	18	94
<i>Monoraphidium irregulare</i>	0	0	34	0	0	0	0
<i>Monoraphidium minutum</i>	136	279	186	0	228	0	20
<i>Oocystis marssonii</i>	125	70	186	25	133	37	20
<i>Pediastrum duplex</i>	20	0	20	0	0	0	0
<i>Scenedesmus communis</i> (= <i>S. quadricauda</i>)	53	19	54	51	0	0	0
<i>Scenedesmus ecornis</i>	587	676	217	251	231	132	184
<i>Selenastrum gracile</i>	0	0	41	49	0	0	53
<i>Sphaerocystis</i> sp.	39	0	0	49	0	0	53
<i>Stauridium tetras</i> (= <i>P. tetras</i>)	0	24	0	0	25	0	20
<i>Tetraedron trigonum</i>	0	0	0	0	22	0	0
<i>Treubaria</i> sp.	34	0	34	0	0	0	0
<i>Willea rectangularis</i> (= <i>C. rectangularis</i>)	0	69	0	53	0	28	26
Zygnemaphyceae	20	70	34	0	0	0	0
<i>Closterium</i> sp.	20	70	0	0	0	0	0
<i>Staurostrum gracile</i>	0	0	34	0	0	0	0
Euglenophyceae	149	88	161	458	216	306	187
<i>Euglena</i> sp.	108	0	20	384	148	119	26
<i>Lepocinclis globulus</i> (= <i>L. ovum</i>)	0	0	37	0	0	28	0
<i>Trachelomonas</i> sp. 1	0	0	37	37	0	37	0
<i>Trachelomonas</i> sp. 2	41	0	67	37	22	85	20
<i>Trachelomonas superba</i>	0	0	0	0	25	0	0
<i>Trachelomonas volvocinopsis</i>	0	88	0	0	22	37	140
Cryptophyceae	1162	671	528	136	43	37	47
<i>Cryptomonas brasiliensis</i>	805	391	159	37	0	0	26
<i>Cryptomonas erosa</i>	20	0	0	0	0	0	0
<i>Cryptomonas tetrapyrenoidosa</i>	234	233	335	62	43	37	20
<i>Rhodomonas lacustris</i>	102	47	34	37	0	0	0
Chrysophyceae	329	185	20	51	31	0	0
<i>Mallomonas</i> sp.	329	185	20	51	31	0	0
Bacillariophyceae	804	491	265	153	185	74	298
<i>Cyclotella</i> sp.	180	359	173	100	160	55	120
<i>Eunotia</i> sp.	125	0	37	0	25	18	47
<i>Navicula</i> sp.	375	24	18	26	0	0	53
<i>Nupela</i> sp.	20	0	0	0	0	0	0
<i>Pinnularia</i> sp.	41	47	37	0	0	0	53
<i>Rhoicosphenia</i> sp.	61	0	0	0	0	0	26
<i>Synedra</i> sp.	0	62	0	0	0	0	0
<i>Urosolenia</i> sp.	0	0	0	26	0	0	0

Tabela 24. Densidade média (ind mL⁻¹) das espécies fitoplanctônicas no tratamento Dose múltipla com girinos (DMG) durante todo o período experimental.

TAXA	Dias após a primeira contaminação						
	0h	0,125 (3h)	3	7	11	15	19
Cyanophyceae	4257	7837	4994	4387	1767	2744	2404
<i>Anabaena</i> sp.	34	0	0	0	0	0	0
<i>Aphanocapsa delicatissima</i>	3629	6411	3317	3111	1542	2479	1599
<i>Aphanocapsa elachista</i>	82	20	0	0	0	0	0
<i>Chroococcus</i> sp.	0	57	0	61	0	37	0
<i>Epigloeosphaera</i> sp.	0	880	583	0	0	0	111
<i>Lyngbya</i> sp.	0	175	302	399	0	160	184
<i>Merismopedia tenuissima</i>	234	57	29	95	111	31	164
<i>Microcystis aeruginosa</i>	19	28	67	90	0	0	31
<i>Oscillatoria</i> sp.	19	0	0	0	0	0	0
<i>Phormidium</i> sp.	20	28	0	0	0	0	0
<i>Pseudanabaena galeata</i>	116	72	160	81	22	0	0
<i>Pseudanabaena minima</i>	0	0	235	58	0	0	0
<i>Pseudanabaena mucicola</i>	0	108	302	491	71	37	315
<i>Rhabdoderma</i> sp.	102	0	0	0	0	0	0
<i>Synechococcus</i> sp.	0	0	0	0	22	0	0
Chlamydothryx	4152	1969	829	696	450	432	714
<i>Chlamydomonas</i> sp. 1	3861	1604	761	696	450	432	714
<i>Chlamydomonas</i> sp. 2	291	365	67	0	0	0	0
Chlorophyceae	3567	4124	895	301	459	0	209
<i>Ankistrodesmus falcatus</i>	40	57	0	0	0	0	0
<i>Botryococcus braunii</i>	0	20	15	0	22	0	0
<i>Chlamydocapsa</i> sp.	0	0	0	19	0	0	0
<i>Chlorella vulgaris</i>	1557	1830	677	137	293	0	178
<i>Coelastrum pulchrum</i> (= <i>C. cambricum</i>)	20	0	0	0	0	0	0
<i>Crucigenia tetrapedia</i>	219	285	0	39	71	0	0
<i>Desmodesmus armatus</i> (= <i>S. armatus</i>)	19	0	0	0	0	0	0
<i>Golenkinia radiata</i>	0	20	0	0	0	0	0
<i>Hariotina reticulata</i> (= <i>C. reticulatum</i>)	100	151	0	0	0	0	0
<i>Kirchneriella lunaris</i>	258	49	74	0	25	0	0
<i>Kirchneriella obesa</i>	20	41	0	0	0	0	0
<i>Micractinium pusillum</i>	19	20	0	0	0	0	0
<i>Monoraphidium arcuatum</i>	93	127	0	0	0	0	0
<i>Monoraphidium griffithii</i>	228	190	0	0	0	0	0
<i>Monoraphidium minutum</i>	136	313	0	0	0	0	0
<i>Oocystis marssonii</i>	125	172	0	19	0	0	0
<i>Pediastrum duplex</i>	20	0	0	0	0	0	0
<i>Scenedesmus communis</i> (= <i>S. quadricauda</i>)	53	28	0	0	0	0	0
<i>Scenedesmus ecornis</i>	587	719	29	58	25	0	31

<i>Sphaerocystis</i> sp.	39	82	0	0	0	0	0
<i>Tetraedron trigonum</i>	0	20	0	0	25	0	0
<i>Treubaria</i> sp.	34	0	0	0	0	0	0
<i>Willea rectangularis</i> (= <i>C. rectangularis</i>)	0	0	101	28	0	0	0
Zygnemaphyceae	20	50	0	0	0	0	0
<i>Closterium</i> sp.	20	22	0	0	0	0	0
<i>Cosmarium</i> sp.	0	28	0	0	0	0	0
Euglenophyceae	149	223	289	224	114	41	178
<i>Euglena</i> sp.	108	0	115	128	0	0	0
<i>Trachelomonas</i> sp. 1	0	41	44	57	22	0	0
<i>Trachelomonas</i> sp. 2	41	154	63	39	92	41	0
<i>Trachelomonas superba</i>	0	0	0	0	0	0	147
<i>Trachelomonas volvocinopsis</i>	0	28	67	0	0	0	31
Cryptophyceae	1162	410	323	390	114	160	154
<i>Cryptomonas brasiliensis</i>	805	200	174	359	114	160	123
<i>Cryptomonas erosa</i>	20	0	0	0	0	0	0
<i>Cryptomonas tetrapyrenoidosa</i>	234	190	134	0	0	0	31
<i>Rhodomonas lacustris</i>	102	20	15	31	0	0	0
Chrysophyceae	329	507	0	0	0	72	0
<i>Mallomonas</i> sp.	329	507	0	0	0	72	0
Bacillariophyceae	804	428	107	120	0	109	41
<i>Cyclotella</i> sp.	180	365	34	61	0	68	0
<i>Eunotia</i> sp.	125	22	0	0	0	41	0
<i>Navicula</i> sp.	375	22	59	58	0	0	0
<i>Nupela</i> sp.	20	0	0	0	0	0	0
<i>Pinnularia</i> sp.	41	20	0	0	0	0	41
<i>Rhoicosphenia</i> sp.	61	0	15	0	0	0	0

Tabela 25. Densidade média (ind mL⁻¹) das espécies fitoplanctônicas no tratamento Dose única (DU) durante todo o período experimental.

TAXA	Dias após a primeira contaminação						
	0h	0,125 (3h)	3	7	11	15	19
Cyanophyceae	4257	8795	10811	14432	13599	9792	4078
<i>Anabaena</i> sp.	34	53	0	0	0	0	0
<i>Aphanocapsa delicatissima</i>	3629	8086	6579	10710	10729	8922	3062
<i>Aphanocapsa elachista</i>	82	26	0	0	0	0	0
<i>Chroococcus</i> sp.	0	0	17	0	53	141	0
<i>Epigloeosphaera</i> sp.	0	49	0	877	579	120	0
<i>Lyngbya</i> sp.	0	198	50	216	406	191	642
<i>Merismopedia tenuissima</i>	234	31	0	0	53	28	0
<i>Microcystis aeruginosa</i>	19	86	134	53	0	0	22
<i>Oscillatoria</i> sp.	19	25	0	0	0	0	0
<i>Phormidium</i> sp.	20	0	0	0	0	0	0
<i>Pseudanabaena galeata</i>	116	26	0	300	53	0	0
<i>Pseudanabaena minima</i>	0	0	209	73	0	0	55
<i>Pseudanabaena mucicola</i>	0	190	3822	2203	1701	373	297
<i>Rhabdoderma</i> sp.	102	0	0	0	0	0	0
<i>Spirulina</i> sp.	0	25	0	0	0	0	0
<i>Synechococcus</i> sp.	0	0	0	0	26	17	0
Chlamydomonadophyceae	4152	2562	528	449	448	1111	656
<i>Chlamydomonas</i> sp. 1	3861	1807	426	396	411	1111	619
<i>Chlamydomonas</i> sp. 2	291	755	102	53	37	0	37
Chlorophyceae	3567	4816	2557	2858	1838	1349	875
<i>Acanthosphaera</i> sp.	0	0	67	53	0	0	0
<i>Ankistrodesmus falcatus</i>	40	26	0	105	0	0	0
<i>Ankistrodesmus spiralis</i>	0	0	0	0	26	0	0
<i>Botryococcus braunii</i>	0	26	0	0	0	45	0
<i>Chlorella vulgaris</i>	1557	2032	1532	1191	979	785	457
<i>Coelastrum microporum</i>	0	0	0	0	26	0	0
<i>Coelastrum pulchrum</i> (= <i>C. cambricum</i>)	20	0	0	0	0	0	0
<i>Crucigenia tetrapedia</i>	219	214	235	345	105	79	0
<i>Desmodesmus armatus</i> (= <i>S. armatus</i>)	19	0	0	0	0	0	0
<i>Desmodesmus opoliensis</i> (= <i>S. opoliensis</i>)	0	51	0	0	0	67	0
<i>Elakatothrix</i> sp.	0	0	0	0	0	0	22
<i>Eutetramorus</i> sp.	0	0	34	0	0	0	0
<i>Golenkinia radiata</i>	0	0	162	0	79	46	0
<i>Hariotina reticulata</i> (= <i>C. reticulatum</i>)	100	331	28	0	53	17	37
<i>Kirchneriella lunaris</i>	258	283	67	82	158	0	37
<i>Kirchneriella obesa</i>	20	0	0	0	0	17	0
<i>Micractinium pusillum</i>	19	0	0	0	0	0	0
<i>Monoraphidium arcuatum</i>	93	31	0	37	63	0	18

<i>Monoraphidium contortum</i>	0	162	151	73	147	45	65
<i>Monoraphidium griffithii</i>	228	369	50	73	126	34	18
<i>Monoraphidium irregulare</i>	0	0	0	105	0	0	0
<i>Monoraphidium minutum</i>	136	325	113	41	0	0	0
<i>Mucidosphaerium pulchellum</i> (= <i>D. pulchellum</i>)	0	26	0	0	0	0	0
<i>Oocystis marssonii</i>	125	176	17	500	0	142	221
<i>Pediastrum duplex</i>	20	0	0	0	0	0	0
<i>Scenedesmus communis</i> (= <i>S. quadricauda</i>)	53	0	0	0	0	0	0
<i>Scenedesmus ecornis</i>	587	573	101	179	37	57	0
<i>Selenastrum gracile</i>	0	0	0	0	37	0	0
<i>Sphaerocystis</i> sp.	39	0	0	0	0	0	0
<i>Tetraedron minimum</i>	0	31	0	0	0	17	0
<i>Tetraedron trigonum</i>	0	0	0	53	0	0	0
<i>Treubaria</i> sp.	34	61	0	0	0	0	0
<i>Willea rectangularis</i> (= <i>C. rectangularis</i>)	0	98	0	20	0	0	0
Zygnemaphyceae	20	31	73	53	0	46	58
<i>Closterium</i> sp.	20	31	57	53	0	46	39
<i>Staurostrum gracile</i>	0	0	17	0	0	0	18
Euglenophyceae	149	206	164	511	363	617	410
<i>Euglena</i> sp.	108	31	28	90	337	452	171
<i>Lepocinclis globulus</i> (= <i>L. ovum</i>)	0	0	0	0	0	0	18
<i>Monomorphina pyrum</i> (= <i>P. pyrum</i>)	0	0	57	0	0	0	18
<i>Trachelomonas</i> sp. 1	0	53	79	263	0	0	0
<i>Trachelomonas</i> sp. 2	41	123	0	158	26	131	130
<i>Trachelomonas volvocinopsis</i>	0	0	0	0	0	34	74
Cryptophyceae	1162	366	321	155	0	17	0
<i>Cryptomonas brasiliensis</i>	805	166	28	82	0	17	0
<i>Cryptomonas erosa</i>	20	0	0	53	0	0	0
<i>Cryptomonas tetrapyrenoidosa</i>	234	200	259	20	0	0	0
<i>Rhodomonas lacustris</i>	102	0	34	0	0	0	0
Chrysophyceae	329	0	0	0	0	0	18
<i>Mallomonas</i> sp.	329	0	0	0	0	0	18
Bacillariophyceae	804	167	218	73	90	73	74
<i>Cyclotella</i> sp.	180	114	201	53	90	17	74
<i>Eunotia</i> sp.	125	0	0	0	0	0	0
<i>Navicula</i> sp.	375	53	0	0	0	57	0
<i>Nupela</i> sp.	20	0	17	20	0	0	0
<i>Pinnularia</i> sp.	41	0	0	0	0	0	0
<i>Rhoicosphenia</i> sp.	61	0	0	0	0	0	0

Tabela 26. Densidade média (ind mL⁻¹) das espécies fitoplanctônicas no tratamento Dose única com girinos (DUG) durante todo o período experimental.

TAXA	Dias após a primeira contaminação						
	0h	0,125 (3h)	3	7	11	15	19
Cyanophyceae	4257	9168	86496	11597	10310	8175	16645
<i>Anabaena</i> sp.	34	23	0	0	0	0	0
<i>Aphanocapsa delicatissima</i>	3629	8460	46485	8464	6004	7295	11301
<i>Aphanocapsa elachista</i>	82	0	0	142	0	0	0
<i>Chroococcus</i> sp.	0	0	0	0	175	0	409
<i>Epigloeosphaera</i> sp.	0	184	921	0	51	0	123
<i>Lyngbya</i> sp.	0	101	132	228	665	507	1720
<i>Merismopedia tenuissima</i>	234	0	132	22	0	160	430
<i>Microcystis aeruginosa</i>	19	0	263	461	40	84	717
<i>Nodularia</i> sp.	0	0	0	0	0	0	61
<i>Oscillatoria</i> sp.	19	58	0	0	0	0	61
<i>Phormidium</i> sp.	20	0	0	0	0	0	0
<i>Pseudanabaena galeata</i>	116	0	2738	493	44	0	123
<i>Pseudanabaena minima</i>	0	0	0	71	2939	0	123
<i>Pseudanabaena mucicola</i>	0	308	35825	1716	307	46	1474
<i>Rhabdoderma</i> sp.	102	34	0	0	84	84	0
<i>Synechococcus</i> sp.	0	0	0	0	0	0	102
Chlamydomonadaceae	4152	2048	2290	15863	6787	2419	2272
<i>Chlamydomonas</i> sp. 1	3861	1604	1448	6249	5995	2091	2170
<i>Chlamydomonas</i> sp. 2	291	445	842	9615	792	328	102
Chlorophyceae	3567	4421	6370	4580	6258	3476	6880
<i>Ankistrodesmus falcatus</i>	40	23	0	0	0	0	0
<i>Ankistrodesmus spiralis</i>	0	67	0	0	0	0	0
<i>Botryococcus braunii</i>	0	34	0	0	0	0	0
<i>Chlorella vulgaris</i>	1557	1328	5343	2517	4124	1547	3624
<i>Coelastrum pulchrum</i> (= <i>C. cambricum</i>)	20	0	0	0	0	0	0
<i>Coenochloris pyrenoidosa</i>	0	0	0	71	0	0	0
<i>Crucigenia tetrapedia</i>	219	193	0	655	468	244	287
<i>Desmodesmus armatus</i> (= <i>S. armatus</i>)	19	23	0	0	0	0	123
<i>Desmodesmus opoliensis</i> (= <i>S. opoliensis</i>)	0	92	0	0	102	0	61
<i>Golenkinia radiata</i>	0	67	0	399	88	0	0
<i>Gonium</i> sp.	0	0	0	0	0	92	0
<i>Hariotina reticulata</i> (= <i>C. reticulatum</i>)	100	618	448	0	0	0	0
<i>Kirchneriella lunaris</i>	258	272	0	22	336	77	184
<i>Kirchneriella obesa</i>	20	0	0	0	0	0	307
<i>Micractinium pusillum</i>	19	0	0	375	0	0	0
<i>Monoraphidium arcuatum</i>	93	207	0	163	0	84	184
<i>Monoraphidium contortum</i>	0	25	0	213	194	430	491
<i>Monoraphidium griffithii</i>	228	170	184	0	0	0	184
<i>Monoraphidium minutum</i>	136	132	0	22	351	369	0

<i>Mucidosphaerium pulchellum</i> (= <i>D. pulchellum</i>)	0	46	132	0	0	0	0
<i>Oocystis marssonii</i>	125	400	0	0	0	260	123
<i>Pediastrum duplex</i>	20	23	0	0	0	0	123
<i>Scenedesmus communis</i> (= <i>S. quadricauda</i>)	53	46	0	0	40	0	0
<i>Scenedesmus ecornis</i>	587	474	132	71	318	290	573
<i>Scenedesmus obliquus</i> (= <i>S. acutus</i>)	0	0	0	71	0	0	123
<i>Selenastrum gracile</i>	0	48	0	0	44	0	0
<i>Sphaerocystis</i> sp.	39	34	132	0	154	0	369
<i>Stauridium tetras</i> (= <i>P. tetras</i>)	0	0	0	0	40	84	0
<i>Tetraedron minimum</i>	0	101	0	0	0	0	0
<i>Treubaria</i> sp.	34	0	0	0	0	0	0
<i>Willea rectangularis</i> (= <i>C. rectangularis</i>)	0	0	0	0	0	0	123
Zygnemaphyceae	20	57	0	163	143	0	102
<i>Closterium</i> sp.	20	0	0	163	91	0	102
<i>Staurastrum</i> sp.	0	0	0	0	51	0	0
<i>Staurastrum gracile</i>	0	23	0	0	0	0	0
<i>Staurodesmus</i> sp.	0	34	0	0	0	0	0
Euglenophyceae	149	312	263	4950	5913	4694	6694
<i>Euglena</i> sp.	108	23	0	1972	2548	582	798
<i>Lepocinclis globulus</i> (= <i>L. ovum</i>)	0	0	0	116	102	0	61
<i>Monomorphina pyrum</i> (= <i>P. pyrum</i>)	0	0	0	0	51	0	61
<i>Phacus acuminatus</i>	0	0	0	0	51	0	430
<i>Trachelomonas</i> sp. 1	0	23	0	2165	1984	2440	798
<i>Trachelomonas</i> sp. 2	41	0	132	279	628	939	4422
<i>Trachelomonas volvocinopsis</i>	0	266	132	418	547	733	123
Cryptophyceae	1162	850	1132	7397	7692	9250	307
<i>Cryptomonas brasiliensis</i>	805	383	632	6361	5639	8018	102
<i>Cryptomonas erosa</i>	20	34	132	142	0	0	0
<i>Cryptomonas tetrapyrenoidosa</i>	234	434	369	602	1264	918	205
<i>Rhodomonas lacustris</i>	102	0	0	292	790	314	0
Chrysophyceae	329	107	0	0	0	230	0
<i>Mallomonas</i> sp.	329	107	0	0	0	230	0
Bacillariophyceae	804	318	369	71	44	176	676
<i>Aulacoseira granulata</i>	0	0	0	0	0	46	0
<i>Cyclotella</i> sp.	180	216	369	71	44	130	369
<i>Eunotia</i> sp.	125	0	0	0	0	0	0
<i>Fragilaria</i> sp.	0	0	0	0	0	0	123
<i>Navicula</i> sp.	375	57	0	0	0	0	0
<i>Nupela</i> sp.	20	0	0	0	0	0	0
<i>Pinnularia</i> sp.	41	23	0	0	0	0	123
<i>Rhoicosphenia</i> sp.	61	23	0	0	0	0	0
<i>Synedra</i> sp.	0	0	0	0	0	0	61

Apêndice C - Comunidade zooplanctônica

Tabela 27. Densidade (ind L⁻¹), riqueza, diversidade (bits ind⁻¹), dominância e equitabilidade da comunidade zooplanctônica (média ± desvio padrão, n=3) nos diferentes tratamentos durante todo o período experimental.

Dias após a primeira contaminação													
Densidade (ind L ⁻¹)													
	0h	0,125 (3h)		3		7		11		15		19	
C		185	± 58	1223	± 352	705	± 233	218	± 169	77	± 82	26	± 8
CG		683	± 314	40	± 28	35	± 5	31	± 25	24	± 3	19	± 8
DM	470 ± 444	842	± 201	134	± 106	194	± 145	82	± 34	31	± 8	14	± 14
DMG		544	± 126	20	± 4	16	± 9	8	± 5	4	± 3	3	± 2
DU		271	± 125	242	± 289	112	± 60	54	± 7	89	± 92	25	± 35
DUG		436	± 132	77	± 16	111	± 81	332	± 189	474	± 392	1754	± 671
Riqueza													
	0h	0,125 (3h)		3		7		11		15		19	
C		16	± 4	17	± 2	11	± 2	5	± 0	6	± 2	5	± 1
CG		21	± 4	8	± 3	6	± 1	4	± 2	4	± 1	4	± 1
DM	19 ± 5	14	± 3	9	± 3	10	± 2	10	± 3	4	± 0	4	± 2
DMG		12	± 2	5	± 2	4	± 1	1	± 1	1	± 1	1	± 1
DU		12	± 1	9	± 6	8	± 2	7	± 1	5	± 1	2	± 1
DUG		11	± 1	5	± 2	5	± 1	7	± 1	8	± 2	8	± 3
Diversidade de Shannon-Wiener (bits ind ⁻¹)													
	0h	0,125 (3h)		3		7		11		15		19	
C		3,1	± 0,2	1,9	± 0,9	0,7	± 0,0	1,0	± 0,2	1,4	± 0,3	1,7	± 0,4
CG		2,9	± 0,2	2,3	± 0,5	1,1	± 0,2	1,2	± 0,4	1,2	± 0,1	0,9	± 0,2
DM	3,0 ± 0,3	2,1	± 0,5	2,1	± 0,7	2,2	± 0,5	2,3	± 0,4	1,5	± 0,2	1,2	± 0,7
DMG		2,2	± 0,6	1,6	± 0,8	1,7	± 0,2	0,3	± 0,2	0,2	± 0,2	0,1	± 0,1
DU		2,6	± 0,3	1,7	± 0,8	2,0	± 0,7	2,1	± 0,3	1,6	± 0,7	0,3	± 0,3
DUG		2,5	± 0,1	1,4	± 0,4	1,4	± 0,2	1,3	± 0,4	1,7	± 0,1	1,6	± 0,8
Dominância													
	0h	0,125 (3h)		3		7		11		15		19	
C		0,15	± 0,02	0,48	± 0,27	0,81	± 0,03	0,65	± 0,04	0,49	± 0,16	0,39	± 0,17
CG		0,19	± 0,02	0,25	± 0,12	0,65	± 0,04	0,56	± 0,07	0,49	± 0,07	0,62	± 0,10
DM	0,18 ± 0,04	0,34	± 0,13	0,36	± 0,23	0,27	± 0,12	0,28	± 0,08	0,40	± 0,12	0,44	± 0,37
DMG		0,28	± 0,12	0,42	± 0,31	0,31	± 0,08	0,86	± 0,25	0,85	± 0,03	0,95	± 0,09
DU		0,20	± 0,05	0,44	± 0,26	0,38	± 0,23	0,30	± 0,10	0,41	± 0,27	0,85	± 0,14
DUG		0,21	± 0,03	0,48	± 0,07	0,47	± 0,08	0,51	± 0,16	0,45	± 0,02	0,47	± 0,29
Equitabilidade													
	0h	0,125 (3h)		3		7		11		15		19	
C		0,79	± 0,05	0,47	± 0,21	0,21	± 0,03	0,41	± 0,07	0,59	± 0,16	0,73	± 0,24
CG		0,66	± 0,06	0,80	± 0,15	0,45	± 0,06	0,65	± 0,08	0,61	± 0,11	0,50	± 0,10
DM	0,70 ± 0,03	0,55	± 0,12	0,68	± 0,23	0,70	± 0,18	0,70	± 0,10	0,73	± 0,12	0,60	± 0,30
DMG		0,61	± 0,11	0,67	± 0,11	0,86	± 0,14	0,83	± 0,00	0,33	± 0,04	0,35	± 0,00
DU		0,74	± 0,06	0,64	± 0,10	0,67	± 0,22	0,72	± 0,09	0,68	± 0,15	0,52	± 0,00
DUG		0,74	± 0,05	0,66	± 0,15	0,57	± 0,06	0,46	± 0,12	0,55	± 0,06	0,56	± 0,13

Tabela 28. Densidade média (ind L⁻¹) das espécies zooplancônicas no tratamento Controle (C) durante todo o período experimental.

TAXA	Dias após a primeira contaminação						
	0h	0,125 (3h)	3	7	11	15	19
ROTIFERA	267,3	116,4	188,8	8,5	3,0	48,9	1,5
<i>Ascomorpha ecaudis</i>	0,0	0,7	61,5	0,0	0,0	0,0	0,0
<i>Brachionus quadridentatus</i>	0,8	0,1	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
<i>Conochilus unicornis</i>	24,4	5,2	7,4	0,0	0,0	0,0	0,0
<i>Euchlanis dilatata</i>	3,7	9,6	46,7	5,6	3,0	47,4	0,0
<i>Filinia opoliensis</i>	85,2	11,9	8,1	0,0	0,0	0,0	0,0
<i>Hexarthra intermedia</i>	89,6	42,2	25,2	0,7	0,0	0,0	1,5
<i>Kellicottia bostoniensis</i>	3,7	1,5	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
<i>Keratella americana</i>	0,8	1,5	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
<i>Keratella tropica</i>	0,0	0,7	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
<i>Lecane bulla</i>	0,2	0,0	0,0	0,0	0,0	1,5	0,0
<i>Lecane cf. nana</i>	1,5	1,5	1,5	0,0	0,0	0,0	0,0
<i>Lepadella patella</i>	0,0	0,7	0,0	0,7	0,0	0,0	0,0
<i>Ploesoma truncatum</i>	8,9	0,7	0,7	0,0	0,0	0,0	0,0
<i>Polyarthra vulgaris</i>	23,0	2,2	18,5	0,7	0,0	0,0	0,0
<i>Synchaeta stylata</i>	23,7	3,7	2,9	0,0	0,0	0,0	0,0
<i>Trichocerca cylindrica</i>	1,7	34,1	16,3	0,7	0,0	0,0	0,0
COPEPODA	138,6	38,0	940,1	660,6	141,5	6,8	14,3
Calanoida	5,0	8,2	4,7	3,3	0,5	0,0	0,8
Náuplio Calanoida	3,0	8,2	4,4	2,2	0,0	0,0	0,0
<i>Argyrodiaptomus furcatus</i>	0,1	0,0	0,1	0,4	0,0	0,0	0,4
<i>Notodiaptomus deitersi</i>	1,9	0,0	0,2	0,6	0,5	0,0	0,3
Cyclopoida	133,7	29,8	935,3	657,3	140,9	6,8	13,5
Náuplio Cyclopoida	120,8	27,4	915,6	637,0	139,3	6,7	13,3
Copepodito Cyclopoida	8,0	1,0	16,9	14,0	0,3	0,1	0,1
<i>Metacyclops leptopus</i>	4,9	1,4	2,9	6,2	1,3	0,0	0,1
CLADOCERA	36,6	9,3	71,4	11,8	0,1	0,3	0,2
<i>Bosmina freyi</i>	0,0	0,3	0,0	3,0	0,0	0,0	0,0
<i>Bosmina hagmanni</i>	0,7	0,9	0,8	0,7	0,0	0,0	0,0
<i>Ceriodaphnia cornuta</i>	3,6	2,0	7,3	0,0	0,0	0,0	0,0
<i>Ceriodaphnia silvestrii</i>	30,6	3,8	57,4	7,0	0,0	0,0	0,0
<i>Daphnia gessneri</i>	1,4	2,2	5,6	1,0	0,0	0,0	0,0
<i>Diaphanosoma birgei</i>	0,3	0,0	0,3	0,0	0,0	0,0	0,0
<i>Ilyocryptus spinifer</i>	0,0	0,0	0,0	0,0	0,1	0,3	0,2
<i>Simocephalus serrulatus</i>	0,0	0,1	0,0	0,1	0,0	0,0	0,0
MEROPLÂNTON	4,4	0,5	3,1	17,4	62,4	5,2	6,8
<i>Chaoborus</i> sp.	0,3	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
Chironomidae	0,2	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0

Collembola	0,4	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
Diptera	0,1	0,0	0,1	0,1	0,1	0,2	0,2
Hydracarina	1,0	0,4	0,3	0,2	0,0	0,2	0,3
Nematoda	1,9	0,1	0,0	0,1	0,0	0,0	0,0
Ostracoda	0,0	0,0	2,7	0,7	0,4	0,1	0,0
Turbellaria	0,4	0,0	0,0	16,3	61,9	4,7	6,2
PROTOZOA	23,0	20,5	19,1	6,5	11,2	15,9	3,7
<i>Astramoeba</i> sp.	23,0	20,5	19,1	6,5	11,2	15,9	3,7

Tabela 29. Densidade média (ind L⁻¹) das espécies zooplancônicas no tratamento Controle com girinos (CG) durante todo o período experimental.

TAXA	Dias após a primeira contaminação						
	0h	0,125 (3h)	3	7	11	15	19
ROTIFERA	267,3	583,6	4,5	0,0	0,7	0,0	0,0
<i>Ascomorpha ecaudis</i>	0,0	43,7	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
<i>Brachionus quadridentatus</i>	0,8	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
<i>Conochilus unicornis</i>	24,4	4,4	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
<i>Euchlanis dilatata</i>	3,7	6,7	1,6	0,0	0,7	0,0	0,0
<i>Filinia opoliensis</i>	85,2	142,2	1,5	0,0	0,0	0,0	0,0
<i>Hexarthra intermedia</i>	89,6	92,6	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
<i>Kellicottia bostoniensis</i>	3,7	7,4	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
<i>Keratella americana</i>	0,8	0,7	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
<i>Keratella cochlearis</i>	0,0	2,2	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
<i>Lecane bulla</i>	0,2	0,7	0,7	0,0	0,0	0,0	0,0
<i>Lecane cf. nana</i>	1,5	0,7	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
<i>Ploesoma truncatum</i>	8,9	3,7	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
<i>Polyarthra vulgaris</i>	23,0	22,9	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
<i>Synchaeta stylata</i>	23,7	114,1	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
<i>Trichocerca cylindrica</i>	1,7	141,5	0,7	0,0	0,0	0,0	0,0
COPEPODA	138,6	70,7	21,1	29,7	23,0	14,9	14,2
Calanoida	5,0	2,6	1,6	0,2	0,1	0,1	0,1
Náuplio Calanoida	3,0	2,2	1,5	0,0	0,0	0,0	0,0
<i>Argyrodiaptomus furcatus</i>	0,1	0,2	0,0	0,0	0,0	0,1	0,0
<i>Notodiaptomus deitersi</i>	1,9	0,2	0,1	0,2	0,1	0,0	0,1
Cyclopoida	133,7	67,8	19,5	29,5	22,9	14,8	14,1
Náuplio Cyclopoida	120,8	66,7	18,5	28,1	22,2	14,8	14,1
Copepodito Cyclopoida	8,0	1,1	1,0	1,1	0,2	0,0	0,0
<i>Metacyclops leptopus</i>	4,9	0,0	0,0	0,2	0,4	0,0	0,0
Harpacticoida	0,0	0,3	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
Copepodito Harpacticoida	0,0	0,3	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
CLADOCERA	36,6	15,1	8,9	0,6	0,1	0,0	0,0
<i>Bosmina freyi</i>	0,0	0,1	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
<i>Bosmina hagmanni</i>	0,7	1,3	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
<i>Ceriodaphnia cornuta</i>	3,6	6,8	0,2	0,0	0,0	0,0	0,0
<i>Ceriodaphnia silvestrii</i>	30,6	6,0	8,3	0,2	0,0	0,0	0,0
<i>Daphnia gessneri</i>	1,4	0,9	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
<i>Diaphanosoma birgei</i>	0,3	0,0	0,1	0,0	0,0	0,0	0,0
<i>Simocephalus serrulatus</i>	0,0	0,0	0,2	0,4	0,1	0,0	0,0
MEROPLÂNCTON	4,4	2,5	1,1	1,8	3,8	1,0	0,4
<i>Chaoborus</i> sp.	0,3	0,0	0,0	0,1	0,0	0,0	0,0
Chironomidae	0,2	0,0	0,4	0,0	0,0	0,0	0,0

Collembola	0,4	0,0	0,0	0,0	0,0	0,2	0,1
Diptera	0,1	0,3	0,0	0,1	0,1	0,1	0,1
Hydracarina	1,0	1,2	0,0	0,2	0,0	0,1	0,1
Nematoda	1,9	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
Turbellaria	0,4	0,9	0,7	1,4	3,7	0,6	0,1
PROTOZOA	23,0	10,8	4,3	2,8	3,5	8,1	4,3
<i>Astramoeba</i> sp.	23,0	10,8	4,3	2,8	3,5	8,1	4,3

Tabela 30. Densidade média (ind L⁻¹) das espécies zooplancônicas no tratamento Dose múltipla (DM) durante todo o período experimental.

TAXA	Dias após a primeira contaminação						
	0h	0,125 (3h)	3	7	11	15	19
ROTIFERA	267,3	828,6	116,3	185,9	46,6	15,5	5,9
<i>Ascomorpha ecaudis</i>	0,0	0,7	0,0	23,7	0,7	0,0	0,0
<i>Brachionus quadridentatus</i>	0,8	0,7	3,0	0,0	0,0	0,0	0,0
<i>Conochilus unicornis</i>	24,4	3,0	5,2	2,9	0,7	0,0	0,0
<i>Euchlanis dilatata</i>	3,7	13,3	83,7	85,9	3,0	0,0	0,0
<i>Filinia opoliensis</i>	85,2	34,8	2,2	1,5	0,0	0,0	0,0
<i>Hexarthra intermedia</i>	89,6	144,5	4,4	50,4	2,2	0,0	0,0
<i>Kellicottia bostoniensis</i>	3,7	3,7	0,7	0,0	3,7	0,0	0,0
<i>Keratella americana</i>	0,8	3,7	2,2	0,0	0,0	0,0	4,4
<i>Keratella cochlearis</i>	0,0	3,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
<i>Lecane bulla</i>	0,2	0,0	0,0	10,4	9,6	4,4	1,5
<i>Lecane cf. nana</i>	1,5	1,5	2,2	0,7	0,7	0,0	0,0
<i>Lepadella patella</i>	0,0	0,7	3,0	2,2	3,0	0,0	0,0
<i>Ploesoma truncatum</i>	8,9	0,0	0,0	0,0	1,5	1,5	0,0
<i>Polyarthra vulgaris</i>	23,0	70,2	5,9	6,7	21,5	9,6	0,0
<i>Synchaeta stylata</i>	23,7	384,4	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
<i>Trichocerca cylindrica</i>	1,7	164,4	3,7	1,5	0,0	0,0	0,0
COPEPODA	138,6	2,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
Calanoida	5,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
Náuplio Calanoida	3,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
<i>Argyrodiaptomus furcatus</i>	0,1	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
<i>Notodiaptomus deitersi</i>	1,9	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
Cyclopoida	133,7	1,7	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
Náuplio Cyclopoida	120,8	1,7	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
Copepodito Cyclopoida	8,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
<i>Metacyclops leptopus</i>	4,9	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
Harpacticoida	0,0	0,3	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
Copepodito Harpacticoida	0,0	0,3	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
CLADOCERA	36,6	0,3	0,0	0,0	0,0	0,0	0,1
<i>Bosmina freyi</i>	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,1
<i>Bosmina hagmanni</i>	0,7	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
<i>Ceriodaphnia cornuta</i>	3,6	0,1	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
<i>Ceriodaphnia silvestrii</i>	30,6	0,2	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
<i>Daphnia gessneri</i>	1,4	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
<i>Diaphanosoma birgei</i>	0,3	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
MEROPLÂNCTON	4,4	0,7	10,0	2,3	2,7	0,3	1,0
<i>Chaoborus</i> sp.	0,3	0,0	0,0	0,0	0,1	0,0	0,0
Chironomidae	0,2	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0

Collembola	0,4	0,3	0,3	0,0	0,1	0,1	0,1
Coleoptera	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,1
Diptera	0,1	0,2	0,6	0,6	0,5	0,2	0,4
Hydracarina	1,0	0,2	0,1	0,0	0,9	0,0	0,3
Nematoda	1,9	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
Ostracoda	0,0	0,0	0,3	0,7	0,0	0,0	0,0
Turbellaria	0,4	0,0	8,7	1,1	1,1	0,0	0,0
PROTOZOA	23,0	9,8	7,3	5,9	32,1	14,8	7,0
<i>Astramoeba</i> sp.	23,0	9,8	7,3	5,9	32,1	14,8	7,0

Tabela 31. Densidade média (ind L⁻¹) das espécies zooplancônicas no tratamento Dose múltipla com girinos (DMG) durante todo o período experimental.

	Dias após a primeira contaminação						
	0h	0,125 (3h)	3	7	11	15	19
TAXA							
ROTIFERA	267,3	539,2	13,4	12,5	0,0	0,0	0,0
<i>Ascomorpha ecaudis</i>	0,0	0,7	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
<i>Brachionus quadridentatus</i>	0,8	0,7	7,4	0,0	0,0	0,0	0,0
<i>Conochilus unicornis</i>	24,4	40,0	0,0	0,7	0,0	0,0	0,0
<i>Euchlanis dilatata</i>	3,7	0,0	4,5	7,4	0,0	0,0	0,0
<i>Filinia opoliensis</i>	85,2	63,0	0,7	0,0	0,0	0,0	0,0
<i>Hexarthra intermedia</i>	89,6	114,8	0,0	1,5	0,0	0,0	0,0
<i>Kellicottia bostoniensis</i>	3,7	3,7	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
<i>Keratella americana</i>	0,8	1,5	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
<i>Keratella cochlearis</i>	0,0	0,7	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
<i>Lecane bulla</i>	0,2	0,0	0,0	1,5	0,0	0,0	0,0
<i>Lecane cf. nana</i>	1,5	0,7	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
<i>Ploesoma truncatum</i>	8,9	2,2	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
<i>Polyarthra vulgaris</i>	23,0	23,0	0,7	0,7	0,0	0,0	0,0
<i>Synchaeta stylata</i>	23,7	103,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
<i>Trichocerca cylindrica</i>	1,7	185,2	0,0	0,7	0,0	0,0	0,0
COPEPODA	138,6	0,0	1,5	0,0	0,0	0,0	0,0
Calanoida	5,0	0,0	1,5	0,0	0,0	0,0	0,0
Náuplio Calanoida	3,0	0,0	1,5	0,0	0,0	0,0	0,0
<i>Argyrodiaptomus furcatus</i>	0,1	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
<i>Notodiatomus deitersi</i>	1,9	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
Cyclopoida	133,7	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
Náuplio Cyclopoida	120,8	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
Copepodito Cyclopoida	8,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
<i>Metacyclops leptopus</i>	4,9	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
CLADOCERA	36,6	0,0	0,1	0,0	0,0	0,0	0,0
<i>Bosmina hagmanni</i>	0,7	0,0	0,1	0,0	0,0	0,0	0,0
<i>Ceriodaphnia cornuta</i>	3,6	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
<i>Ceriodaphnia silvestrii</i>	30,6	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
<i>Daphnia gessneri</i>	1,4	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
<i>Diaphanosoma birgei</i>	0,3	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
MEROPLÂNCTON	4,4	0,7	2,0	0,1	1,0	0,2	0,1
<i>Chaoborus</i> sp.	0,3	0,0	0,1	0,0	1,0	0,0	0,0
Chironomidae	0,2	0,1	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
Collembola	0,4	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
Diptera	0,1	0,3	0,0	0,0	0,0	0,1	0,0
Hydracarina	1,0	0,1	0,2	0,0	0,0	0,1	0,1
Nematoda	1,9	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0

Turbellaria	0,4	0,2	1,7	0,1	0,0	0,0	0,0
PROTOZOA	23,0	4,0	3,4	2,9	7,0	3,4	3,1
<i>Astramoeba</i> sp.	23,0	4,0	3,4	2,9	7,0	3,4	3,1

Tabela 32. Densidade média (ind L⁻¹) das espécies zooplanctônicas no tratamento Dose única (DU) durante todo o período experimental.

TAXA	Dias após a primeira contaminação						
	0h	0,125 (3h)	3	7	11	15	19
ROTIFERA	267,3	261,7	62,9	91,0	34,0	77,8	19,3
<i>Ascomorpha ecaudis</i>	0,0	0,7	6,7	0,7	0,0	0,0	0,0
<i>Brachionus quadridentatus</i>	0,8	0,0	5,2	0,0	0,0	0,0	0,0
<i>Conochilus unicornis</i>	24,4	12,6	19,3	0,0	0,0	0,0	0,0
<i>Euchlanis dilatata</i>	3,7	8,2	0,7	57,8	0,0	0,0	0,0
<i>Filinia opoliensis</i>	85,2	29,6	9,6	2,9	0,0	0,0	0,0
<i>Hexarthra intermedia</i>	89,6	43,7	3,7	2,2	0,0	0,0	0,0
<i>Kellicottia bostoniensis</i>	3,7	6,9	8,1	10,4	5,2	0,0	0,0
<i>Keratella americana</i>	0,8	1,5	1,5	0,7	0,7	0,0	0,0
<i>Keratella lenzi</i>	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	1,5	0,0
<i>Keratella tropica</i>	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,7	0,0
<i>Lecane bulla</i>	0,2	0,0	0,0	2,9	5,9	6,7	19,3
<i>Lecane luna</i>	0,0	0,0	0,7	0,0	0,0	0,0	0,0
<i>Lecane cf. nana</i>	1,5	0,7	0,0	1,5	1,5	0,0	0,0
<i>Lecane pyriformis</i>	0,0	0,0	2,2	0,0	3,0	0,0	0,0
<i>Lepadella patella</i>	0,0	0,0	0,7	3,0	2,2	53,3	0,0
<i>Ploesoma truncatum</i>	8,9	1,5	0,0	0,0	0,7	0,0	0,0
<i>Polyarthra vulgaris</i>	23,0	11,9	2,9	8,9	14,8	15,6	0,0
<i>Synchaeta stylata</i>	23,7	70,3	0,7	0,0	0,0	0,0	0,0
<i>Trichocerca cylindrica</i>	1,7	74,1	0,7	0,0	0,0	0,0	0,0
COPEPODA	138,6	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
Calanoida	5,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
Náuplio Calanoida	3,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
<i>Argyrodiaptomus furcatus</i>	0,1	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
<i>Notodiaptomus deitersi</i>	1,9	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
Cyclopoida	133,7	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
Náuplio Cyclopoida	120,8	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
Copepodito Cyclopoida	8,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
<i>Metacyclops leptopus</i>	4,9	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
CLADOCERA	36,6	0,1	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
<i>Bosmina hagmanni</i>	0,7	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
<i>Ceriodaphnia cornuta</i>	3,6	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
<i>Ceriodaphnia silvestrii</i>	30,6	0,1	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
<i>Daphnia gessneri</i>	1,4	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
<i>Diaphanosoma birgei</i>	0,3	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
MEROPLÂNCTON	4,4	1,0	160,4	14,7	1,3	0,5	0,2
<i>Chaoborus</i> sp.	0,3	0,0	0,2	0,0	0,7	0,0	0,0
Chironomidae	0,2	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0

Collembola	0,4	0,0	0,1	0,1	0,3	0,1	0,0
Diptera	0,1	0,3	0,0	0,0	0,1	0,1	0,0
Hydracarina	1,0	0,7	0,2	0,1	0,0	0,3	0,2
Nematoda	1,9	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
Turbellaria	0,4	0,0	159,9	14,5	0,2	0,0	0,0
PROTOZOA	23,0	8,3	18,1	6,6	18,7	10,3	5,6
<i>Astramoeba</i> sp.	23,0	8,3	18,1	6,6	18,7	10,3	5,6

Tabela 33. Densidade média (ind L⁻¹) das espécies zooplancônicas no tratamento Dose única com girinos (DUG) durante todo o período experimental.

TAXA	Dias após a primeira contaminação						
	0h	0,125 (3h)	3	7	11	15	19
ROTIFERA	267,3	431,4	5,9	49,8	236,3	452,5	1737,0
<i>Ascomorpha ecaudis</i>	0,0	0,7	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
<i>Brachionus quadridentatus</i>	0,8	0,0	2,2	0,1	0,0	0,0	1,5
<i>Conochilus unicornis</i>	24,4	28,9	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
<i>Euchlanis dilatata</i>	3,7	2,4	0,7	0,1	0,0	0,0	0,0
<i>Filinia opoliensis</i>	85,2	56,3	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
<i>Hexarthra intermedia</i>	89,6	77,8	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
<i>Kellicottia bostoniensis</i>	3,7	7,4	2,2	0,0	0,0	0,0	0,0
<i>Keratella americana</i>	0,8	1,5	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
<i>Keratella cochlearis</i>	0,0	0,7	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
<i>Keratella lenzi</i>	0,0	0,0	0,0	0,0	2,2	65,9	172,6
<i>Keratella tropica</i>	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	22,2	7,4
<i>Lecane bulla</i>	0,2	0,1	0,0	0,0	56,3	3,0	83,0
<i>Lecane cf. nana</i>	1,5	0,0	0,0	45,2	151,8	7,4	0,7
<i>Lecane pyriformis</i>	0,0	0,0	0,0	0,0	1,5	3,0	0,0
<i>Lepadella patella</i>	0,0	0,0	0,0	3,7	4,4	3,0	0,7
<i>Ploesoma truncatum</i>	8,9	0,0	0,0	0,0	2,2	303,7	1405,9
<i>Polyarthra vulgaris</i>	23,0	27,4	0,7	0,7	17,8	44,4	65,2
<i>Synchaeta stylata</i>	23,7	117,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
<i>Trichocerca cylindrica</i>	1,7	111,1	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
COPEPODA	138,6	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
Calanoida	5,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
Náuplio Calanoida	3,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
<i>Argyrodiaptomus furcatus</i>	0,1	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
<i>Notodiaptomus deitersi</i>	1,9	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
Cyclopoida	133,7	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
Náuplio Cyclopoida	120,8	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
Copepodito Cyclopoida	8,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
<i>Metacyclops leptopus</i>	4,9	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
CLADOCERA	36,6	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
<i>Bosmina hagmanni</i>	0,7	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
<i>Ceriodaphnia cornuta</i>	3,6	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
<i>Ceriodaphnia silvestrii</i>	30,6	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
<i>Daphnia gessneri</i>	1,4	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
<i>Diaphanosoma birgei</i>	0,3	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
MEROPLÂNCTON	4,4	0,3	46,5	23,7	1,9	0,4	0,3
<i>Chaoborus</i> sp.	0,3	0,0	7,7	22,0	0,7	0,0	0,0
Chironomidae	0,2	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0

Collembola	0,4	0,0	0,1	1,0	0,3	0,1	0,0
Diptera	0,1	0,0	0,0	0,2	0,4	0,0	0,0
Hydracarina	1,0	0,3	0,3	0,5	0,4	0,2	0,2
Nematoda	1,9	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
Turbellaria	0,4	0,0	38,4	0,0	0,0	0,1	0,1
PROTOZOA	23,0	4,5	24,5	37,9	94,1	20,7	16,7
<i>Astramoeba</i> sp.	23,0	4,5	24,5	37,9	94,1	20,7	16,7