

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

BRUNA NAYARA CARDOSO SILVA

**Macroinvertebrados aquáticos como bioindicadores do impacto
do cultivo de cana-de-açúcar no Estado de São Paulo: estrutura
da comunidade e toxicidade dos sedimentos**

VERSÃO CORRIGIDA

São Carlos - SP

2021

BRUNA NAYARA CARDOSO SILVA

Macroinvertebrados aquáticos como bioindicadores do impacto do cultivo de cana-de-açúcar no Estado de São Paulo: estrutura da comunidade e toxicidade dos sedimentos

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

Orientador: Prof. Dr. Juliano José Corbi

São Carlos - SP

2021

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

C268m Cardoso Silva, Bruna Nayara
Macroinvertebrados aquáticos como bioindicadores do impacto do cultivo de cana-de-açúcar no Estado de São Paulo: estrutura da comunidade e toxicidade dos sedimentos / Bruna Nayara Cardoso Silva; orientador Juliano José Corbi. São Carlos, 2021.

Tese (Doutorado) - Programa de Pós-Graduação em Engenharia Hidráulica e Saneamento e Área de Concentração em Hidráulica e Saneamento -- Escola de Engenharia de São Carlos da Universidade de São Paulo, 2021.

1. Atividade agrícola. 2. Biomonitoramento. 3. Chironomus sancticaroli. 4. Métricas comunitárias. 5. Teste de gerações. 6. Uso e ocupação do solo. I. Título.

FOLHA DE JULGAMENTO

Candidata: Engenheira **BRUNA NAYARA CARDOSO SILVA**.

Título da tese: "Macroinvertebrados aquáticos como bioindicadores do impacto do cultivo de cana-de-açúcar no Estado de São Paulo: estrutura da comunidade e toxicidade dos sedimentos".

Data da defesa: 09/12/2021.

Comissão Julgadora

Resultado

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

APROVADO

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

APROVADO

Profa. Dra. **Viviane Moschini Carlos**
(Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho"/UNESP-Sorocaba)

APROVADO

Prof. Dr. **Wilton Rogerio Lustrí**
(Universidade de Araraquara/UNIARA)

APROVADO

Prof. Dr. **Giuliano Buzá Jacobucci**
(Universidade Federal de Uberlândia/UFU)

APROVADO

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

Prof. Dr. **Luiz Antonio Daniel**

Presidente da Comissão de Pós-Graduação:

Prof. Titular **Murilo Araujo Romero**

AGRADEÇO

A Deus pela vida que tenho e por todas as oportunidades que recebo. Obrigada por estar sempre me acompanhando e protegendo em todos os momentos. Obrigada pela proteção dada a mim e a minha equipe nas coletas de campo!!

Ao meu esposo, uma pessoa incrível que está sempre presente na minha vida me ajudando. Não tenho palavras para descrever o quanto você foi importante nessa jornada, com seus conselhos, seu apoio emocional, sua paciência, suas palavras... Obrigada por me acompanhar nos finais de semana, final de ano e feriados no laboratório quando tinha que cuidar das crianças (*Chironomus*) e montar testes de toxicidade. Por me dar força durante o doutorado, não me deixar desistir e mostrar que sou capaz de coisas além do que eu imaginava.

Ao meu orientador, professor Juliano, por essa longa jornada de orientação de mestrado e doutorado. Por longas semanas de discussão dos resultados por videoconferência em meio a pandemia de COVID-19! Pela companhia e aventura nas coletas de campo, coletando com chuva, comendo pãozinho com mussarela e tomando guaraná na praça, comprando rapadura, coletando orquídea silvestre...

A minha família e aos meus amigos que também tiveram comigo nessa caminhada.

Ao Luisinho, com as viagens e coletas de campo. Por se aventurar e arriscar coletando sedimento comigo.

Ao Guilherme e a Vanessa, por também me acompanharem nas coletas de campo e auxiliar em algumas identificações de organismos.

Aos amigos do LEAA (Laboratório de Ecologia de Ambientes Aquáticos): Aline, Carina, Mayara, Bárbara, Lidia, Mara, Maria Helena, Fernanda, Gleyson, Zé, Daniel, Tallyson... pelos aprendizados compartilhados, pela amizade, carinho, momentos de risadas e alegria, pelos cafés com chipas!!! Pelo auxílio na estatística, nas coletas e identificação de macroinvertebrados, por compartilhar espaço na prateleira de teste e desovas de *Chironomus*, dividir uso da mufla e estufa, e ainda me ajudando nos experimentos finais... É incrível a fraternidade que esse grupo tem!

Ao Rogério e a Silmara, por disponibilizarem tempo, espaço e material para as tentativas de extração e amplificação de DNA com larvas de *Chironomus*.

Ao Fernando, do Laboratório de Química, Campus II, pelo espaço e material disponibilizado para fazer as extrações de metais.

Ao Júlio e Aline, do Laboratório de Saneamento, pelas análises de metais.

A Sá, a Priscila, a Rose e a Carol Sabatini pelos esclarecimentos e ajudas que precisei.

À CAPES e ao CNPq pelo apoio financeiro por meio das bolsas concedidas.

O meu muito obrigado a todos que de alguma forma contribuíram e me auxiliaram nessa jornada!

“O essencial é invisível aos olhos.”

O Pequeno Príncipe

RESUMO

CARDOSO-SILVA, B. N. 2021. Macroinvertebrados aquáticos como bioindicadores do impacto do cultivo de cana-de-açúcar no Estado de São Paulo: estrutura da comunidade e toxicidade dos sedimentos. Tese (Doutorado). Escola de Engenharia de São Carlos, Universidade de São Paulo, São Carlos, 2021.

Diversos estudos têm mostrado que os insumos utilizados na agricultura intensiva, como pesticidas e fertilizantes, podem causar modificações na estrutura de comunidades de macroinvertebrados aquáticos e no ciclo de vida de diferentes espécies. Diante disso, o presente trabalho tem como objetivos avaliar impactos da atividade canavieira na estrutura, diversidade taxonômica e funcional da comunidade de macroinvertebrados aquáticos e a toxicidade dos sedimentos de córregos na espécie *Chironomus sancticaroli*. Para isso, foram realizadas três coletas de sedimento, em quatro córregos em área de cultivo de cana-de-açúcar e quatro em áreas de mata, localizados na região de São Carlos (SP). As amostras da comunidade de macroinvertebrados foram coletadas com uma rede em D, pelo método de varredura, triadas em laboratório e identificadas com estereoscópios. Foram realizados testes de toxicidade aguda, crônica e de gerações. A matéria orgânica e a concentração de metais foram quantificadas para todos os córregos e amostragens realizadas. Dada a elevada concentração de matéria orgânica nos sedimentos dos córregos em áreas ocupadas por cana-de-açúcar, foi realizado um teste crônico de longa duração, em que a matéria orgânica foi eliminada das amostras de sedimento dos córregos. As variáveis-resposta avaliadas foram mortalidade, comprimento das larvas, tamanho das asas, fecundidade potencial, emergência de adultos, machos e fêmeas. Os resultados obtidos evidenciaram que os cultivos de cana-de-açúcar resultaram em maiores concentrações de matéria orgânica e de metais no sedimento dos córregos inseridos nesta matriz agrícola. Estas alterações tiveram impactos negativos sobre a estrutura da comunidade de macroinvertebrados aquáticos, acarretando menor riqueza de espécies nos córregos dessas áreas e nos grupos funcionais, particularmente do grupo funcional dos fragmentadores, e o aumento dos coletores. Nos testes de toxicidade aguda, a sobrevivência de *C. sancticaroli* foi significativamente afetada pelo sedimento de áreas de cana-de-açúcar, ao passo que em exposições mais prolongadas (10 dias) não houve diferença nessa variável-resposta. No teste de gerações, o comprimento das larvas foi afetado pelo sedimento da cana-de-açúcar apenas nas gerações P e F1. Para o comprimento da asa das fêmeas e a fecundidade potencial, houve alterações nos ensaios a partir da geração F2, em larvas expostas aos sedimentos de áreas de cultivo de cana-de-açúcar. Quanto aos experimentos de remoção de matéria orgânica em ensaios crônicos de longa duração, os resultados mostraram que a retirada da matéria orgânica causou reduções na sobrevivência, no comprimento das larvas e na emergência de adultos de

C. sancticaroli. Com isso, ressalta a importância de integrar as ferramentas da estrutura da comunidade de macroinvertebrados aquáticos com as ferramentas de testes ecotoxicológicos, de modo a fornecer informações complementares sobre a toxicidade dos sedimentos da cana-de-açúcar.

Palavras-chave: Atividade agrícola, Biomonitoramento, *Chironomus sancticaroli*, Métricas comunitárias, Teste de gerações, Uso e ocupação do solo.

ABSTRACT

CARDOSO-SILVA, B. N. 2021. Aquatic macroinvertebrates as bioindicators of the impact of sugarcane cultivation in the State of São Paulo: community structure and sediment toxicity. Thesis (Doctorate). School of Engineering of São Carlos, University of São Paulo, São Carlos, 2021.

Several studies have shown that agricultural products, such as pesticides and fertilizers, are harmful and can cause changes in the aquatic macroinvertebrate community structure and the life cycle of some species of *Chironomus*. Therefore, this study aimed to evaluate the impacts of sugarcane cultivation in the structure, the taxonomic diversity and functional of aquatic macroinvertebrate community and toxicity of streams sediments in the *Chironomus sancticaroli* species. Three sediment collections were carried out in four streams in a sugarcane cultivation area and four in forest areas, located in municipalities in the region of São Carlos (SP). Macroinvertebrate community samples were collected with the aid of a D-shaped net, by the scanning method, selected and identified in the laboratory with the aid of stereomicroscope. Acute, chronic and generational toxicity tests were performed. Organic matter and metals concentration were quantified for all streams and samples performed. Given the high concentration of organic matter in stream sediments in areas occupied by sugarcane, a long-term chronic test was carried out, in which organic matter was eliminated from stream sediment samples. The evaluated response variables were mortality, larvae length, wing size, potential fecundity, adult emergence, males and females. The results obtained showed that sugarcane resulted in higher concentrations of organic matter and metals in the sediment of streams inserted in this agricultural matrix. These changes had negative impacts on the structure aquatic macroinvertebrate community, resulting in lower species richness in the streams in these areas and in the functional groups, particularly the functional group of the shredders, and the increase of the collectors. In acute toxicity tests, the survival of *C. sancticaroli* was significantly affected by sediment of sugarcane, whereas in longer exposures (10 days) there were no differences in this response variable. In the generation test, the length of the larvae was affected by sediments of sugarcane only in the P and F1 generations. For female wing length and potential fecundity, there were changes in the tests from the F2 generation onwards, in larvae exposed to sediments from sugarcane cultivation areas. As for the experiments of removal of organic matter in long-term chronic trials, the results showed that the removal of organic matter caused reductions in survival, length of larvae and emergence of adults of *C. sancticaroli*. This highlights the importance of integrating the tools of the structure aquatic macroinvertebrate community with the tools of ecotoxicological tests, in order to provide complementary information on the toxicity of sugarcane sediments.

Keywords: Agricultural activity, Biomonitoring, *Chironomus sancticaroli*, Community metrics, Generational test, Land use and occupation.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Etapas do ciclo de vida da espécie <i>Chironomus sancticaroli</i> : a) massa ovígera; b) larva; c) pupa; d) adulto (fêmea à esquerda e macho à direita)	27
Figura 2 - Bacia do rio Tietê-Jacaré com a localização dos córregos de mata, em verde (Anhumas, São Vicente, Espirado e Monjolinho) e de cana-de-açúcar, em vermelho (Água Sumida, Bela Vista, Chibarro e São João)	30
Figura 3 – a) Espátula de plástico e b) Potes de plásticos para armazenamento do sedimento.....	33
Figura 4 - Procedimento de extração de metais: a) Secagem do sedimento em estufa a 60°C; b) Aquecimento das amostras em placa aquecedora a 90°C; c) Filtragem do material e d) Material filtrado e extraído.	34
Figura 5 – a) Rede em D; b) Recipiente para acondicionamento dos macroinvertebrados aquáticos. ...	35
Figura 6 - Montagem do teste de toxicidade aguda: a) pote de 500 mL, b) sedimento, c) larva de <i>Chironomus sancticaroli</i> , no instar IV.	37
Figura 7 - Montagem do teste de toxicidade crônica: a) pote de 500 mL, b) sedimento, c) água deionizada e d) larva de <i>Chironomus sancticaroli</i> , no instar I.	37
Figura 8 - Medição do comprimento das larvas de <i>Chironomus sancticaroli</i> após a exposição ao teste de toxicidade crônica.	38
Figura 9 - Teste de geração: a) pote de 500 mL, b) larvas de instar I, c) sedimento, d) água deionizada, e) emergência de adultos, f) desova, g) montagem da geração seguinte e h) amostragem de larvas.	38
Figura 10 - Tamanho da asa da fêmea de <i>Chironomus sancticaroli</i> , medido da alula ao ápice.....	39
Figura 11 – Mosquito adulto de <i>Chironomus sancticaroli</i> : a) macho, com presença de antena plumosa e abdômen estreito e b) fêmea, sem antena plumosa e abdômen mais volumoso.	40
Figura 12 – Respostas ecotoxicológicas estudadas no teste de toxicidade aguda, crônica e de gerações.	41
Figura 13 – Teste de longa duração com remoção da matéria orgânica.....	42
Figura 14 - Montagem do teste de toxicidade crônica de longa duração com remoção da matéria orgânica: a) pote de 500 mL, b) sedimento incinerado na mufla a 550 °C e c) larva de <i>Chironomus sancticaroli</i> , no instar I.....	42
Figura 15 - Porcentagem média e desvio padrão de matéria orgânica dos córregos de mata (Anhumas, Espirado, Monjolinho e São Vicente) e de cana-de-açúcar (Água Sumida, Bela Vista, Chibarro e São João).	46
Figura 16 - Concentração média (mg kg ⁻¹) e desvio padrão de metais do sedimento nos córregos em estudo.....	48
Figura 17 – Exemplos de macroinvertebrados aquáticos encontrados nos córregos de mata.	55
Figura 18 - Exemplos de macroinvertebrados aquáticos encontrados nos córregos de cana-de-açúcar.	56
Figura 19 - Representação dos grupos tróficos funcionais dos córregos em área de mata.....	63
Figura 20 - Representação dos grupos tróficos funcionais dos córregos em área de cana-de-açúcar. ...	64
Figura 21 - Representação dos grupos tróficos funcionais por uso e ocupação do solo.....	64
Figura 22 – Carta controle para <i>Chironomus sancticaroli</i> exposto a substância KCl no teste de sensibilidade.	67
Figura 23 – a) Valores médios e desvio padrão da mortalidade (%) de larvas de instar IV de <i>Chironomus sancticaroli</i> expostas ao controle e aos sedimentos dos córregos de mata e de cana-de-açúcar em testes de toxicidade aguda. b) Mortalidade (%) por uso e ocupação do solo. (*) Presença de diferença significativa dos tratamentos com o controle (p<0,05).	68
Figura 24 – a) Valores médios e desvio padrão da mortalidade (%) de larvas de instar I de <i>Chironomus sancticaroli</i> expostas ao controle e aos sedimentos dos córregos de mata e de cana-de-açúcar em testes	

de toxicidade crônica, b) Mortalidade (%) por uso e ocupação do solo. (*) Presença de diferença significativa dos tratamentos com o controle (p<0,05).	70
Figura 25 – a) Valores médios e desvio padrão do comprimento de larvas de instar I de <i>Chironomus sancticaroli</i> (mm) expostas ao controle e aos sedimentos dos córregos de mata e de cana-de-açúcar em testes de toxicidade crônica, b) Comprimento larval (mm) por uso e ocupação do solo. (*) Presença de diferença significativa dos tratamentos com o controle (p<0,05).	73
Figura 26 - Comprimento médio e desvio padrão das larvas de <i>Chironomus sancticaroli</i> (mm) amostradas nas gerações P, F1 e F2 expostas ao controle e aos sedimentos dos córregos de mata (Anhumas, Espraiado, Monjolinho e São Vicente) e de cana-de-açúcar (Água Sumida, Bela Vista, Chibarro e São João). (*) Presença de diferença significativa dos tratamentos com o controle (p<0,05).	75
Figura 27 - Comprimento médio e desvio padrão das larvas de <i>Chironomus sancticaroli</i> (mm) amostradas nas gerações P, F1 e F2, representado por uso e ocupação do solo. (*) Presença de diferença significativa dos tratamentos com o controle (p<0,05).	75
Figura 28 - Tamanho médio e desvio padrão da asa das fêmeas de <i>Chironomus sancticaroli</i> (mm) emergidas durante o teste de gerações para as gerações P, F1 e F2 expostas ao controle e aos sedimentos dos córregos de mata (Anhumas, Espraiado, Monjolinho e São Vicente) e de cana-de-açúcar (Água Sumida, Bela Vista, Chibarro e São João). (*) Presença de diferença significativa dos tratamentos com o controle (p<0,05).	78
Figura 29 - Tamanho médio e desvio padrão da asa das fêmeas de <i>Chironomus sancticaroli</i> (mm) emergidas durante o teste de gerações para as gerações P, F1 e F2, representado por uso e ocupação do solo.	79
Figura 30 - Fecundidade potencial média (nº de ovos) e desvio padrão das fêmeas de <i>Chironomus sancticaroli</i> emergidas durante o teste de gerações para as gerações P, F1 e F2 expostas ao controle e aos sedimentos dos córregos de mata (Anhumas, Espraiado, Monjolinho e São Vicente) e de cana-de-açúcar (Água Sumida, Bela Vista, Chibarro e São João). (*) Presença de diferença significativa dos tratamentos com o controle (p<0,05).	80
Figura 31: Fecundidade potencial média (nº de ovos) e desvio padrão das fêmeas de <i>Chironomus sancticaroli</i> emergidas durante o teste de gerações para as gerações P, F1 e F2, representada por uso e ocupação do solo.	81
Figura 32 - Emergência média (%) e desvio padrão dos adultos de <i>Chironomus sancticaroli</i> nas gerações P, F1 e F2 expostas ao controle e aos sedimentos dos córregos de mata e de cana-de-açúcar.	84
Figura 33 - Emergência média (%) e desvio padrão dos adultos de <i>Chironomus sancticaroli</i> nas gerações P, F1 e F2, representada por uso e ocupação do solo.	85
Figura 34 - Emergência média (%) e desvio padrão de machos e fêmeas de <i>Chironomus sancticaroli</i> (%) nas gerações P, F1 e F2 expostas ao controle e aos sedimentos dos córregos de mata e de cana-de-açúcar.	87
Figura 35 - Emergência média (%) e desvio padrão de machos e fêmeas de <i>Chironomus sancticaroli</i> nas gerações P, F1 e F2, representada por uso e ocupação do solo.	88
Figura 36 - Valores médios e desvio padrão da mortalidade (%) de larvas de instar I de <i>Chironomus sancticaroli</i> expostas ao teste de toxicidade crônica de longa duração: a) mortalidade dos seis córregos analisados; b) mortalidade por uso e ocupação do solo (*) Presença de diferença significativa dos tratamentos com o controle (p<0,05).	90
Figura 37 - Valores médios e desvio padrão do comprimento de larvas de instar I de <i>Chironomus sancticaroli</i> (mm) expostas ao teste de toxicidade crônica de longa duração: a) comprimento dos seis córregos analisados; b) comprimento por uso e ocupação do solo (*) Presença de diferença significativa dos tratamentos com o controle (p<0,05).	91

Figura 38 - Valores médios e desvio padrão do tamanho da asa das fêmeas de <i>Chironomus sancticaroli</i> (mm) expostas ao teste de toxicidade crônica de longa duração: a) comprimento da asa dos seis córregos analisados; b) comprimento da asa por uso e ocupação do solo. (*) Presença de diferença significativa dos tratamentos com o controle (p<0,05).	93
Figura 39 - Valores médios e desvio padrão da fecundidade das fêmeas de <i>Chironomus sancticaroli</i> (mm) expostas ao teste de toxicidade crônica de longa duração: a) fecundidade dos seis córregos analisados; b) fecundidade por uso e ocupação do solo. (*) Presença de diferença significativa dos tratamentos com o controle (p<0,05).....	94
Figura 40 - Emergência média (%) e desvio padrão dos adultos de <i>Chironomus sancticaroli</i> (%) expostos ao teste de toxicidade crônica de longa duração: a) emergência dos seis córregos analisados; b) emergência por uso e ocupação do solo. (*) Presença de diferença significativa dos tratamentos com o controle (p<0,05).	95
Figura 41 - Emergência média (%) e desvio padrão de macho e fêmea de <i>Chironomus sancticaroli</i> (%) expostos ao teste de toxicidade crônica de longa duração: a) emergência de macho e fêmea dos seis córregos analisados; b) emergência de macho e fêmea por uso e ocupação do solo.....	96

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Localização, coordenadas geográficas e uso e ocupação do solo dos córregos localizados em área de mata.....	31
Tabela 2 - Parâmetros utilizados para a realização dos testes de sensibilidade.	36
Tabela 3 - Parâmetros utilizados na realização do teste de toxicidade aguda, crônica e de gerações... 40	
Tabela 4 - Parâmetros utilizados na realização do teste de toxicidade crônica de longa duração com remoção da matéria orgânica do sedimento.	43
Tabela 5 - Caracterização ambiental: valores médios de pH, temperatura, condutividade elétrica e oxigênio dissolvido da água dos córregos de mata (Anhumas, Espriado, Monjolinho e São Vicente) e de cana-de-açúcar (Água Sumida, Bela Vista, Chibarro e São João).	45
Tabela 6 - Comunidade de macroinvertebrados aquáticos dos córregos de mata e de cana-de-açúcar representada por grupos taxonômicos.	53
Tabela 7 - Métricas comunitárias dos córregos de mata ciliar preservada e de cana-de-açúcar.	55

SUMÁRIO

RESUMO.....	11
1. INTRODUÇÃO.....	19
2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	21
2.1. O cultivo de cana-de-açúcar e o uso de pesticidas	21
2.2. Macroinvertebrados aquáticos.....	24
2.3. Testes ecotoxicológicos.....	26
3. OBJETIVO.....	29
3.1. Objetivos específicos.....	29
4. MATERIAL E MÉTODOS.....	30
4.1. Área de estudo	30
4.2. Variáveis físicas e químicas da água e do sedimento.....	33
4.3. Macroinvertebrados aquáticos.....	34
4.4. Testes de toxicidade utilizando o sedimento	35
4.5. Teste de toxicidade crônica de longa duração com remoção da matéria orgânica....	41
4.6. Análise dos dados.....	43
5. RESULTADOS E DISCUSSÃO	44
5.1. Variáveis físicas e químicas da água e do sedimento.....	44
5.2. Macroinvertebrados aquáticos.....	52
5.3. Testes ecotoxicológicos.....	67
5.3.1. Teste de sensibilidade	67
5.3.2. Teste de toxicidade aguda.....	67
5.3.3. Teste de toxicidade crônica	70
5.3.4. Teste de gerações	74
5.3.4. Teste de toxicidade crônica de longa duração com remoção da matéria orgânica	89
6. CONCLUSÃO.....	97
7. CONSIDERAÇÕES FINAIS	98
8. REFERÊNCIAS	100

1. INTRODUÇÃO

A expansão do cultivo de cana de açúcar no Brasil ganhou destaque a partir do ano de 2000 com a expectativa de aumento da demanda interna por etanol e da crescente demanda mundial de fontes alternativas de energia (ABDALA; RIBEIRO, 2011). Em quase duas décadas, a área plantada de cana-de-açúcar mais que dobrou, passando de 4,8 milhões de hectares, no ano de 2000, para 10 milhões no ano de 2018 (UNICA, 2018). O maior responsável pela produção de cana-de-açúcar no país é o estado de São Paulo, contribuindo com 51% da produção nacional, seguido de Goiás (13%) e Minas Gerais (11%) (CONAB, 2021). Porém, essa expansão tem levantado vários questionamentos a respeito dos aspectos sociais e ambientais, principalmente em relação ao uso de pesticidas e fertilizantes.

O uso indiscriminado desses produtos tem atingido não só os organismos alvos nas plantações, mas também o solo, as águas superficiais e subterrâneas, o ar, os trabalhadores, os moradores do entorno, os alimentos (SPADOTTO, 2006) e os organismos não alvos, como os macroinvertebrados aquáticos (CORBI et al., 2010; EGLER et al., 2012; NHIWATIWA et al., 2017; MELLO et al., 2019). A remoção da mata ciliar retira a proteção do córrego, aumenta os níveis de partículas de solo suspensas e de contaminação química causando mudanças no habitat, provocando a perda da biodiversidade aquática (SURIANO; FONSECA-GESSNER, 2013).

Corbi e Trivinho-Strixino (2008) analisaram diferentes áreas de cultivo de cana-de-açúcar e verificaram que a retirada da mata ciliar juntamente com a aplicação de compostos químicos causou modificações na estrutura da comunidade de macroinvertebrados, como perda de espécies sensíveis e aumento das espécies mais tolerantes. Porém, esses efeitos podem causar modificação não só na estrutura da comunidade, mas também alterações morfológicas, comportamentais, genéticas e mudanças no ciclo de vida dos organismos, podendo resultar inclusive na morte de uma comunidade inteira (BAPTISTA et al., 2003; ARIAS et al., 2007; COLOMBO-CORBI et al., 2017; FERREIRA-JUNIOR et al., 2017; ROCHA et al., 2018).

Diante disso, é fundamental o constante monitoramento ambiental das áreas de cultivo de cana-de-açúcar, pois a comunidade de macroinvertebrados aquáticos compõe um grupo de grande importância ecológica no meio, participando do metabolismo dos ecossistemas, da ciclagem de nutrientes, do fluxo de energia, além de ser fonte de alimento para outros organismos (CALLISTO et al., 2001a; ESTEVES, 2011).

O teste ecotoxicológico é uma ferramenta de grande auxílio no monitoramento ambiental (COSTA et al., 2008). Entre os tipos de testes de toxicidade, o teste agudo e crônico são os mais comumente utilizados (COSTA et al., 2008). Por outro lado, o teste de gerações, também conhecido como teste multigeracional, tem se mostrado promissor, pois expõe os organismos-testes as várias gerações para simular exposição crônica a longo prazo (VOGT et al., 2007). Podem ainda verificar o comportamento das populações às condições estressantes do meio (FRANKHAM, 2005) que dificilmente seriam documentadas em experimentos de geração única.

Entre os macroinvertebrados aquáticos, a espécie *Chironomus sancticaroli* (Diptera, Chironomidae) é frequentemente utilizada em testes ecotoxicológicos por se adaptar a ambientes extremos e ser uma espécie de fácil cultivo em laboratório (TRIVINHO-STRIXINO; STRIXINO, 1982; BEGHELLI et al., 2018; DORNFELD et al., 2019; FELIPE et al., 2021).

Apesar de promissor, poucos estudos foram realizados com sedimento *in natura* (de campo) de áreas adjacentes a cultivos de cana-de-açúcar. A maior parte dos estudos é realizada com teste padrão utilizando sedimentos artificiais ou formulados, nos quais organismos-testes são expostos a concentrações variadas de apenas um pesticida ou de uma combinação de vários, o que se distancia um pouco da condição real que acontece em campo (SCHULER et al., 2005; NOWAK et al., 2009; TASSOU; SCHULZ, 2011; DA SILVA et al., 2018). A realização de testes de toxicidade com sedimento de campo é importante, pois esse sedimento é uma matriz complexa, que contém a presença de vários pesticidas e metais, além da matéria orgânica, deixando a realização dos experimentos laboratoriais mais próximos da que ocorre na natureza (VERRHIEST et al., 2002; ZAGATTO; BERTOLETTI, 2008).

Este trabalho estudou os impactos da atividade canavieira em córregos analisando alterações na estrutura da comunidade de macroinvertebrados e a toxicidade dos sedimentos na espécie *Chironomus sancticaroli*.

2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1. O cultivo de cana-de-açúcar e o uso de pesticidas

A cana-de-açúcar é uma planta C4 pertencente à família *Poaceae*, do gênero *Saccharum* e de origem do sudeste da Ásia (STEDUTO et al., 2012). Seu cultivo é destinado não só à produção de açúcar e etanol, mas também à produção de energia, de fertilizantes, alimentação animal e de outros produtos, tais como rapadura e cachaça (CONAB, 2021).

Em escala mundial, o Brasil é o maior produtor de cana-de-açúcar, seguido da Índia, Tailândia e China (FAO, 2019), com produção principal destinada à fabricação de açúcar e de etanol (CONAB, 2021). Entre as culturas temporárias, a cana-de-açúcar é a terceira mais produzida no Brasil, seguida da soja e do milho. Segundo o levantamento da Companhia Nacional de Abastecimento (CONAB, 2021), estima-se uma produção de 568.430 mil toneladas para a safra 2021/2022, sendo a região sudeste a maior produtora (356.722 mil toneladas). No Estado de São Paulo, maior produtor nacional, estima-se uma produção de mil toneladas para a mesma safra, representando 81% da produção da região Sudeste e 5% da produção do país.

Os principais produtos químicos utilizados na cana-de-açúcar e em outros cultivos agrícolas são os fertilizantes e os pesticidas, também conhecidos como agrotóxicos e defensivos agrícolas (BAPTISTA et al., 2003). Os fertilizantes são empregados de forma a suprir as necessidades nutricionais das culturas, a melhorar as condições do solo e a potencializar a produtividade (ISHERWOOD, 2000). Possuem em sua composição concentrações de chumbo, níquel, cromo, cádmio, alumínio e zinco (CORBI et al., 2006).

Os pesticidas podem ser classificados de acordo com as pragas a que se destinam, o grau de toxicidade e a composição química. Em relação ao primeiro tipo classificam-se em inseticidas (contra insetos), larvicidas (larvas), fungicidas (fungos), herbicidas (ervas daninhas) formicidas (formigas), acaricidas (ácaros), dentre outros (ALMEIDA et al., 1985). Quanto à toxicidade, os pesticidas são classificados em extremamente tóxicos, altamente tóxicos, medianamente tóxicos e pouco tóxicos (BRASIL, 1992). Quanto à composição química são classificados em orgânicos (organoclorados e organofosforados), inorgânicos (compostos de mercúrio, bário, enxofre e cobre) e de origem vegetal, bacteriana e fúngica (piretrinos, antibióticos e fitocidas) (CAVALHEIROS, 1993).

Tem-se notado um grande aumento no consumo desses produtos devido à expansão da produção agrícola e da expansão da monocultura no Brasil (RONQUIM; FONSECA, 2018). O

Brasil se destaca por ser um dos grandes consumidores de pesticidas do mundo e na última década, o mercado de pesticidas no país aumentou em 190%, colocando o Brasil em primeiro lugar no ranking mundial de consumo desde 2008 (RIGOTTO et al., 2014). Somente no ano de 2019, foram comercializadas mais de 620 mil toneladas (IBAMA, 2019). Entre os tipos de pesticidas mais vendidos no país no ano de 2019, destaca-se o Glifosato, representando 217,6 mil toneladas de vendas, seguido do 2,4D (52 mil toneladas) e do Mancozebe (49,2 mil toneladas) (IBAMA, 2019). Segundo o relatório do SINDIVEG (Sindicato Nacional da Indústria de Produtos para a Defesa Vegetal, 2018), a cana-de-açúcar foi a segunda cultura que mais utilizou pesticidas no ano de 2017 (representando 11,7%), seguida da soja que utilizou 52% e milho (10%).

A base para a regulamentação de pesticidas no Brasil foi estabelecida pela Lei nº 7.802/1989 e pelo Decreto nº 4.074/2002. Essas normas regulam o registro, uso, produção, armazenamento, transporte e descarte dos pesticidas. No ano de 2019 foram registrados 43 pesticidas, totalizando 474 registros. No ano de 2020, mais 19 pesticidas foram registrados, totalizando 493 registros, sendo esse valor o mais alto da série histórica, iniciada no ano 2000, que registrava apenas 82 pesticidas. Os dados ainda apontam uma alta de 374% entre 2010 e 2019 (MAPA, 2020).

A aplicação de pesticidas se destina ao controle de doenças e pragas nas culturas. Porém, seu uso intensivo e indiscriminado afeta negativamente a saúde do meio ambiente e da população, comprometendo a qualidade do ar, das águas superficiais e subterrâneas, dos solos, afetando os organismos aquáticos e terrestres, causando intoxicação nas pessoas por meio do consumo de água e alimentos contaminados e intoxicação aos trabalhadores rurais (SPADOTTO, 2006). Diversos estudos comprovam os efeitos causados à saúde e ao meio ambiente (DA SILVA et al., 2013; KIM et al., 2016; SOLIS et al., 2018; LOPES; ALBUQUERQUE, 2018; TADEI et al.; 2019).

Na saúde, os efeitos agudos do uso de pesticidas estão relacionados à irritação da pele e olhos, coceira, cólicas, vômitos, diarreias, espasmos, dificuldades respiratórias, convulsões e morte (INCA, 2015). Os efeitos crônicos estão relacionados com alterações hormonais e metabólicas, como atrasos no desenvolvimento em crianças, infertilidade, aborto; no sistema respiratório, como asma, irritações no nariz e garganta; no sistema nervoso, como cefaleia e vertigens; no sistema imunológico, como imunossupressão (KAMPA; CASTANAS, 2008). Existem também casos ligados ao câncer, tais como de próstata, de mama, de cérebro, de pulmão (MIRANDA et al., 2015); casos de depressão, devido à atividade neurotóxica e de

desregulação endócrina causadas pelos pesticidas (NETO et al., 2018) e casos em que foi encontrada a presença de pesticidas no leite materno (CORRALO et al., 2016). Os trabalhadores rurais e suas famílias são os principais atingidos pelos pesticidas, mas mesmo quem não está em contato direto com essas substâncias, também pode ser afetado por meio do consumo de água e alimentos contaminados (PALMA; LOURENCETTI, 2011; BONTEMPO et al., 2016) ou ainda ser atingido pelo processo de deriva pelo ar, que pode atingir uma distância de até 15 km do local de aplicação (CORREIA, 2018).

No solo, estudos realizados por Ampofo et al. (2009) mostraram que a aplicação de dois herbicidas (Paraquat e Glifosato) reduziu em 92,86% a população da bactéria *Rhizobium spp.* (organismo não alvo) no solo tratado com Paraquat e em 82,5% no solo tratado com Glifosato. Wang et al. (2004) e Silva et al. (2005) também comprovaram que a população de microrganismos no solo foi alterada com o uso de pesticidas. Em relação à fauna edáfica, Chelinho et al. (2012) observaram que a sobrevivência e a reprodução dos organismos foram afetadas. Tanto os microrganismos quanto a fauna edáfica são de grande importância para o solo, pois auxiliam na decomposição da matéria orgânica, ciclagem de nutrientes, produção de húmus, fertilidade do solo e na agregação do solo (SILVA et al., 2012; OLIVEIRA-FILHO; BARETTA, 2016).

Do solo, os pesticidas podem alcançar o meio aquático pelo processo de escoamento superficial e percolação no solo, se ligar aos materiais particulados em suspensão, se depositar no sedimento ou ainda serem acumulados nos organismos (TOMITA; BEYRUTH, 2002). Corbi et al. (2010) detectaram a presença de alguns metais (Al, Cd, Cr, Cu, Fe, Mg, Mn e Zn) no sedimento e em insetos aquáticos de três áreas de cultivo de cana-de-açúcar no Estado de São Paulo. Outros estudos observaram a bioacumulação de pesticidas, a indução de estresse oxidativo e a mortalidade em peixes (POLIDORO; MORRA, 2016; CLASEN et al., 2018), alteração no crescimento e replicação de protozoários (MANSANO et al., 2016), redução nos números de espécies e redução do tamanho corporal em população de macroinvertebrados aquáticos (BARMENTLO et al., 2018).

2.2. Macroinvertebrados aquáticos

Os macroinvertebrados aquáticos referem-se à fauna de invertebrados que fica retida em uma malha de 0,2 a 0,5 mm, podendo ser encontrados em várias partes dos ecossistemas aquáticos, habitando a coluna de água, o sedimento, pedras, galhos, folhas ou raízes de plantas aquáticas (ESTEVEVES, 2011). São representados principalmente por insetos, moluscos, anelídeos e crustáceos (ROSENBERG; RESH, 1993). Entre os insetos, destacam-se as ordens: Ephemeroptera, Plecoptera, Trichoptera, Odonata, Megaloptera, Hemiptera, Coleoptera, Orthoptera, Neuroptera, Lepidoptera e Diptera (MCCAFFERTY, 1981), sendo essa última, a que possui maior importância, pois seus organismos são encontrados em maior quantidade (ESTEVEVES, 2011).

Os organismos da ordem Ephemeroptera vivem em águas frias, limpas e bem oxigenadas associados a rochas, troncos ou vegetação submersa. Os plecópteros vivem em correntes frias e bem oxigenadas, embaixo de rochas, troncos ou ramos de vegetação aquática. Os tricópteros vivem em águas correntes, limpas e bem oxigenadas e são conhecidos por construir casinhas de material vegetal ou mineral para proteção e alimentação. Os odonatos são predadores e vivem nas margens de rios de águas limpas ou poluídas. Os megalópteros também são predadores e vivem em águas correntes debaixo de pedras, troncos e vegetação submersa. Os coleópteros vivem em águas calmas, associados a detritos orgânicos e os dípteros vivem em vários tipos de água, inclusive em águas poluídas (HAMADA et al., 2014; KUHLMANN et al., 2019).

De acordo com a tolerância, os macroinvertebrados podem ser divididos, de maneira geral, em sensíveis, representados pelas ordens Ephemeroptera, Trichoptera e Plecoptera (EPT) que caracterizam ambientes de águas limpas, ou em resistentes, representados por aqueles organismos capazes de viverem em condições de elevados impactos, como por exemplo de algumas larvas de *Chironomus* spp. e algumas espécies de Oligochaeta (GOULART; CALLISTO, 2003).

Os macroinvertebrados aquáticos podem ainda ser classificados por grupos tróficos funcionais, de acordo com a forma de aquisição de alimentos, em: fragmentadores, coletores-filtradores, coletores-catadores, raspadores, sugadores e predadores. Os fragmentadores se alimentam de tecido vegetal, transformando matéria orgânica particulada grossa (MOPG > 1mm) em matéria orgânica particulada fina (MOPF < 1mm). Os coletores-filtradores se alimentam de material em suspensão na coluna de água. Os coletores-catadores se alimentam de material depositado no fundo. Os raspadores raspam a superfície de pedras, madeiras e caules

para se alimentarem de algas e micro-organismos associados. Os sugadores se alimentam perfurando e sugando o citoplasma de células de algas filamentosas ou de plantas aquáticas enraizadas. Os predadores se alimentam de outros invertebrados aquáticos, pequenos peixes e anfíbios (MERRITT et al., 2017).

A importância de classificar os organismos em grupos tróficos funcionais está relacionada com a dinâmica que ocorre nos ecossistemas aquáticos, pois, segundo a teoria do River Continuum Concept, de Vannote et al. (1980), ao longo de um rio é possível verificar diferenças na estrutura das comunidades aquáticas relacionadas com a vegetação ripária e a disponibilidade de alimento e energia. Nas cabeceiras, por serem fortemente influenciada por vegetação ripária, há maior entrada de matéria orgânica e menor interferência da luz solar, com predominância dos grupos fragmentadores e coletores. Os trechos de tamanhos intermediários são influenciados pelo aumento significativo da produção primária e do transporte de matéria orgânica oriunda das correntes à montante e com isso há o predomínio de organismos raspadores e coletores. Nos trechos mais largos, a entrada de material alóctone é menor e a produção primária é maior devido à maior entrada de luz solar. Neste caso há o predomínio de organismos coletores devido à matéria orgânica finamente particulada vinda de trechos à montante (VANNOTE et al., 1980).

A comunidade de macroinvertebrados aquáticos, assim como as demais comunidades aquáticas, é essencial ao funcionamento dos ecossistemas de água doce por atuarem, por exemplo, em processos ecológicos de ciclagem de nutrientes e de transferência de energia no meio em que vivem. Retratam a integridade ecológica do meio e podem responder aos impactos das atividades antrópicas (BARBOUR et al., 1999), sendo frequentemente utilizados como bioindicadores na avaliação da qualidade da água e no monitoramento ambiental (CALLISTO et al., 2001b; CORBI, TRIVINHO-STRIXINO, 2006; KUHLMANN et al., 2012; HEPP et al., 2016; CHAGAS et al., 2017; RAMOS et al., 2018; COLLINS; FAHRIG, 2020; COUTO; AFFONSO, 2021). As razões para serem utilizados com mais frequência em programas de biomonitoramento se deve ao fato de: serem encontrados na maioria dos habitats aquáticos; viverem em contato com o sedimento; possuírem ciclos de vida longos; serem de fácil amostragem e terem mobilidade limitada (ROSENBERG; RESH, 1993; CALLISTO et al., 2001b).

Machado et al. (2015) estudaram a distribuição de larvas de Chironomidae (Diptera) e mostraram ser boas indicadores de qualidade da água da bacia do Córrego Barbado (MS). Souto

et al. (2019), observaram a bioacumulação de metais nos sedimentos e em algumas espécies de macroinvertebrados aquáticos em córregos no Estado de Minas Gerais.

A comunidade também pode ser utilizada como ferramenta no monitoramento da qualidade ambiental por meio de índices de diversidade ou índices bióticos. Os índices de diversidade e riqueza avaliam os efeitos da poluição na estrutura da comunidade de macroinvertebrados aquáticos e os mais conhecidos são os índices de Shannon e de Margalef (METCALFE, 1989). Os índices bióticos levam em consideração tolerância ou sensibilidade de organismos à poluição e como exemplo, tem-se o Biological Monitoring Working Party Score System (BMWP) que considera os macroinvertebrados aquáticos em nível taxonômico, atribuindo valores de 1 a 10 de acordo com a sensibilidade dos organismos à poluição. Esse índice foi criado na Inglaterra em 1976, mas já foi adaptado para algumas regiões do Brasil (JUNQUEIRA, 2000; LOYOLA, 2000). Algumas agências ambientais, como a Companhia Ambiental do Estado de São Paulo (CETESB) e o Instituto Ambiental do Paraná (IAP) tem utilizado a comunidade de macroinvertebrados aquáticos no monitoramento da qualidade de suas águas.

A aplicação os índices de diversidade de Shannon, Riqueza de Margalef e %EPT apontaram um bom estado de conservação de uma nascente do Ribeirão das Anhumas, no município de Araraquara (SP) (SAULINO et al, 2011). Em outro estudo, o índice BMWP e a diversidade de Shannon apontaram alta riqueza da comunidade de macroinvertebrados aquáticos e boa qualidade água (SANTOS et al., 2018).

2.3. Testes ecotoxicológicos

Os testes ecotoxicológicos são ensaios experimentais realizados com poluentes tóxicos em diferentes concentrações para avaliar a toxicidade de substâncias em organismos-teste. São ferramentas importantes utilizadas no monitoramento da qualidade do ambiente, que complementam as análises físico-químicas tradicionais, pois avaliam os efeitos das substâncias sobre a comunidade aquática (COSTA et al., 2008). Os testes de toxicidade aquática são bastante utilizados, pois os ecossistemas aquáticos representam um dos tipos de ecossistemas que mais recebem contaminantes (GHERARDI-GOLDSTEIN et al., 1990).

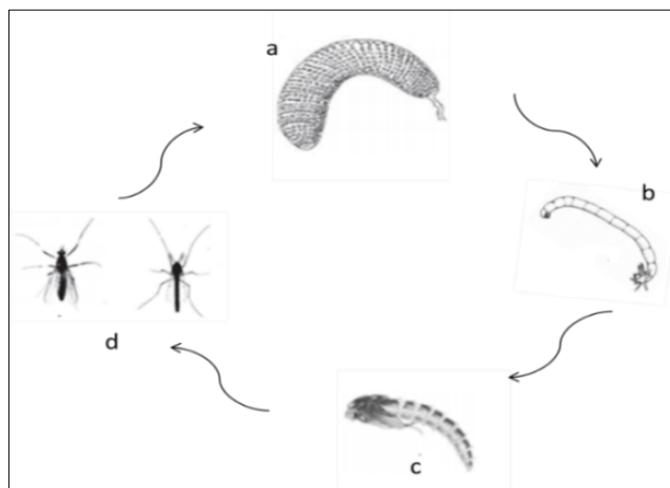
Para sua realização, os organismos podem ser expostos a testes de toxicidade aguda, crônica ou de gerações. Em Chironomidae, o teste de toxicidade aguda possui duração de 96 h e é realizado para a avaliação de resposta como mortalidade, em exposições de curta duração.

O teste de toxicidade crônica é realizado durante tempos de exposição maiores, por 8 a 10 dias, para avaliar a mortalidade ou os efeitos no crescimento dos organismos a longo prazo (MAGALHÃES; FILHO, 2008). O teste de geração visa avaliar os efeitos da toxicidade no ciclo de vida dos organismos ao longo de várias gerações (BERNEGOSSI et al., 2019). Os parâmetros analisados podem ser: mortalidade, atraso na emergência de adultos, emergência de adultos, proporção de machos e fêmeas, tamanho das asas, fecundidade, fertilidade, ocorrência de anormalidade nas cordas de ovos, deformidade do mento, comprimento larval, entre outros.

As algas, as bactérias, as macrófitas, os microcrustáceos, os peixes e os macroinvertebrados aquáticos são exemplos de organismos-teste (BURTON, 1992; COSTA et al., 2008). Sua escolha está condicionada à sensibilidade, à biologia, à disponibilidade do organismo e aos conhecimentos das técnicas de cultivo. Entre os macroinvertebrados, destaca-se a espécie *Chironomus sancticaroli* Strixino e Strixino 1981 (Diptera: Chironomidae) frequentemente utilizada em testes ecotoxicológicos (FONSECA, 1997; NOVELLI et al., 2012; MORAIS et al., 2020; COLOMBO-CORBI et al., 2017; BEGHELLI et al., 2018; DORNFELD et al., 2019; FELIPE et al., 2021; PINTO et al., 2021) por ser uma espécie de ciclo de vida curto, fácil cultivo em laboratório, apresentar alta fecundidade e ter capacidade de adaptação a ambientes extremos (TRIVINHO-STRIXINO; STRIXINO, 1982).

A espécie *C. sancticaroli*, pertencente à Classe Insecta, Ordem Diptera e Família Chironomidae, é uma espécie nativa que foi encontrada no Estado de São Paulo e descrita por STRIXINO e STRIXINO em 1981. Essa espécie apresenta quatro estágios de desenvolvimento em seu ciclo de vida: ovo, larva, pupa e adulto (Figura 1).

Figura 1 - Etapas do ciclo de vida da espécie *Chironomus sancticaroli*: a) massa ovígera; b) larva; c) pupa; d) adulto (fêmea à esquerda e macho à direita)



Fonte: Adaptado de Hamada et al. (2014).

Essa espécie é comumente utilizada como bioindicadora em programas de monitoramento, por ser uma espécie resistente a diversas condições ambientais (ROSENBERG, 1992; DORNFELD, 2006; ROQUE et al., 2010). Seu uso em ensaios toxicológicos tem contribuído para a verificação da qualidade dos ecossistemas aquáticos (FONSECA, 1997; DORNFELD, 2006; SVENSSON et al., 2018) e dos efeitos tóxicos dos contaminantes aos organismos (FERNICOLA et al., 2003; BAGGIO, 2016; WANDSCHEER, 2016), auxiliando também como uma ferramenta complementar às análises químicas e físicas na obtenção de respostas mais robustas sobre a qualidade ambiental do meio aquático (PELÁEZ-RODRIGUEZ, 2001; COSTA et al., 2008).

Richardi et al. (2018) avaliaram os efeitos do fenantreno, um composto orgânico altamente tóxico aos ecossistemas aquáticos, em larvas de *C. sancticaroli* e observaram a redução do comprimento corporal das larvas com o aumento das concentrações do composto, além do aumento do tempo na troca de instares. Por outro lado, Beghelli et al. (2018) avaliaram os efeitos de sedimentos poluídos com metais de um dos reservatórios do Complexo Cantareira (SP) em larvas da mesma espécie e observaram redução do comprimento corporal e da cápsula cefálica das larvas, aumento na mortalidade e alterações no mento, quando comparados com a condição controle.

Os efeitos dos contaminantes também podem ser observados ao longo do ciclo de vida do organismo. Dell'Acqua (2017), Bernegossi (2019) e Felipe et al. (2021) avaliaram esses efeitos e observaram alterações no tamanho do corpo das larvas, no tamanho das asas das fêmeas e atraso no tempo de emergência de *C. sancticaroli* ao longo de três gerações.

3. OBJETIVO

Este estudo teve como objetivo principal avaliar se a atividade canavieira causa danos à biota aquática inserida em áreas desta monocultura por meio da comparação da estrutura, diversidade taxonômica e funcional da comunidade de macroinvertebrados aquáticos e da toxicidade de sedimentos de áreas ocupadas por monocultura de cana-de-açúcar e ecossistemas em áreas naturais, em larvas de *Chironomus sancticaroli*.

3.1. Objetivos específicos

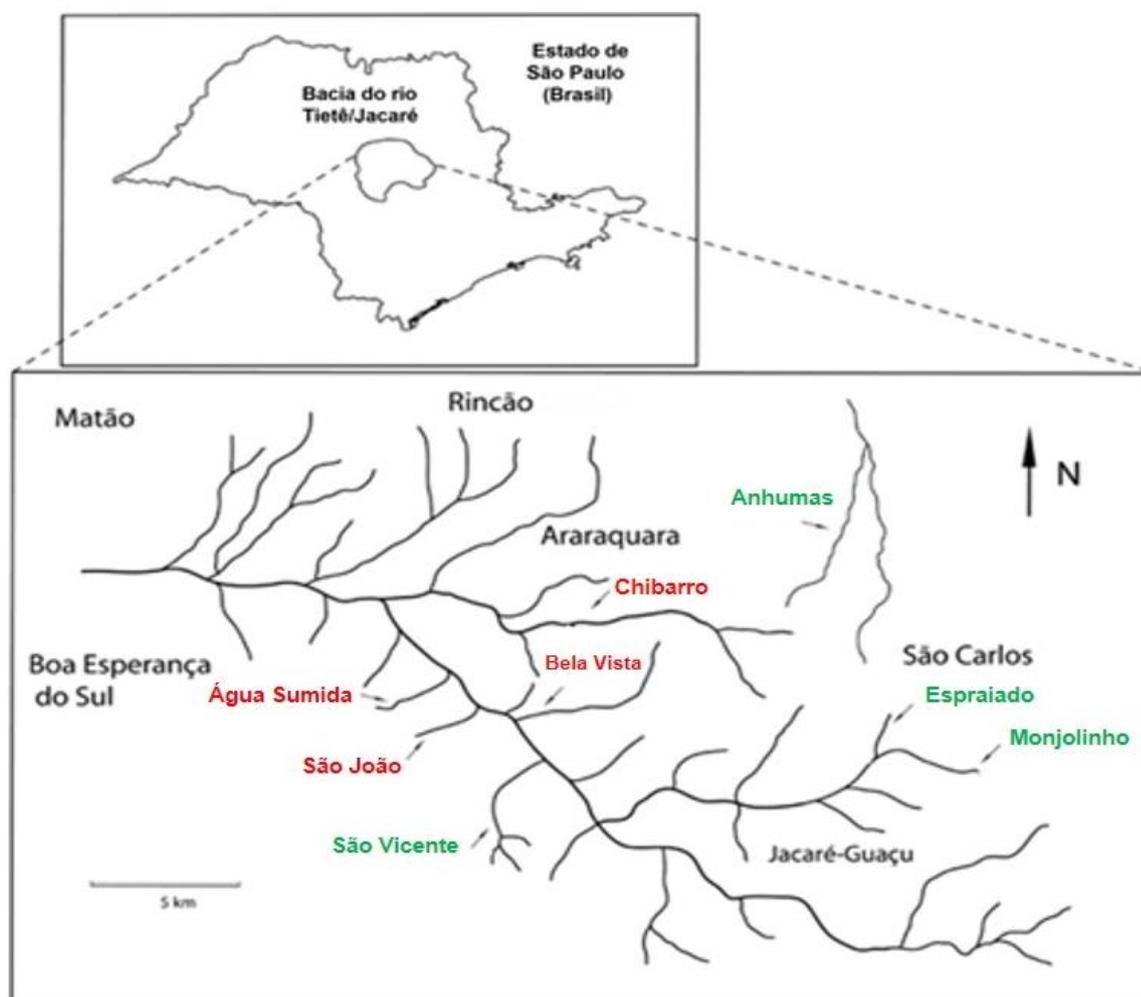
- Comparar a estrutura da comunidade de macroinvertebrados aquáticos em 8 córregos, sendo 4 em áreas de cana-de-açúcar e 4 em áreas de mata (áreas de referência);
- Comparar a diversidade taxonômica e funcional da comunidade de macroinvertebrados aquáticos de oito córregos;
- Analisar as concentrações de matéria orgânica e dos metais (alumínio, cádmio, cobre, ferro, manganês, magnésio e zinco) do sedimento de oito córregos;
- Analisar, em laboratório, a toxicidade aguda e crônica do sedimento de oito córregos em larvas da espécie *C. sancticaroli*;
- Analisar o comprimento das larvas, a emergência de organismos adultos, o tamanho da asa das fêmeas adultas e a fecundidade potencial da espécie *C. sancticaroli* exposta por três gerações no sedimento de oito córregos;
- Analisar a influência da ausência de matéria orgânica na mortalidade, comprimento das larvas, emergência de adultos, tamanho da asa das fêmeas adultas e a fecundidade potencial da espécie *C. sancticaroli* expostas aos testes crônicos de longa duração.

4. MATERIAL E MÉTODOS

4.1. Área de estudo

O presente estudo foi desenvolvido em oito córregos de baixa ordem, localizados na bacia hidrográfica do rio Tietê-Jacaré, região central do Estado de São Paulo (Figura 2). Foram selecionados quatro córregos de referência, localizados em áreas de mata preservada (Anhumas, São Vicente, Espraiado e Monjolinho) e quatro córregos em áreas de cultivo de cana-de-açúcar (Água Sumida, Bela Vista, Chibarro e São João) (Tabela 1). As coletas foram realizadas em três períodos: agosto/2018, março/2019, agosto/2019.

Figura 2 - Bacia do rio Tietê-Jacaré com a localização dos córregos de mata, em verde (Anhumas, São Vicente, Espraiado e Monjolinho) e de cana-de-açúcar, em vermelho (Água Sumida, Bela Vista, Chibarro e São João)



Fonte: Elaborada pela autora (2021).

Tabela 1 - Localização, coordenadas geográficas e uso e ocupação do solo dos córregos localizados em área de mata.

Córregos	Localização	Coordenadas	Uso e ocupação do solo
 Anhumas	Américo Brasiliense	21°43'34"S 48°01'7,6" O	Mata ciliar
 Espraiado	São Carlos	21°58'52"S 47°52'25"O	Mata ciliar
 Monjolinho	São Carlos	23°00'34"S 47°50'10"O	Mata ciliar
 São Vicente	Guarapiranga	21°59'45"S 48°15'31"O	Mata ciliar, mas com presença de cana-de-açúcar no entorno



Água Sumida

Araraquara

21°56'16"S
48°16'39"O

Cana-de-açúcar



Bela Vista

Araraquara

21°54'23"S
48°13'25"O

Cana-de-açúcar



Chibarro

Araraquara e
Ibaté

21°52'2,0"S
48°16'34"O

Cana-de-açúcar



São João

Guarapiranga

21°57'50"S
48°15'52"O

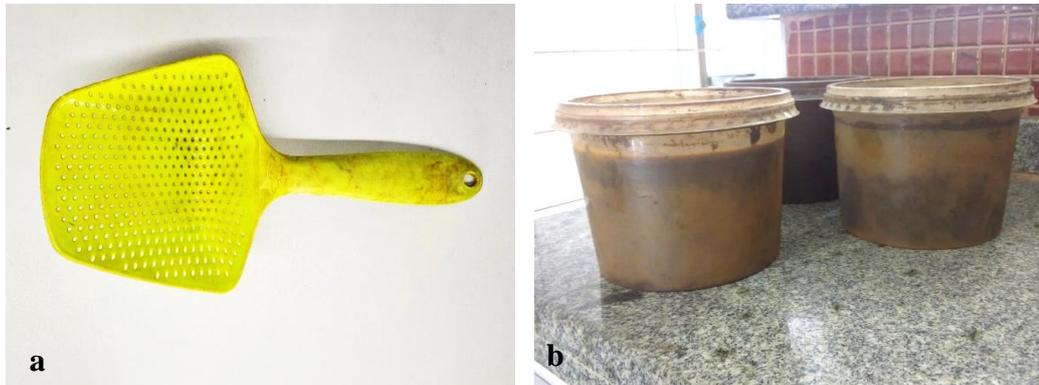
Cana-de-açúcar

4.2. Variáveis físicas e químicas da água e do sedimento

Foram realizadas medidas *in situ* das variáveis pH, condutividade elétrica, temperatura e oxigênio dissolvido da água superficial em cada período de coleta, utilizando um medidor multiparâmetro modelo Akso AK-88.

Para o sedimento foram realizadas análises de metais biodisponíveis e matéria orgânica do primeiro período de coleta (ago/2018). Para isso, o sedimento foi coletado na margem de cada córrego, em triplicata, utilizando uma espátula de plástico (devido à baixa profundidade dos córregos, não foi possível usar uma draga) (Figura 3a), acondicionado em potes plásticos (Figura 3b) e depois armazenado na geladeira em temperatura inferior a 10°C, até a realização dos testes de toxicidade (ABNT, 2015).

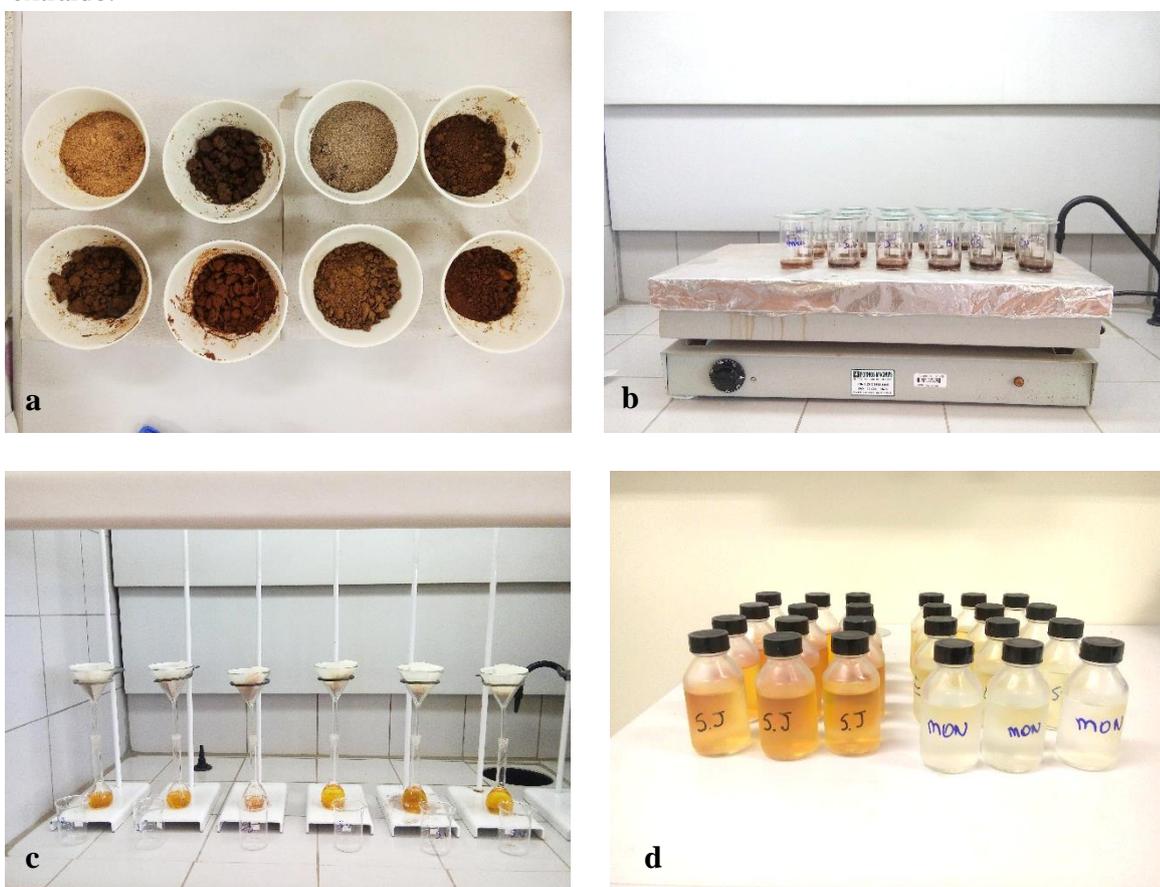
Figura 3 – a) Espátula de plástico e b) Potes de plásticos para armazenamento do sedimento.



Fonte: Imagens obtidas pela autora (2021).

Para a análise da concentração de metais, foi realizada a extração de cádmio, cobre, zinco, manganês, ferro, magnésio e alumínio dos sedimentos, conforme metodologia proposta por De Paula e Mozeto (2001). As amostras de sedimento foram secas em estufa a 60°C por 12h (Figura 4a). Após esse período, 2 g de sedimento, juntamente com 10 mL de ácido nítrico concentrado (HNO₃) e 5 mL de água deionizada foram aquecidos a 90°C por 2 h (Figura 4b). Após o aquecimento, a mistura foi arrefecida a temperatura ambiente, filtrada em filtro de papel (Figura 4c) e armazenadas em balões volumétricos de 50 mL. Posteriormente, o filtrado foi armazenado em frascos de vidro (Figura 4d) e analisado em triplicata por espectrofotometria de absorção atômica convencional (APHA, 2005).

Figura 4 - Procedimento de extração de metais: a) Secagem do sedimento em estufa a 60°C; b) Aquecimento das amostras em placa aquecedora a 90°C; c) Filtragem do material e d) Material filtrado e extraído.



Fonte: Imagens obtidas pela autora (2021).

A determinação da matéria orgânica, foi realizada pela perda de massa por ignição (incineração de 5 g do sedimento em mufla a 550 °C por um período de 4 h), segundo Carmo e Silva (2012) e os valores obtidos foram convertidos em percentuais.

O procedimento de extração de metais e determinação da matéria orgânica foi realizado no Laboratório de Ecologia de Ambientes Aquáticos (LEAA) e no Laboratório de Química. A leitura das amostras foi feita em parceria com o Laboratório de Saneamento Ambiental (LabSan) da Universidade de São Paulo (USP), São Carlos.

4.3. Macroinvertebrados aquáticos

Para a avaliação da estrutura da comunidade de macroinvertebrados aquáticos, os organismos foram coletados nos 8 córregos pelo método de varredura com auxílio de uma rede em D (malha de 0,25 mm de abertura) (Figura 5a), durante 1 minuto (FONTOURA, 1985), em um trecho de 3 m, incluindo trechos de remanso e corredeira.

As amostras foram acondicionadas em recipientes plásticos (Figura 5b) e encaminhadas ao laboratório para serem lavadas em peneira de 0,25 mm de malha, triadas em bandejas de polietileno sobre fonte luminosa (bandejas transiluminadas) e fixadas em álcool 80%. A identificação taxonômica foi realizada, com auxílio de estereoscópio, em nível de família, com base nas chaves disponíveis de McCafferty (1981), Costa et al. (2004), Mugnai et al. (2010) e Hamada et al. (2014). A classificação em grupos tróficos funcionais seguiu a metodologia de Hamada et al. (2014) e Ramírez e Gutiérrez-Fonseca (2014).

Figura 5 – a) Rede em D; b) Recipiente para acondicionamento dos macroinvertebrados aquáticos.



Fonte: Imagens obtidas pela autora (2021).

4.4. Testes de toxicidade utilizando o sedimento

Os testes de toxicidade foram realizados utilizando sedimento de oito córregos. Para a realização dos testes de toxicidade, o sedimento foi coletado, em triplicata, na margem de cada córrego e período, com auxílio de uma espátula de plástico (devido à baixa profundidade dos córregos), acondicionado em potes de plásticos e depois armazenado em temperatura inferior a 10°C na geladeira (ABNT, 2015).

Foram realizados testes de toxicidade aguda, crônica e de geração, utilizando larvas de *C. sancticaroli*, cuja criação foi realizada seguindo os métodos de manutenção recomendados por Trivinho-Strixino (1980) e Fonseca e Rocha (2004). As condições do teste foram as mesmas do cultivo das larvas, com fotoperíodo de 12h luz/12h escuro e temperatura de 24±2°C.

O teste para a determinação da sensibilidade de *C. sancticaroli*, foi realizado segundo metodologia descrita por Fonseca (1997) e OECD (2011), com cloreto de potássio (KCl). Uma solução-estoque foi preparada na concentração de 100 g KCl L⁻¹, a partir da qual foram

realizadas as diluições necessárias. Larvas de instar III ou IV foram expostas à solução-teste nas concentrações 0 (Controle), 2, 4, 6, 8 e 10 g L⁻¹. O teste foi realizado em triplicata, contendo 6 larvas em cada concentração, 240 mL de solução-teste, 60 g de areia e 5 mL de ração de peixe TetraMin®; mantido sem aeração, à temperatura de 24 ± 2°C e fotoperíodo de 12h luz/12h escuro por 96h. O número de organismos mortos foi contabilizado ao final de cada teste e a partir da concentração que causou efeito em pelo menos 50% da população (EC50 ou LC50) foi gerada a carta-controle, entre os anos 2018 e 2019. As características do teste de sensibilidade estão expressas na Tabela 2.

Tabela 2 - Parâmetros utilizados para a realização dos testes de sensibilidade.

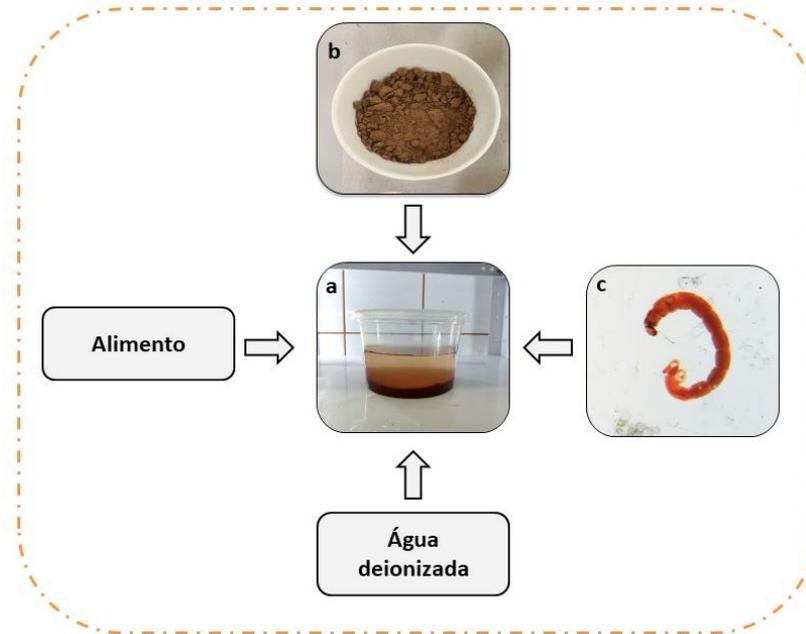
Teste de sensibilidade	
Substância de referência	KCl
Volume água	240 mL
Sedimento	60g
Exposição	96h
Organismos	6
Instar	III ou IV
Réplicas	3
Aeração	Sem aeração
Temperatura	24±2°C
Fotoperíodo	12h luz/12h escuro
Alimentação	No 1º dia
Respostas	Mortalidade

Fonte: Elaborada pela autora (2021).

O tratamento controle de todos os testes realizados foi preparado com água deionizada (240 mL), areia fina para aquário (60g) e 5 mL de alimento (solução de ração para peixe tipo Tetramin 5g L⁻¹).

Para o teste de toxicidade aguda, foram preparados potes plásticos de 500 mL em que foram adicionados: 240 mL de água deionizada, 60 g de sedimento, 5 mL de alimento e 6 larvas de *C. sancticaroli*, de instar IV, com duração de 96h (DORNFELD, 2006; FONSECA, 1997) (Figura 6).

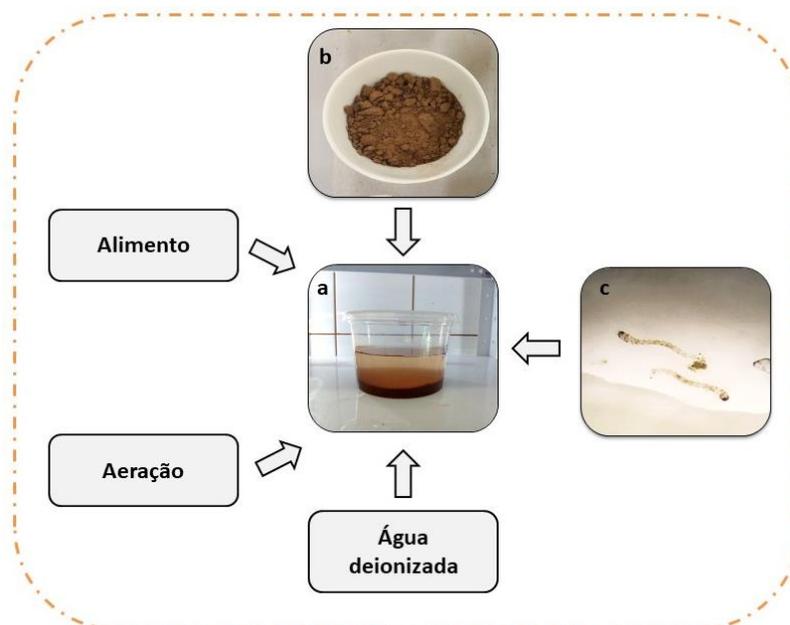
Figura 6 - Montagem do teste de toxicidade aguda: a) pote de 500 mL, b) sedimento, c) larva de *Chironomus sancticaroli*, no instar IV.



Fonte: Elaborada pela autora (2021).

Para o teste de toxicidade crônica, foram preparados potes plásticos de 500 mL em que foram adicionados: 240 mL de água deionizada, 60 g de sedimento, 5 mL de alimento, 6 larvas de *C. sancticaroli*, de instar I, aeração constante (4 mL s^{-1}), com duração de 10 dias (DORNFELD, 2006; FONSECA, 1997) (Figura 7).

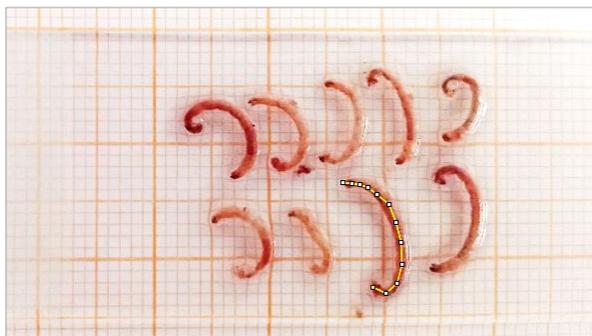
Figura 7 - Montagem do teste de toxicidade crônica: a) pote de 500 mL, b) sedimento, c) água deionizada e d) larva de *Chironomus sancticaroli*, no instar I.



Fonte: Elaborada pela autora (2021).

Após esses dois testes, foi realizada a contagem das larvas para avaliar a mortalidade. Apenas as larvas retiradas do teste crônico foram fotografadas em papel milimetrado e medidas com o auxílio do programa computacional IMAGEJ (RASBAND, 2018) para verificar o crescimento e desenvolvimento (Figura 8).

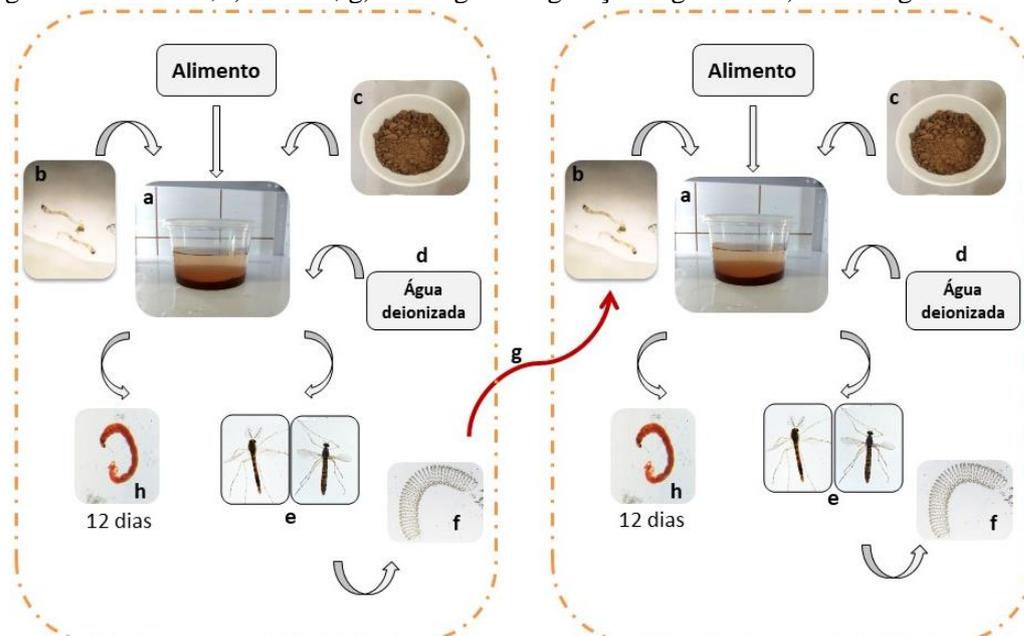
Figura 8 - Medição do comprimento das larvas de *Chironomus sancticaroli* após a exposição ao teste de toxicidade crônica.



Fonte: Elaborada pela autora (2021).

O teste de gerações foi desenvolvido conforme metodologia descrita por Bernegossi et al. (2019) com adaptações, em que 15 larvas de *C. sancticaroli*, de instar I foram expostas a 240 mL de água de cultivo, 60 g de sedimento, 5 mL de alimento (solução de Tetramin 5g L⁻¹) e aeração constante (4 mL s⁻¹) durante três gerações (P, F1 e F2). Para cada córrego, os testes com a geração F1 e F2 foram montados com as desovas produzidas na geração P e F1, respectivamente. Após o surgimento das desovas, elas foram separadas em placa Petri até a sua eclosão para a montagem da geração seguinte (Figura 9).

Figura 9 - Teste de geração: a) pote de 500 mL, b) larvas de instar I, c) sedimento, d) água deionizada, e) emergência de adultos, f) desova, g) montagem da geração seguinte e h) amostragem de larvas.



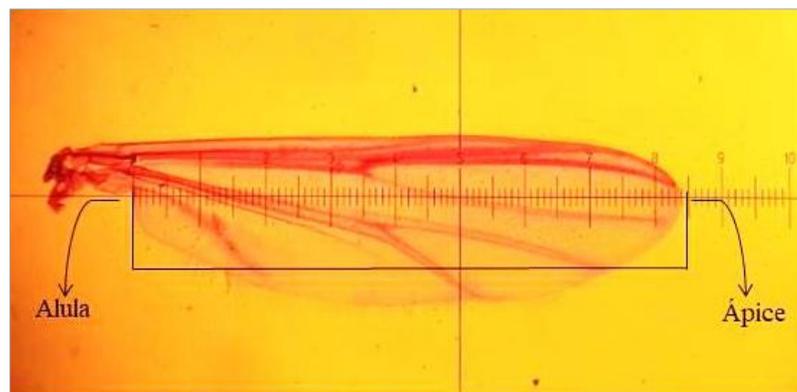
Fonte: Adaptado de Bernegossi et al. (2019).

As variáveis-resposta analisadas no teste de gerações foram comprimento das larvas, tamanho da asa das fêmeas, fecundidade potencial, emergência de adultos, emergência de machos e fêmeas.

- **Comprimento das larvas:** no 12º dia, todas as larvas vivas da 4ª réplica foram amostradas, fotografadas em papel milimetrado e medidas usando o software IMAGEJ (RASBAND, 2018), para verificar o crescimento e desenvolvimento (Figura 8).

- **Tamanho da asa:** as asas direita e esquerda das fêmeas adultas foram cuidadosamente destacadas, montadas em lâminas com Bálsamo do Canadá (Laboratório Vetec Química Fina, adquirido pela empresa Sigma-Aldrich®), coloridas com corante ácido fucsina (Marca Synth, adquirido pela empresa Sigma-Aldrich®, C.I. 42685) e medidas da alula até o ápice (Figura 10), com auxílio de uma lente graduada em microscópio óptico (modelo Quimis Q7719STK-PLK).

Figura 10 - Tamanho da asa da fêmea de *Chironomus sancticaroli*, medido da alula ao ápice.



Fonte: Elaborada pela autora (2021).

- **Fecundidade potencial:** foi determinada com base no tamanho da asa das fêmeas (TRIVINHO-STRIXINO, 1980) por meio da equação 1.

$$F = (k \times L) - m \quad (1)$$

Em que:

F = fecundidade potencial

k = constante (471,64)

L = comprimento da asa

m = constante (707,41)

- **Emergência de adultos:** a emergência foi observada e anotada diariamente a partir do surgimento do primeiro organismo adulto. O teste foi finalizado quando não havia mais larvas vivas. Os mosquitos foram removidos dos potes plásticos com o auxílio de um sugador (canudo de plástico) e armazenados em álcool isopropílico. A soma de mosquitos (machos e fêmeas) emergidos foi determinada e dividida pelo número de larvas introduzidas, desconsiderando o número de larvas amostradas no 12º dia (OECD, 2010).

- **Emergência de machos e fêmeas:** a emergência foi observada por sexo e registrada diariamente. Os machos eram diferenciados das fêmeas pela presença de antenas plumosas e de abdômen mais estreito e com margens menos definidas que a fêmea (Figura 11). A soma de mosquitos machos emergidos foi determinada e dividida pelo número de mosquitos adultos emergidos. O mesmo foi aplicado para a proporção de fêmeas (OECD, 2010).

Figura 11 – Mosquito adulto de *Chironomus sancticaroli*: a) macho, com presença de antena plumosa e abdômen estreito e b) fêmea, sem antena plumosa e abdômen mais volumoso.



Fonte: Elaborada pela autora (2021).

As características gerais dos testes de toxicidade aguda, crônica e de gerações estão descritas na tabela 3.

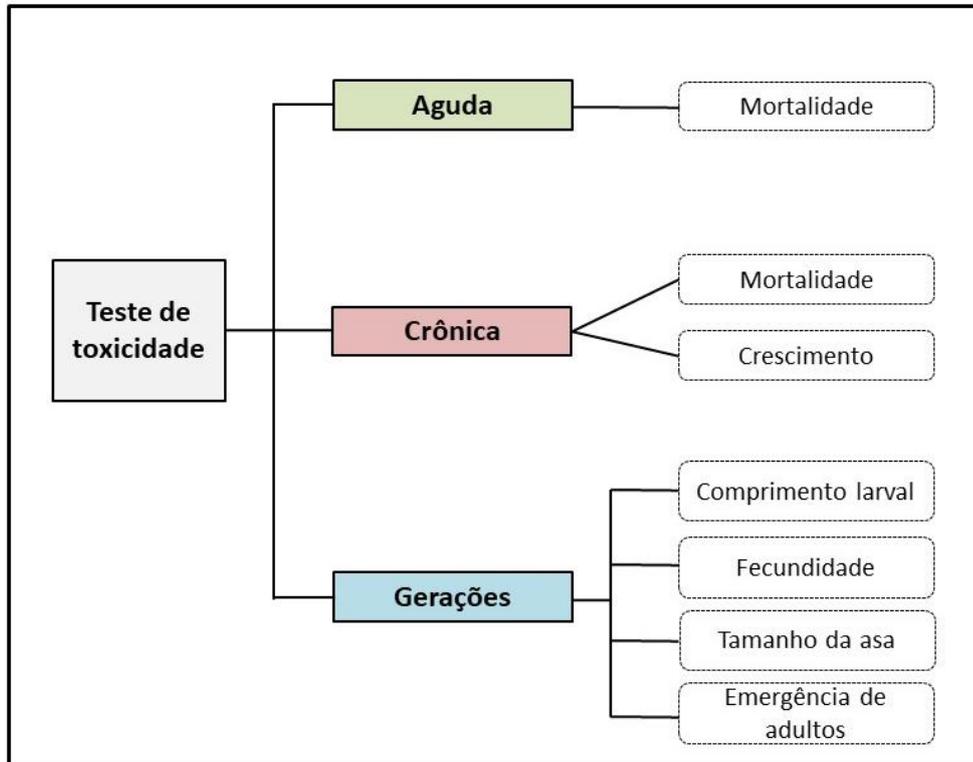
Tabela 3 - Parâmetros utilizados na realização do teste de toxicidade aguda, crônica e de gerações.

	Teste Agudo	Teste Crônico	Teste de Gerações
Volume água	240 mL	240 mL	240 mL
Sedimento	60g	60g	60g
Exposição	4d	10d	Indeterminado
Organismos	6	6	15
Instar	IV	I	I
Réplicas	3	3	4
Aeração	Sem aeração	Constante	Constante
Temperatura	24±2°C	24±2°C	24±2°C
Fotoperíodo	12h luz/12h escuro	12h luz/12h escuro	12h luz/12h escuro
Alimentação	No 1º dia	No 1º e 5º dia	Uma vez por semana

Fonte: Elaborada pela autora (2021).

As respostas ecotoxicológicas estudadas em cada teste estão detalhadas na Figura 12.

Figura 12 – Respostas ecotoxicológicas estudadas no teste de toxicidade aguda, crônica e de gerações.



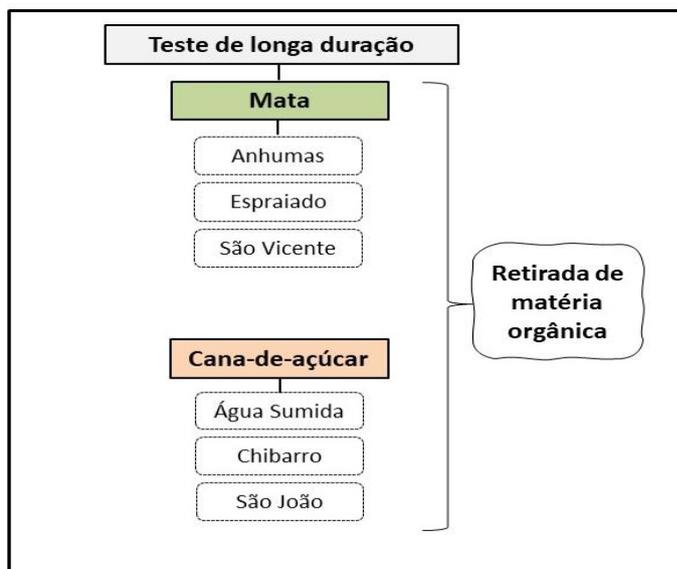
Fonte: Elaborada pela autora (2021).

4.5. Teste de toxicidade crônica de longa duração com remoção da matéria orgânica

Para verificar a influência da matéria orgânica no ciclo de vida do *C. sancticaroli*, foi realizado um experimento adicional. O sedimento foi coletado em seis córregos (Anhumas, Espriado, São Vicente, Água Sumida, Chibarro e São João), no mês de maio/2021, para a realização de um único teste de toxicidade crônica de longa duração, seguindo as mesmas condições do teste de toxicidade crônica de 10 dias, exceto pela adição de 10 larvas e a duração estendida do teste até a emergência de todos os organismos. Dessa forma, foram analisadas a mortalidade, o comprimento das larvas, o tamanho da asa, a fecundidade, a emergência de adultos e de machos e fêmeas, seguindo a metodologia descrita no item 4.4.

O teste de toxicidade crônica de longa duração consistiu em retirar a matéria orgânica do sedimento de todos os seis córregos (Figura 13). O controle foi preparado com água deionizada e areia fina para aquário.

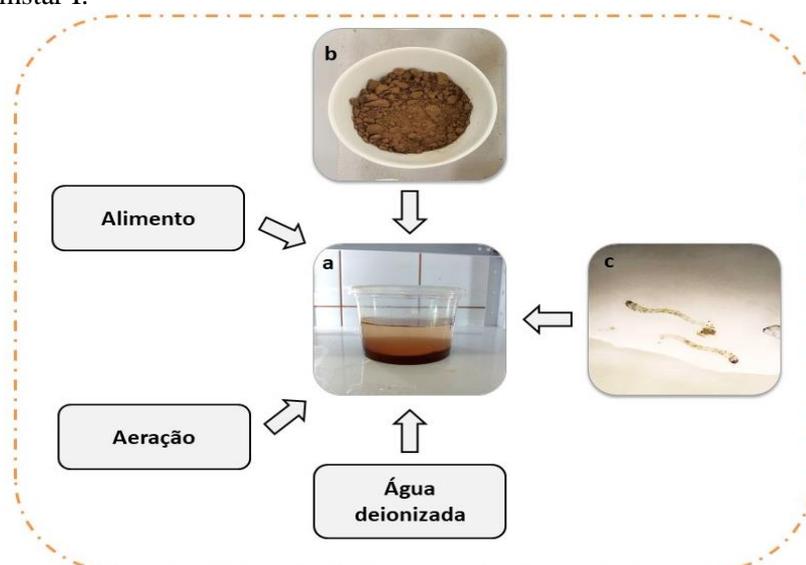
Figura 13 – Teste de longa duração com remoção da matéria orgânica.



Fonte: Elaborada pela autora (2021).

Para o procedimento de retirada de matéria orgânica dos sedimentos, uma quantidade de sedimento foi incinerada em mufla a 550 °C por um período de 4 h (CARMO e SILVA, 2012). Depois de incinerado, 60 g desse sedimento foram adicionadas a 240 mL de água deionizada, juntamente com 10 larvas de *C. sancticaroli* de instar I (Figura 14). No 10º dia, todas as larvas vivas da quarta réplica foram amostradas para verificar o crescimento e desenvolvimento. Nesse mesmo dia, foi verificada e anotada em cada tratamento a quantidade de larvas mortas, para posterior análise da mortalidade. As larvas foram cuidadosamente devolvidas aos potes e o teste foi estendido até a emergência total dos organismos.

Figura 14 - Montagem do teste de toxicidade crônica de longa duração com remoção da matéria orgânica: a) pote de 500 mL, b) sedimento incinerado na mufla a 550 °C e c) larva de *Chironomus sancticaroli*, no instar I.



Fonte: Elaborada pela autora (2021).

As características gerais de montagem do teste de toxicidade estão descritas na Tabela 4.

Tabela 4 - Parâmetros utilizados na realização do teste de toxicidade crônica de longa duração com remoção da matéria orgânica do sedimento.

Teste de toxicidade crônica de longa duração	
Volume água	240 mL
Sedimento	60g
Exposição	Indeterminado
Organismos	10
Instar	I
Réplicas	4
Alimentação	5 ml (uma vez por semana)
Aeração	Constante
Temperatura	24±2°C
Fotoperíodo	12h luz/12h escuro
Respostas	Mortalidade, crescimento, emergência, tamanho de asas, fecundidade potencial

Fonte: Elaborada pela autora (2021).

4.6. Análise dos dados

As características da comunidade de macroinvertebrados aquáticos dos córregos em estudo foram determinadas com base nos seguintes parâmetros: abundância, riqueza, porcentagem de EPT (Ephemeroptera, Plecoptera e Trichoptera), dominância, índice biótico BMWP (LOYOLA, 2000), índice de riqueza de Margalef e diversidade de Shannon, sendo os dois últimos parâmetros analisados com auxílio do programa PAST (HAMMER et al., 2001).

Para verificar se houve diferença significativa entre os tratamentos foi aplicado o teste Kruskal-Wallis, com o teste *post-hoc* de Dunn's, para os dados não paramétricos e o teste One-Way Anova, com o teste *post-hoc* de Tukey's, para os dados que seguiam uma distribuição normal, com auxílio do programa PAST (HAMMER et al., 2001) entre as séries de valores obtidos dos testes ecotoxicológicos.

Os córregos foram agrupados por uso e ocupação do solo, sendo todos os córregos de mata (Anhumas, Espraiado, Monjolinho e São Vicente) agrupados em um único tratamento, denominado "mata" e todos os córregos de cana-de-açúcar (Água Sumida, Bela Vista, Chibarro e São João), agrupados em um único tratamento, denominado "cana-de-açúcar". Para esses tratamentos, foram aplicados os mesmos testes estatísticos.

5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1. Variáveis físicas e químicas da água e do sedimento

Os valores médios obtidos para as variáveis físicas e químicas da água medidas nos córregos de mata e de cana-de-açúcar estão apresentados na Tabela 5.

O pH apresentou valores semelhantes entre as áreas de mata e de cana-de-açúcar, com pouca variação, manteve-se entorno de 6 e 7, com tendência a águas ácidas. Isso ocorre porque os córregos em estudos estão localizados em regiões de latossolos, que são solos de características ácidas, o que faz com que as águas ao seu entorno também se tornem ácidas (OLIVEIRA et al., 1999). Os valores de pH estão em conformidade com o exigido para qualidade da água, segundo a resolução do Conama nº 357/2005, que indicam a faixa ótima de pH entre 6,0 e 9,0, para a preservação da vida aquática. Os valores também foram semelhantes aos encontrados por Corbi (2006) que observou valores variando de 6 a 8 para os mesmos córregos e por Brunini et al. (2017) que encontraram valores variando de 6,8 a 7,4 para áreas de nascente com presença e ausência de mata ciliar envoltas por cultivo de cana-de-açúcar.

A condutividade elétrica variou de 10,8 a 73,7 $\mu\text{S cm}^{-1}$ e se diferenciou em ambas as áreas, sendo mais elevada nos córregos em área de cultivo de cana-de-açúcar. Essa relação foi constatada por Corbi (2006) e Harding et al. (2006) que também encontraram condutividade maior em córregos localizados em áreas de agricultura. Mosca (2003) afirma que a condutividade elétrica na água pode ser alterada devido à entrada de fertilizantes e pesticidas que acabam aumentando as concentrações de íons nos corpos d'água e os mesmos podem ser reduzidos e absorvidos com a presença de mata ciliar (TUNDISI; MATSUMURA-TUNDISI, 2008). Apesar da condutividade do córrego São Vicente ter sido mais alta que os demais córregos, os valores estão dentro da faixa de 10 a 100 $\mu\text{S cm}^{-1}$ estabelecida por Von Sperling (2007) para a classificação de águas naturais.

A temperatura não apresentou valores diferentes em relação ao uso e ocupação do solo, os valores foram semelhantes em ambas as áreas, variando de 19°C para o córrego Espriado a 24°C para Bela Vista, devido a horários diferentes que as coletas foram feitas em cada córrego. Por outro lado, Corbi (2006) observou diferença em relação ao uso e ocupação do solo, em que áreas de mata ciliar apresentaram temperaturas mais baixas que áreas de cana-de-açúcar, devido ao sombreamento da copa das árvores sobre a água dos córregos.

As concentrações de oxigênio dissolvido indicaram condições de oxigenação mais elevadas para os córregos de mata em relação aos córregos de cana-de-açúcar, com valores

variando de 5,7 a 8,0 mg L⁻¹. O valor de oxigênio dissolvido do córrego São Vicente se diferenciou dos demais córregos de mata por se tratar de um ambiente localizado em mata fechada, com ausência de luz solar e grande acúmulo de matéria orgânica em decomposição, que faz diminuir as concentrações de oxigênio dissolvido. Valores semelhantes para o mesmo córrego foram encontrados por Corbi e Trivinho-Strixino (2008), variando de 5,2 a 6,3 mg L⁻¹. Para os córregos em área de cana-de-açúcar, as concentrações de oxigênio dissolvido indicaram baixos valores, exceto para Chibarro que teve oxigênio dissolvido de 6,0 mg L⁻¹, por apresentar maior circulação da água (2,0 m s⁻¹) e maior largura do canal (2,0 m) que os demais córregos (CORBI; TRIVINHO-STRIXINO, 2008), gerando assim uma maior oxigenação da água. Nos córregos de cana-de-açúcar, a baixa concentração de oxigênio dissolvido está relacionada ao maior consumo de matéria orgânica, como exemplo, os restos vegetais da cana-de-açúcar proveniente dos solos e do cultivo (SILVEIRA, 2004) e em outros casos, como nos córregos Bela Vista e São João, à menor correnteza da água, que apresentou velocidade de 0,8 m s⁻¹ em ambos os córregos (CORBI; TRIVINHO-STRIXINO, 2008). Os valores obtidos ficaram abaixo dos limites estabelecidos pela Resolução Conama nº 357/05, que recomenda não ser inferior a 5,0 mg L⁻¹ para águas doces de classe 2.

Tabela 5 - Caracterização ambiental: valores médios de pH, temperatura, condutividade elétrica e oxigênio dissolvido da água dos córregos de mata (Anhumas, Espraiado, Monjolinho e São Vicente) e de cana-de-açúcar (Água Sumida, Bela Vista, Chibarro e São João).

Córregos	pH	Condutividade Elétrica (µS cm⁻¹)	Temperatura (°C)	Oxigênio Dissolvido (mg L⁻¹)
Anhumas	7,5 ± 0,9	30,6 ± 8,8	22,0 ± 3,7	8,0 ± 0,4
Espraiado	6,8 ± 0,1	10,8 ± 0,7	19,0 ± 2,3	7,1 ± 0,4
Monjolinho	6,6 ± 0,0	14,3 ± 1,0	21,7 ± 1,3	7,4 ± 0,3
São Vicente	6,7 ± 0,3	73,7 ± 5,1	22,7 ± 1,6	5,7 ± 0,6
Água Sumida	6,0 ± 0,2	48,3 ± 15,1	22,1 ± 2,7	3,8 ± 0,7
Bela Vista	6,2 ± 0,5	18,3 ± 9,0	24,0 ± 6,1	4,1 ± 0,2
Chibarro	7,1 ± 0,5	46,0 ± 7,5	22,9 ± 3,8	6,0 ± 0,4
São João	6,1 ± 0,2	39,6 ± 17,8	22,7 ± 3,3	0,6 ± 0,1

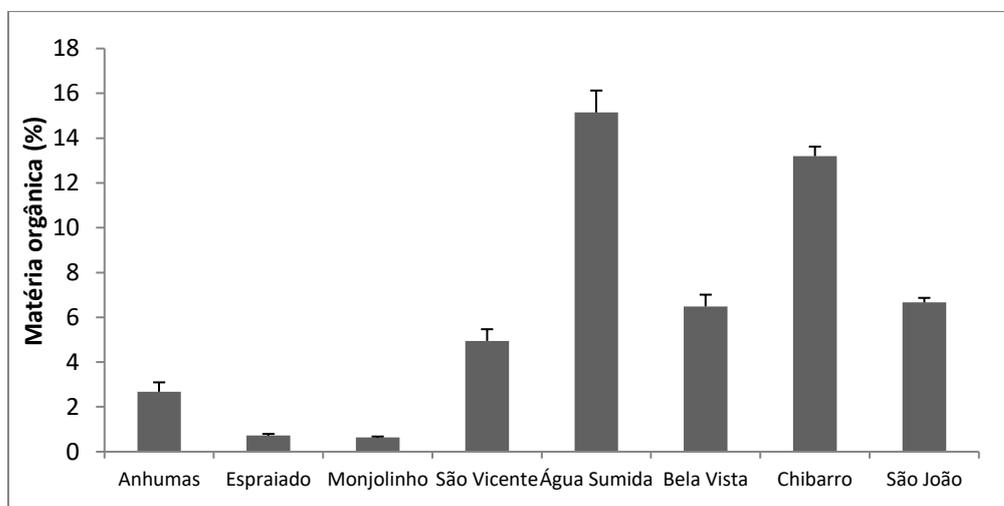
Fonte: Elaborada pela autora (2021).

Assim sendo, as variáveis físicas e químicas (pH, condutividade elétrica, temperatura e oxigênio dissolvido) da água dos córregos de mata e de cana-de-açúcar estiveram dentro dos padrões estabelecidos pela Resolução Conama nº 357/05.

A porcentagem média e o desvio padrão de matéria orgânica do sedimento dos córregos realizada na primeira coleta (ago/2018) estão apresentados na Figura 15. Nota-se que foi baixa a porcentagem de matéria orgânica nos córregos de áreas de mata, variando de 0,63% para Monjolinho a 5% para São Vicente. Estudos realizados por Costa (2015) mostraram que a concentração de matéria orgânica em sedimento de ambientes preservados também foi menor (variando de 4 a 5%) comparada com áreas agrícolas, como cana-de-açúcar (9%) e café (variando de 16 a 21%).

Para os córregos em áreas de cana-de-açúcar, a porcentagem de matéria orgânica teve máxima de 15% em Água Sumida e mínima de 6,5% em Bela Vista, porém, foi maior que nos córregos de mata. Corbi e Trivinho-Strixino (2008) e Costa (2018) também encontraram valores semelhantes nas áreas de cultivo de cana-de-açúcar, variando entre 3% e 15%, para os mesmos córregos em estudo. Fernandes (2007) também constatou essa diferença em relação ao uso do solo, em que as maiores porcentagens de matéria orgânica contida no sedimento foram encontradas em ambientes submetidos à agricultura.

Figura 15 - Porcentagem média e desvio padrão de matéria orgânica dos córregos de mata (Anhumas, Espiraiado, Monjolinho e São Vicente) e de cana-de-açúcar (Água Sumida, Bela Vista, Chibarro e São João).



Fonte: Elaborada pela autora (2021).

Nos sistemas aquáticos, a matéria orgânica dos sedimentos está relacionada com as condições do entorno do corpo hídrico, como a presença de restos de vegetais e animais em decomposição, substâncias carreadas pelo escoamento superficial e as características do solo formador do sedimento (SANTIAGO; CUNHA-SANTINO, 2014). Em ambientes de cabeceiras de baixa ordem, como no caso dos córregos situados em área de mata, a matéria orgânica é alóctone, proveniente dos galhos, folhas, troncos, frutas, flores e sementes da

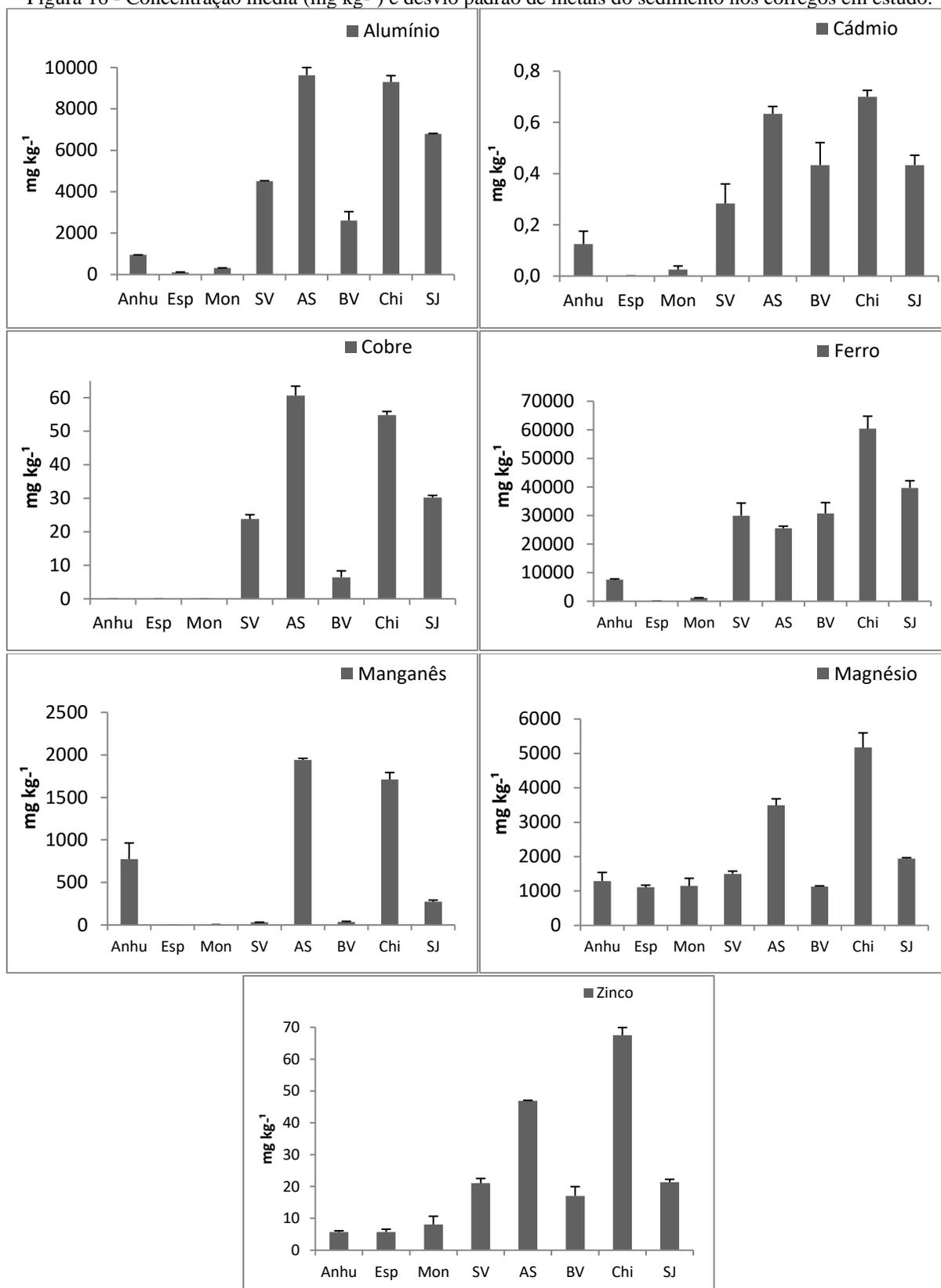
vegetação ciliar, sendo fonte de alimento para os organismos aquáticos (TREVISAN; HEPP, 2007). Parte da matéria orgânica que entra nos ambientes de cabeceira é processada pelos organismos e outra parte sofre o processo de lavagem e carreamento para a jusante, ao longo do córrego (FRANÇA et al., 2006).

Nos trechos médios dos rios, como no caso dos córregos em áreas de cana-de-açúcar, além da matéria orgânica não processada pelos organismos à montante dos córregos, tem-se a entrada dos resíduos vegetais do cultivo da cana-de-açúcar, dos pesticidas e dos fertilizantes, que com a retirada da mata ciliar para o plantio contribuem para o aumento da concentração de matéria orgânica nesses córregos.

A baixa porcentagem de matéria orgânica nos córregos também está relacionada com a granulometria do solo. Vários córregos da região central do Estado de São Paulo estão localizados em áreas de Cerrado e apresentam leitos arenosos (ROQUE; TRIVINHO-STRIXINO, 1999; FREIRE; GESSNER, 2002). Os solos arenosos apresentam em média 70% de areia em sua composição, o que os tornam mais permeáveis e com baixa capacidade de retenção da matéria orgânica (CENTENO et al., 2017). Corbi e Trivinho-Strixino (2008) e Costa (2018) indicaram a predominância de areia no sedimento dos mesmos córregos estudados.

Na Figura 16 está apresentada as concentrações médias de metais do sedimento dos córregos analisadas na primeira coleta (ago/2018) em mg kg^{-1} . As concentrações de metais foram diferentes de acordo com o uso e ocupação do solo, sendo que, no geral, os córregos em área de cana-de-açúcar apresentaram maiores concentrações de metais comparados com os córregos em áreas de mata. Estudos anteriores realizados nos mesmos córregos (CORBI et al., 2006; 2008; 2018) confirma essa relação, sendo que também foram identificadas presença de metais no sedimento (cádmio, zinco, cromo, níquel, manganês, cobre e ferro) e de alguns pesticidas (Beta BHC, Aldrin, Endrin e Endosulfan).

Cabe ressaltar que o Estado de São Paulo é o maior produtor de cana-de-açúcar do país e que essa cultura foi considerada a segunda que mais utilizou pesticidas no ano de 2017 (SINDIVEG, 2018; CONAB, 2021), fato que contribui ainda mais para as elevadas concentrações desses compostos nos corpos de água. Por outro lado, nos córregos de mata, a presença de metais foi baixa, pois a mata ciliar desempenha um papel fundamental como barreira protetora, filtrando esses compostos para que não cheguem aos corpos de água ou que cheguem em concentrações reduzidas.

Figura 16 - Concentração média (mg kg⁻¹) e desvio padrão de metais do sedimento nos córregos em estudo.

(*) Mata: Anhu=Anhumas; Esp=Espraiado; Mon=Monjolinho; SV=São Vicente; Cana-de-açúcar: AS= Água Sumida; BV=Bela Vista; Chi=Chibarro e SJ=São João. Fonte: Elaborada pela autora (2021).

O teste estatístico de Kruskal-Wallis apontou diferença estatística ($p < 0,05$) das concentrações de todos os metais entre as áreas de cana-de-açúcar e de mata, exceto para o ferro que não apresentou diferença, com valor de $p = 0,205$.

As concentrações de alumínio foram elevadas, variando de $109,42 \text{ mg kg}^{-1}$ a $4.511,67 \text{ mg kg}^{-1}$ para os córregos de mata e de $2.612,50 \text{ mg kg}^{-1}$ a $9.628,33 \text{ mg kg}^{-1}$ para os córregos de cana-de-açúcar. Para esse metal, não existem valores orientadores em solos e sedimentos, mas a sua presença pode estar relacionada com as características dos latossolos, que são os solos predominantes nas bacias hidrográficas do estado de São Paulo e que contém em sua composição óxidos de alumínio (OLIVEIRA et al., 1999; DOS SANTOS et al, 2018). Concentrações menores de alumínio no sedimento foram encontradas por estudos anteriores nos mesmos córregos em áreas de cana-de-açúcar. Apesar disso, sua presença foi identificada em insetos aquáticos, o que mostra seu potencial de acumular nos organismos (CORBI et al., 2008; 2010; 2011).

As concentrações de cádmio detectadas foram baixas em todos os córregos, variando de $0,0$ a $0,7 \text{ mg kg}^{-1}$, porém, sendo maior nos córregos de cultivo agrícola. No córrego Espreado, não foi detectado concentrações deste metal. Os valores estiveram dentro dos limites estabelecidos para o solo ($1,3 \text{ mg kg}^{-1}$) e os sedimentos (entre $0,6$ a $3,5 \text{ mg kg}^{-1}$) (BRASIL, 2009; 2012). O cádmio é considerado um metal tóxico, não essencial aos organismos e com alto potencial de bioacumulação (OCHIAI, 1995). Dornfeld (2006) verificou a redução da sobrevivência, menor tamanho do corpo e cápsula cefálica e atraso de emergência em *Chironomus xanthus* expostos a concentração de $70 \mu\text{g L}^{-1}$ de cádmio. Em valores considerados seguros para a biota aquática ($0,6 \text{ mg kg}^{-1}$ de cádmio) pela legislação nacional, Rodrigues (2011) verificou o comprometimento da sobrevivência e reprodução em *Ceriodaphnia silvestrii*, efeitos na sobrevivência, biomassa e morfologia do mento em *C. xanthus* e comprometimento na morfologia de brânquias em *Danio rerio*.

As concentrações de cobre foram baixas e estiveram dentro dos limites estabelecidos para o solo (60 mg kg^{-1}) e os sedimentos (entre $35,7$ a 197 mg kg^{-1}) (BRASIL, 2009; 2012). Nos córregos de mata, o cobre foi detectado somente em São Vicente ($23,78 \text{ mg kg}^{-1}$) e nos córregos de cana-de-açúcar, as concentrações variaram de $6,44$ a $60,65 \text{ mg kg}^{-1}$. Concentrações semelhantes também foram encontradas por Ramalho et al. (2000) e Souto et al. (2019) em sedimento de córregos sob influência da agricultura, que observaram valores variando de $3,0$ a 64 mg kg^{-1} e de 15 a 32 mg kg^{-1} de cobre, respectivamente.

O ferro foi encontrado em concentrações elevadas em todos os córregos, variando de 85,4 a 60.387,5 mg kg⁻¹. Embora não haja limites específicos nas legislações, sua alta concentração está relacionada com o tipo de solo da bacia hidrográfica, que segundo Oliveira et al. (1999), no estado de São Paulo tem como solo predominante, o latossolo, que contém óxidos de ferro em sua composição (DOS SANTOS et al., 2018). O ferro não é considerado tóxico, é essencial aos organismos em pequenas concentrações e está presente na hemoglobina de alguns insetos aquáticos, tais como os *Chironomus* (CORBI et al., 2018).

Para o manganês, as concentrações variaram de 0,5 a 775 mg kg⁻¹ nos córregos de mata e de 35,6 a 1.941,6 mg kg⁻¹ nos córregos de cana-de-açúcar. Na legislação não há valores de referência para esse metal, pois o manganês é um elemento típico do solo que pode ser encontrado em diferentes concentrações e solos da região do Cerrado, como no caso do estado de São Paulo, são ricos desse metal (MARQUES et al., 2004).

As maiores concentrações de magnésio foram observadas no córrego Chibarro (5.169,7 mg kg⁻¹) e Água Sumida (3.491,2 mg kg⁻¹), ambos córregos localizados em áreas de cana-de-açúcar. Nos demais córregos, as concentrações ficaram abaixo de 2.000 mg kg⁻¹ de magnésio. Corbi et al. (2013) encontraram valores mais baixos de magnésio em áreas de cultivo de banana, variando entre 359 e 455 mg kg⁻¹. Por outro lado, nas áreas de mata, as concentrações nos sedimentos foram menores, variando de 54 a 287 mg kg⁻¹. Esse metal também não possui valores de referência na legislação, mas é frequentemente utilizado na agricultura na correção do pH de solos ácidos e como fertilizantes (FREIRE et al., 2013).

Nas áreas de mata, as concentrações de zinco variaram de 5,68 mg kg⁻¹ em Anhumas a 21,03 mg kg⁻¹ em São Vicente. Nas áreas de cana-de-açúcar, as maiores concentrações foram encontradas nos córregos Chibarro (67,52 mg kg⁻¹) e Água Sumida (46,89 mg kg⁻¹). Na forma natural, o zinco ocorre na natureza por meio dos processos de erosão, incêndios florestais e erupções vulcânicas. Como resultado de atividades antropogênicas, o zinco entra no ambiente por meio dos fertilizantes, pesticidas, mineração, queima de carvão, medicamentos e cosméticos (AZEVEDO; CHASIN, 2003). No solo, o valor de prevenção é de 300 mg kg⁻¹ (BRASIL, 2009) e no sedimento, as concentrações podem variar de 123 a 315 mg kg⁻¹ (BRASIL, 2012). As concentrações de zinco encontradas para os córregos em estudo estão dentro dos valores orientadores de ambas as resoluções.

Assim sendo, as concentrações de metais foram mais elevadas no sedimento dos córregos localizados em áreas de cultivo de cana-de-açúcar, apesar disso, os valores estiveram dentro dos padrões estabelecidos pela Resolução Conama n° 420/2009 e n° 454/2012. Os

resultados atuais das concentrações de metais foram semelhantes aos encontrados por estudos anteriores (CORBI et al., 2008; 2018).

Uma vez introduzidos no ambiente, os metais podem ser lixiviados para o meio aquático e ficar distribuídos entre a camada de água e o sedimento, sendo a maior parte, aderida ao sedimento (VAROL; ŞEN, 2012). Nos sedimentos, os metais sofrem várias transformações que alteram sua mobilidade, podendo se associar à matéria orgânica, permanecer na forma de íons livres ou transformar em formas mais ou menos tóxicas (ZAGATTO; BERTOLETTI, 2008). A matéria orgânica apresenta alta superfície de contato, o que a torna ideal e com alta capacidade de se ligar aos metais (WARREN; ZIMMERMAN, 1994). Nota-se, que os córregos que tiveram maior porcentagem de matéria orgânica foram os que apresentaram maiores concentrações de metais. Coquery e Welbourn (1995) e Lin e Chen (1998) também observaram correlação positiva entre a concentração de metais e os teores de matéria orgânica.

Os metais têm o potencial de bioacumulação (concentração de poluentes nos tecidos dos organismos) e biomagnificação (aumento da concentração de poluentes em níveis tróficos superiores), visto que muitos organismos vivem em contato direto com o sedimento ou se alimentam desse (ZAGATTO; BERTOLETTI, 2008). Alguns metais como o magnésio, cobalto, cobre, manganês, molibdênio, zinco e ferro são essenciais para organismos desempenharem suas funções vitais, mas outros como o mercúrio, chumbo, cádmio, cromo e níquel são considerados tóxicos e não têm função biológica conhecida nos organismos (ESTEVES, 2011). Estudos recentes na mesma área de estudo, detectaram concentrações de ferro, manganês, magnésio, cobre, alumínio, zinco em ninfas de libélulas e adultos de Belostomatidae (CORBI, 2020). Manfrin et al. (2019) encontraram elevados teores de cádmio ($3,11 \text{ mg kg}^{-1}$), chumbo ($144,28 \text{ mg kg}^{-1}$) e cromo ($146,14 \text{ mg kg}^{-1}$) nos tecidos de macroinvertebrados aquáticos, sendo as concentrações de cromo muito mais elevadas nos organismos aquáticos que nos sedimentos, fato que mostra a alta bioacumulação dos metais. Razavi et al. (2019) mostraram que o mercúrio foi se acumulando e aumentando suas concentrações ao longo da cadeia trófica, passando do perifíton para os macroinvertebrados e se depositando em maiores concentrações nos peixes.

A exposição dos organismos aquáticos aos metais pode causar diminuição da diversidade e riqueza e provocar modificações na sua estrutura e distribuição, sendo os macroinvertebrados os mais afetados pela contaminação por metais, devido à sensibilidade às alterações no ambiente (GRUMIAUX et al., 1998; HEPP et al., 2010; BRUNO et al., 2022). Em ambientes mais impactados, as espécies sensíveis, como Ephemeroptera, Plecoptera e

Trichoptera, tendem a diminuir, enquanto as espécies mais tolerantes, como Chironomidae e Oligochaeta, tendem a aumentarem (HAMADA et al., 2014). Schultheis et al. (1997) verificaram redução da riqueza taxonômica e o número de indivíduos de macroinvertebrados aquáticos em ambiente contaminado por cobre e a diminuição das taxas de decomposição das folhas nos locais contaminados, sendo de 1,4 a 2,7 vezes mais lentas do que no local de referência. Niyogi et al. (2013) verificaram que em locais contaminados por metais a capacidade de fragmentação da matéria orgânica pelos organismos trituradores foi reduzida.

Os metais também podem persistir por longos períodos no ambiente (NHAN et al., 2002). Um estudo comparativo da série histórica de contaminação de metais nos sedimentos de córregos localizados próximos às áreas de cana-de-açúcar, realizado entre 2006 e 2016, mostrou que depois de dez anos de monitoramento, alguns metais, como o cádmio ainda persistia no sedimento e outros, como o zinco e o cromo, foram reduzindo suas concentrações (CORBI et al., 2018).

Nesse sentido, o monitoramento de metais é de fundamental importância na manutenção da qualidade dos ecossistemas aquáticos, visto que, nos últimos anos, suas concentrações têm aumentado com a intensificação do crescimento populacional e das atividades antrópicas, principalmente a agricultura com o exagerado uso de pesticidas e fertilizantes, ameaçando não só a biota aquática, mas também a saúde humana. Cabe ressaltar ainda, a importância da preservação da vegetação ciliar no processo de filtragem e barragem dos produtos lixiviados de áreas do cultivo agrícolas.

5.2. Macroinvertebrados aquáticos

A comunidade de macroinvertebrados aquáticos identificada nos córregos de mata e de cana-de-açúcar está apresentada na Tabela 6. Foi encontrado um total de 3.331 organismos, distribuídos em 9 ordens e 40 famílias.

As Ordens Trichoptera e Ephemeroptera tiveram maior abundância nos córregos situados em áreas de mata ciliar preservada, sendo as famílias Hydropsychidae, Calamoceratidae, Odontoceridae (Trichoptera) e Leptophlebiidae (Ephemeroptera), exclusivas dessas áreas. As famílias Leptoceridae, Hydroptilidae e Polycentropodidae (Trichoptera), Baetidae e Leptohiphidae (Ephemeroptera) também estiveram presentes nos córregos de cana-de-açúcar. As larvas de Plecoptera foram encontradas somente nos córregos de mata.

As demais Ordens (Odonata, Coleoptera, Diptera, Lepidoptera, Hemiptera) e Classe Oligochaeta foram amplamente distribuídas nas duas áreas. As ordens Odonata e Hemiptera tiveram maior abundância nos córregos de mata e as Ordens Coleoptera e a Classe Oligochaeta, nos córregos de cana-de-açúcar. Da ordem Diptera, a família mais representativa foi de Chironomidae (composta pelas subfamílias Tanypodinae, Chironominae e Orthoclaadiinae), sendo encontrada em todos os córregos, correspondendo a 51% do total de organismos. A família Ceratopogonidae também foi encontrada em todos os córregos e as famílias Empididae, Tabanidae, Dixidae, Simuliidae, Psychodidae e a subfamília Orthoclaadiinae foram exclusivas dos córregos localizados em área de mata. As famílias Culicidae, Chaoboridae e Syrphidae ocorreram somente nos córregos situados em áreas de cana-de-açúcar.

Tabela 6 - Comunidade de macroinvertebrados aquáticos dos córregos de mata e de cana-de-açúcar representada por grupos taxonômicos.

Grupo taxonômico	*Anhu	*Esp	*Mon	*SV	**AS	**BV	**Chi	**SJ
Trichoptera								
Calamoceratidae	-	16	-	2	-	-	-	-
Hydroptilidae	99	-	9	-	45	4	-	-
Hydropsychidae	7	2	3	-	-	-	-	-
Leptoceridae	2	42	2	-	-	1	3	-
Polycentropodidae	8	-	-	-	-	-	13	-
Odontoceridae	-	2	-	-	-	-	-	-
Ephemeroptera								
Baetidae	5	25	99	-	-	-	23	-
Leptohyphidae	4	-	-	-	-	3	6	-
Leptophlebiidae	-	21	-	-	-	-	-	-
Plecoptera								
Gripopterygidae	-	14	72	-	-	-	-	-
Perlidae	-	3	-	-	-	-	-	-
Odonata								
Aeshnidae	-	2	3	-	-	-	-	-
Calopterygidae	2	-	1	-	-	-	4	-
Coenagrionidae	13	1	24	2	3	8	25	1
Gomphidae	-	-	1	12	-	-	-	-
Libellulidae	11	-	30	24	7	46	-	1
Protoneuridae	-	1	-	-	-	-	-	-
Coleoptera								
Noteridae	-	-	-	-	-	10	-	-
Scirtidae	-	-	-	-	-	37	-	1
Dytiscidae	3	1	-	1	7	8	1	5
Hydrophilidae	-	-	-	-	1	14	-	3
Gyrinidae	-	-	4	-	-	-	-	-
Dryopidae	-	-	-	1	3	-	-	-
Elmidae	-	4	-	-	-	-	-	-

Diptera								
Ceratopogonidae	13	3	13	13	8	7	6	4
Chaoboridae	-	-	-	-	-	5	-	-
Culicidae	-	-	-	-	-	-	-	3
Empididae	-	-	1	-	-	-	-	-
Dixidae	-	10	54	-	-	-	-	-
Simuliidae	1	-	43	-	-	-	-	-
Syrphidae	-	-	-	-	-	-	-	1
Psychodidae	3	-	-	-	-	-	-	-
Tabanidae	-	1	1	-	-	-	-	-
Tanypodinae	340	80	135	36	3	68	47	6
Chironominae	98	94	249	32	200	112	54	145
Orthoclaadiinae	-	1	1	-	-	-	-	-
Lepidoptera	1	1	4	-	3	1	1	-
Hemiptera								
Belostomatidae	3	1	1	5	3	5	-	8
Corixidae	-	-	-	-	-	3	-	-
Hebridae	-	3	-	-	-	1	-	1
Naucoridae	-	2	-	-	-	-	-	-
Pleidae	-	127	-	-	-	1	-	-
Veliidae	-	1	-	-	-	-	-	-
Oligochaeta	47	-	2	77	28	150	90	8
Total	660	459	752	205	311	484	273	187

(*) Mata ciliar: Anhu=Anhumas; Esp=Espiraado; Mon=Monjolinho; SV=São Vicente;

(**) Cana-de-açúcar: AS= Água Sumida; BV=Bela Vista; Chi=Chibarro e SJ=São João. Fonte: Elaborada pela autora (2021).

As métricas comunitárias estão apresentadas na Tabela 7. Os córregos localizados em áreas de mata ciliar preservada apresentaram maior riqueza faunística em relação aos córregos em áreas de cana-de-açúcar, com número de táxons variando de 11 a 25 e número de famílias variando de 9 a 22. Pode-se observar também a maior presença do grupo EPT nos córregos em áreas de mata, variando de 1 a 27%, enquanto nos córregos de cana-de-açúcar, variaram de 0 a 16%. Os índices de diversidade e riqueza foram mais elevados para os córregos em áreas de mata ciliar, variando de 1,62 a 2,17 para a Diversidade de Shannon e de 1,88 a 4,08 para a Riqueza de Margalef. Nos córregos de cana-de-açúcar, a menor diversidade de Shannon foi de 1,03 para o córrego São João e a maior foi de 2,03 para o córrego Bela Vista. A riqueza de Margalef variou de 1,92 a 2,91.

Em relação à qualidade da água, no geral, o índice BMWP apontou para qualidade excelente nos córregos de mata e qualidade regular nas áreas agrícolas. No córrego São Vicente, apesar de estar localizado em área de mata, a proximidade com a cultura de cana-de-açúcar

pode ter influenciado nos menores valores de riqueza e diversidade de organismos e na qualidade ruim da água.

Tabela 7 - Métricas comunitárias dos córregos de mata ciliar preservada e de cana-de-açúcar.

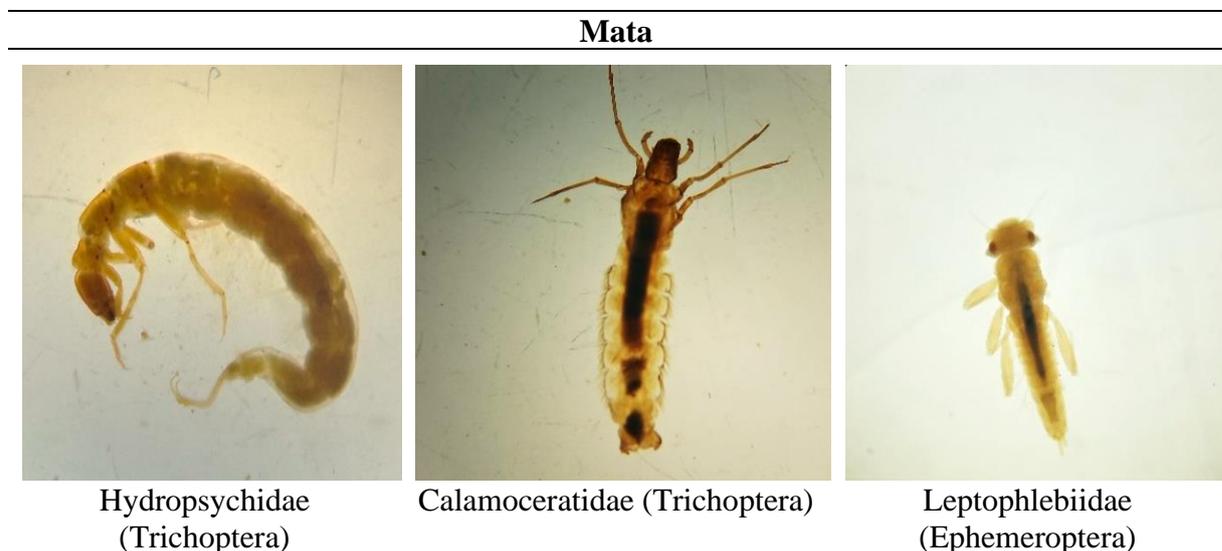
	*Anhu	*Esp	*Mon	*SV	**AS	**BV	**Chi	**SJ
Número de Táxons	18	25	22	11	12	19	12	13
Número de famílias	15	22	18	9	9	16	9	11
Abundância	660	459	752	205	311	484	273	187
Dominância	0,32	0,17	0,18	0,22	0,44	0,19	0,20	0,61
Diversidade Shannon	1,62	2,17	2,06	1,79	1,29	2,03	1,88	1,03
Riqueza Margalef	2,62	4,08	3,17	1,88	1,92	2,91	1,96	2,29
% EPT	19	27	25	1	14	2	16	0
BMWP	86	120	102	36	43	71	53	47
BMWP	Excelente	Excelente	Excelente	Ruim	Regular	Boa	Regular	Regular

(*) Mata ciliar: Anhu=Anhumas; Esp=Espraiado; Mon=Monjolinho; SV=São Vicente;

(**) Cana-de-açúcar: AS= Água Sumida; BV=Bela Vista; Chi=Chibarro e SJ=São João. Fonte: Elaborada pela autora (2021).

Exemplos de alguns macroinvertebrados aquáticos coletados nas áreas de mata (Figura 17) e nas áreas de cultivo de cana-de-açúcar (Figura 18).

Figura 17 – Exemplos de macroinvertebrados aquáticos encontrados nos córregos de mata.





Gripopterygidae
(Plecoptera)



Dixidae (Diptera)



Simuliidae (Diptera)

Fonte: Imagens obtidas pela autora (2021).

Figura 18 - Exemplos de macroinvertebrados aquáticos encontrados nos córregos de cana-de-açúcar.

Cana-de-açúcar



Libellulidae (Odonata)



Coenagrionidae (Odonata)



Belostomatidae (Hemiptera)



Dytiscidae (Coleoptera)



Chironomidae (Diptera)



Ceratopogonidae (Diptera)

Fonte: Imagens obtidas pela autora (2021).

A composição da comunidade de macroinvertebrados aquáticos foi diferente entre os usos do solo, sendo possível perceber a influência do cultivo de cana-de-açúcar na comunidade, que foi mais bem representada pelos córregos localizados em áreas de mata. Os resultados são correspondentes aos encontrados por Corbi e Trivinho-Strixino (2006, 2008) para a mesma área de estudo. Suriano (2008), Hepp et al. (2010), Egler et al. (2012) e Fierro et al. (2019) compararam a estrutura da comunidade de macroinvertebrados aquáticos em áreas agrícolas e conservadas e também observaram redução da fauna em relação as mudanças do uso do solo.

Um dos principais fatores que influencia a estrutura e a composição da comunidade aquática em relação aos usos do solo é a presença de mata ciliar (WOOSTER; DEBANO, 2006) e vários estudos demonstraram sua importância para os organismos aquáticos (LIMA et al., 2005; CORBI; TRIVINHO-STRIXINO, 2008; KLEINE et al., 2011; DODDS et al., 2017; PADILHA; CARDOSO, 2018). Souto et al. (2020) observaram que a presença de mata ciliar bem preservada protegeu a comunidade de macroinvertebrados aquáticos e contribuiu para minimizar os impactos da agricultura e pecuária sobre os organismos. Masese et al. (2014) afirmam que a substituição de vegetação ripária por espécies exóticas de baixa qualidade nutricional, tais como o eucalipto e a cana-de-açúcar, muda o funcionamento dos córregos, aumenta a luz disponível, estimulando a produção de algas e reduz a taxa de organismos fragmentadores de matéria orgânica grossa e o processo de ciclagem de nutrientes, tornando as teias alimentares mais dependentes do processamento microbiano da serapilheira.

A mata ciliar é responsável por fornecer alimento e abrigo para a fauna por meio da serapilheira, e o sombreamento da copa das árvores contribui para a estabilidade térmica do meio, mantendo a água mais fresca. Além disso, a mata ciliar regula as transferências de energia e nutrientes entre o ecossistema terrestre e o aquático, reduz o processo de erosão das margens, o assoreamento do leito dos córregos e a entrada de poluentes para o meio aquático, fatores estes que contribuem para a manutenção da qualidade da água e uma maior riqueza de espécies (NOGUEIRA, 2016). Mello (2019) observou que a mata ciliar, em três riachos preservados, no sudeste do Brasil, desempenhou um papel significativo nas taxas de metabolismo, contribuindo com grandes quantidades de material orgânico alóctone e sombreamento e elevando as taxas de produção secundária entre alguns grupos funcionais de macroinvertebrados, demonstrando assim a importância da mata ciliar para a manutenção dos serviços ecossistêmicos promovidos pelos ambientes aquáticos. Dodds et al. (2017) mostraram que as raízes provenientes da mata ciliar tinham influência significativa sobre o metabolismo dos cursos de água, principalmente na absorção de nitrogênio e na dinâmica de oxigênio.

Ecossistemas menos impactados e com mata ciliar preservada são considerados ambientes que apresentam uma variedade de habitats que sustentam grande diversidade de organismos, em específico, os organismos das ordens EPT (Ephemeroptera, Plecoptera, Trichoptera), que são considerados indicadores de boa qualidade da água e sensíveis à perturbação do ambiente (ROSENBERG; RESH, 1993; GOULART; CALLISTO, 2003). O presente estudo confirma essa relação, em que houve maior riqueza e abundância de organismos, inclusive maior porcentagem das ordens EPT, nos córregos localizados nas áreas preservadas, com presença de mata ciliar. Nota-se que as larvas de Hydropsychidae, Calamoceratidae, Odontoceridae, Leptophlebiidae, Gripopterygidae e Perlidae, pertencentes às ordens EPT, foram exclusivas nos córregos de mata.

Callisto et al. (2001b) afirmam que o grupo EPT vivem em riachos de baixa ordem, de águas correntes, limpas e bem oxigenadas, com maior velocidade de correnteza e aderidos a pedras, troncos e materiais vegetais. Essas características estiveram presentes dos quatro córregos de mata (Anhumas, Espriado, Monjolinho e São Vicente) e favoreceram a presença de famílias desse grupo. A presença de algumas dessas famílias acompanhou os resultados do índice BMWP, que caracterizou a qualidade da água como excelente. Na classificação desse índice, as famílias Hydropsychidae, Calamoceratidae, Odontoceridae, Leptophlebiidae, Gripopterygidae e Perlidae que foram encontradas nos córregos de mata, foram as mais bem conceituadas, recebendo pontuação 8 e 10.

Nota-se que os organismos da ordem Plecoptera foram os mais afetados pelo cultivo de cana-de-açúcar, não sendo encontrado nenhum organismo nesses córregos. Essa ordem é considerada um dos melhores indicadores biológicos de poluição, por ser extremamente sensível à redução da concentração de oxigênio dissolvido e ao aumento da turbidez da água associada com a presença de resíduos orgânicos (WILLIAMS; FELTMATE, 1992; SALLENAVE, 2015; KUHLMANN et al., 2019), o que justifica o fato de estarem presentes apenas nos córregos de mata. Estudos realizados em áreas que sofreram algum tipo de perturbação decorrente da agricultura, pastagem ou urbanização, raramente encontraram esse grupo (SILVEIRA et al., 2006; CORBI; TRIVINHO-STRIXINO, 2008; CORTEZZI et al., 2009; HEPP; SANTOS, 2009; KLEINE et al., 2011; SURIANO; FONSECA-GESSNER, 2013).

A maior riqueza faunística dos córregos em áreas de mata refletiu nos maiores valores de diversidade de Shannon e a riqueza de Margalef, sendo mais bem representados pelos córregos Espriado e Monjolinho. Para esses mesmos córregos foram encontrados valores de diversidade

de Shannon, variando de 2,2 a 3,5 e valores de riqueza de Margalef, variando de 4,8 a 8,7 (CORBI; TRIVINHO-STRIXINO, 2008). Saulino et al. (2011) encontraram diversidade de Shannon de 2,2 e riqueza de Margalef de 7,6 para a nascente do córrego Anhumas, Araraquara-SP. Menezes et al. (2019) mostraram que os valores de riqueza de Margalef e diversidade de Shannon foram significativamente maiores nas áreas naturais quando comparadas com áreas alteradas e impactadas pela agricultura, pastagem e urbanização ao longo do rio Ribeirão Vermelho, no sudeste do Brasil.

Os índices bióticos constituem-se uma ferramenta na avaliação das respostas das comunidades biológicas às modificações das condições ambientais (GOULART; CALLISTO, 2003). Por serem considerados bons indicadores de qualidade da água e refletirem bem as condições ecológicas do ambiente que habitam (GOULART; CALLISTO, 2003), os macroinvertebrados têm sido muito utilizados na aplicação de índices bióticos para o biomonitoramento dos ecossistemas aquáticos (CHAGAS et al., 2017; BYTYÇI et al., 2018; RAMOS; ROSINI, 2018; MENEZES et al., 2019). O monitoramento dos ecossistemas aquáticos por meio das análises das variáveis físicas e químicas apresentam respostas rápidas, enquanto as análises realizadas com o auxílio da comunidade aquática permitem avaliar a interação dos organismos com os contaminantes. Além disso, os organismos respondem aos níveis de contaminantes não detectáveis pelas análises químicas e às alterações físicas do local, como exemplo, a retirada da mata ciliar (KUHLMANN et al., 2012).

Por ser um grupo bem diversificado e com grande plasticidade, algumas famílias de Trichoptera e Ephemeroptera, como exemplo, Leptophlebiidae, Baetidae e Hydropsychidae podem ser mais tolerantes à perturbação do meio, podendo viver em ambientes com maior carga de matéria orgânica (CALLISTO et al., 2001; BIASI et al., 2008; SALLENAVE, 2015). A velocidade da correnteza e a associação com as macrófitas aquáticas também influenciam na sua predominância em alguns ambientes (PEIRÓ et al., 2013; CHAGAS et al., 2017). Isso explica a presença de algumas famílias dessas ordens nos córregos de cana-de-açúcar, que apresentaram maior correnteza, como no caso de Chibarro e Água Sumida, e presença de macrófitas, como no caso de Bela Vista. Essas afirmações também podem ser comprovadas pela ausência de espécies de Trichoptera e Ephemeroptera no córrego São João (cana-de-açúcar) que apresentou baixa oxigenação ($0,5 \text{ mg L}^{-1}$) e água parada. A presença de duas famílias de Ephemeroptera (Leptophlebiidae e Leptohiphidae) foi reportada por Sonoda et al. (2018) em áreas degradadas, no Estado de São Paulo, Brasil. Kleine et al. (2011) encontraram as famílias Leptophlebiidae, Baetidae e Hydropsychidae em áreas de cultivo de banana. Boyer-

Rechlin et al. (2016) mostraram correlação positiva entre as famílias Baetidae e Hydropsychidae e as áreas de agricultura no estado de Illinois, nos Estados Unidos.

O córrego São Vicente, mesmo estando localizado em área de mata, apresentou baixa riqueza de organismos, pois, a mata presente no local é composta de uma faixa de mata reflorestada com eucaliptos e outra faixa de mata nativa. Dos grupos sensíveis à perturbação no ambiente, foram encontrados apenas dois organismos da ordem Trichoptera (Calamoceratidae). Essa relação também foi relatada por Franke (2012) que estudou dois rios com áreas reflorestadas e não encontrou nenhum indivíduo da ordem Trichoptera. Robayo e Smith (2015) observaram que as folhas de espécies arbóreas nativas eram mais atraídas para a colonização de macroinvertebrados que as espécies de eucalipto, devido às folhas de eucalipto apresentarem compostos secundários, como os fenóis e os óleos, que tornam essas folhas menos atrativas e pouco palatáveis para os organismos. Experimentos realizados com folhas de eucalipto em laboratório, usando trituradores, mostraram que esses organismos não cresceram e morreram quando alimentados exclusivamente com folhas de eucalipto (GRAÇA et al., 2002). Outro fator que pode ter afetado a fauna do córrego São Vicente é sua proximidade com o cultivo de cana-de-açúcar. Esses fatores refletiram na baixa riqueza faunística, que por sua vez, refletiram nos índices de diversidade de Shannon, Riqueza de Margalef e no índice BMWP, que caracterizou a qualidade da água do córrego em ruim.

O cultivo da cana-de-açúcar se expandiu no Brasil nos últimos anos, principalmente na região Sudeste, responsável pela maior produção do país (RONQUIM; FONSECA, 2018; CONAB, 2021). A substituição das vastas áreas de vegetação nativa por esse tipo de monocultura, juntamente com o escoamento e a percolação de insumos agrícolas, como pesticidas e fertilizantes, tem como consequência a alteração das características físicas e químicas da água e as modificações nos habitats aquáticos (COUTINHO, 2015).

Os pesticidas podem contribuir para vários efeitos tóxicos à comunidade de macroinvertebrados aquáticos. Reduções de 42% de táxons foram observadas na Europa e Austrália devido à contaminação por inseticida em concentrações consideradas ambientalmente protetoras pela legislação (BEKETOV et al., 2013). Eliminações de táxons sensíveis foram relatadas por Schäfer et al. (2007) nas regiões francesas. Efeitos nos processos ecológicos que ocorrem no ambiente, como exemplo, o declínio da decomposição da serapilheira em córregos também foram observados (AUBER et al., 2011). Os pesticidas também podem influenciar na sobrevivência, crescimento e emergência dos organismos (BARMENTLO et al., 2018; SCHULZ; LIESS, 2001) ou ainda causar deformidades morfológicas (GAGLIARDI;

PETTIGROVE, 2013) e alterações nos estágios embrionários dos organismos (YOKOYAMA, 2019). Schulz e Liess (1999) mostraram o quanto os macroinvertebrados são sensíveis aos pesticidas. Seus experimentos, realizados no norte da Alemanha, relataram uma diminuição significativa no número de espécies exatamente no mesmo período em que a entrada de inseticida foi medida, sendo que de 11 espécies investigadas, oito desapareceram.

Nota-se no presente estudo, que a riqueza faunística foi influenciada pelo cultivo de cana-de-açúcar, provavelmente pela retirada da mata ciliar e o maior aporte de pesticidas, fertilizantes e partículas de solo para a água. Esses fatores refletiram nos índices de Diversidade de Shannon, Riqueza de Margalef e no BMWP, que caracterizaram a qualidade da água em regular. A classificação boa da qualidade da água para o córrego Bela Vista foi decorrente da presença de organismos da ordem Trichoptera (Leptoceridae, Hydroptilidae), Ephemeroptera (Leptohyphidae), Odonata (Coenagrionidae, Libellulidae) e Hemiptera (Hebridae) que receberam nota 7 e 8 em sua classificação.

Corbi e Trivinho-Strixino (2006, 2008) notaram diferença na composição da fauna de macroinvertebrados aquáticos e redução das métricas comunitárias para os mesmos córregos localizados em áreas de cana-de-açúcar. Hepp e Santos (2009) observaram em seus estudos que o número de famílias de EPT diminuiu em locais com maior impacto (agrícola, pastagem e urbano) em decorrência das concentrações mais altas de nutrientes, condutividade e turbidez e menor concentração de oxigênio dissolvido, quando comparadas com áreas conservadas. Buss et al. (2002) observaram respostas semelhantes em seus estudos na região sudeste do Brasil. Egler et al. (2012) observaram que o desmatamento e a erosão nas margens dos córregos localizados em áreas agrícolas, juntamente com o escoamento de pesticidas favoreceram a perda de habitats e uma menor complexidade de substratos, resultando na redução da riqueza de táxons.

A modificação da paisagem com a retirada da vegetação nativa e posterior substituição por cultivos agrícolas causa a redução do número de táxons mais sensíveis à perturbação ao ambiente e o aumento no número de táxons mais tolerantes à poluição, como exemplo, os organismos da família Chironomidae (MOYA et al., 2007; CORBI; TRIVINHO-STRIXINO, 2017). Nos córregos de cana-de-açúcar, a predominância de Chironomidae foi de 48%. Corbi e Trivinho-Strixino (2008) observaram predomínio de 78% das larvas de Chironomidae nos córregos localizados em áreas com atividade canavieira, enquanto nas áreas de referência foi menor, com participação de 60% do total de organismos coletados. Sonoda et al. (2018) observaram dominância de Chironomidae tanto em áreas preservadas quanto em áreas

impactadas, com porcentagens variando de 18% a 81% do total de organismos coletados. Suriano e Fonseca-Gessner (2013) observaram maiores participações de Chironomidae em córregos situados em áreas consideradas impactadas pela ausência da mata ciliar.

As larvas de Chironomidae podem estar presentes em ambientes impactados ou não impactados, mas geralmente são associadas a ambientes perturbados, principalmente ambientes enriquecidos organicamente (ROQUE et al., 2000). Entre os representantes aquáticos, é a família mais abundante e diversificada e pode ser encontrada em todos os tipos de ecossistemas aquáticos (ESTEVES, 2011). Além disso, apresentam adaptações morfológicas, como a presença de hemoglobina, que permite suportar ambientes de baixas concentrações de oxigênio (CALLISTO; MORENO, 2005; ESTEVES, 2011). Sua predominância também é relatada em córregos que apresentam leitos arenosos e baixa declividade, com baixa heterogeneidade ambiental, condições essas que caracterizam os córregos do cerrado da região central do Estado de São Paulo (ROQUE; TRIVINHO-STRIXINO, 1999; FREIRE; GESSNER, 2002).

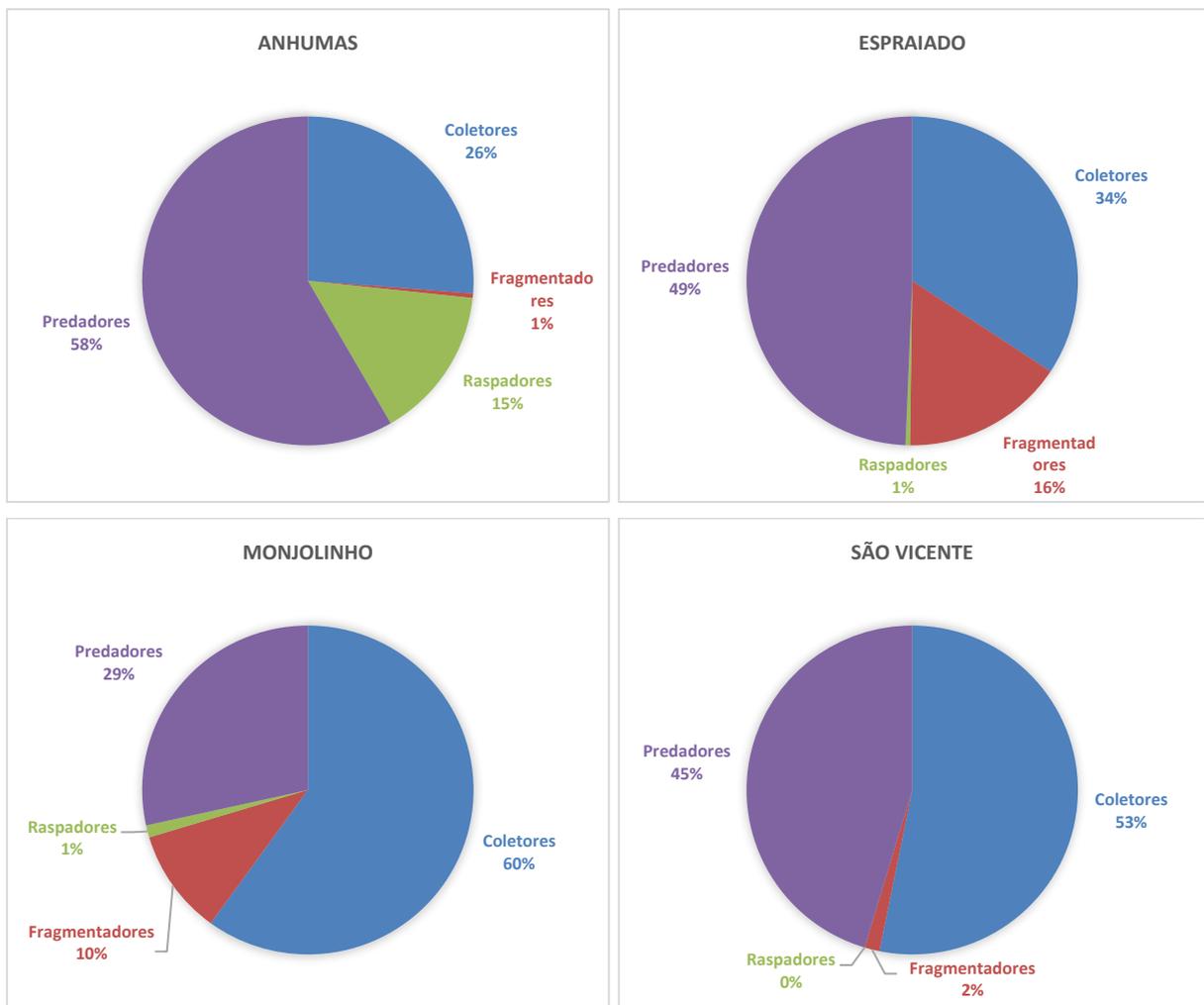
Outro aspecto que pode ter influenciado a diferença de composição da fauna nos córregos analisados é o tipo de vegetação da cana-de-açúcar, que é uma planta C4. Estudos realizados por Clapcott e Bunn (2003) mostraram que esse tipo de planta apresenta baixo valor nutricional para os invertebrados aquáticos e que o processo de substituição da vegetação nativa por monocultura de plantas C4 influencia na riqueza e abundância desses organismos. As plantas C4 ainda apresentam alto teor de compostos recalcitrantes, como a lignina e as fibras, baixas concentrações de nitrogênio e fósforo, o que deixa mais difícil o processo de digestão pelos organismos que a decompõem (FIGUEIREDO et al., 2018). Experimentos realizados por Leite-Rossi e Trivinho-Strixino (2012) comparando a cinética de decomposição e a colonização de detritos entre espécies de plantas nativas e de cana-de-açúcar por macroinvertebrados, mostraram menor taxa de decomposição na cana-de-açúcar e maior abundância de macroinvertebrados, especificamente de *Endotribelos* e *Tanytarsus* (Chironomidae), na planta nativa.

Além de influenciar a composição da comunidade de macroinvertebrados aquáticos, o uso do solo pode influenciar também na sua estrutura funcional alimentar (HEPP et al., 2016). As práticas agrícolas reduzem a qualidade da água devido à entrada de sedimentos, nutrientes e pesticidas e juntamente com a retirada da vegetação ciliar provoca alterações na estrutura funcional alimentar dos organismos aquáticos (GENITO et al., 2002; FU et al., 2016). A análise de grupo trófico funcional é uma ferramenta rápida e apropriada para caracterizar as condições

ambientais dos ecossistemas, detectar mudanças no uso da terra e avaliar a saúde dos rios (CUMMINS et al., 2005).

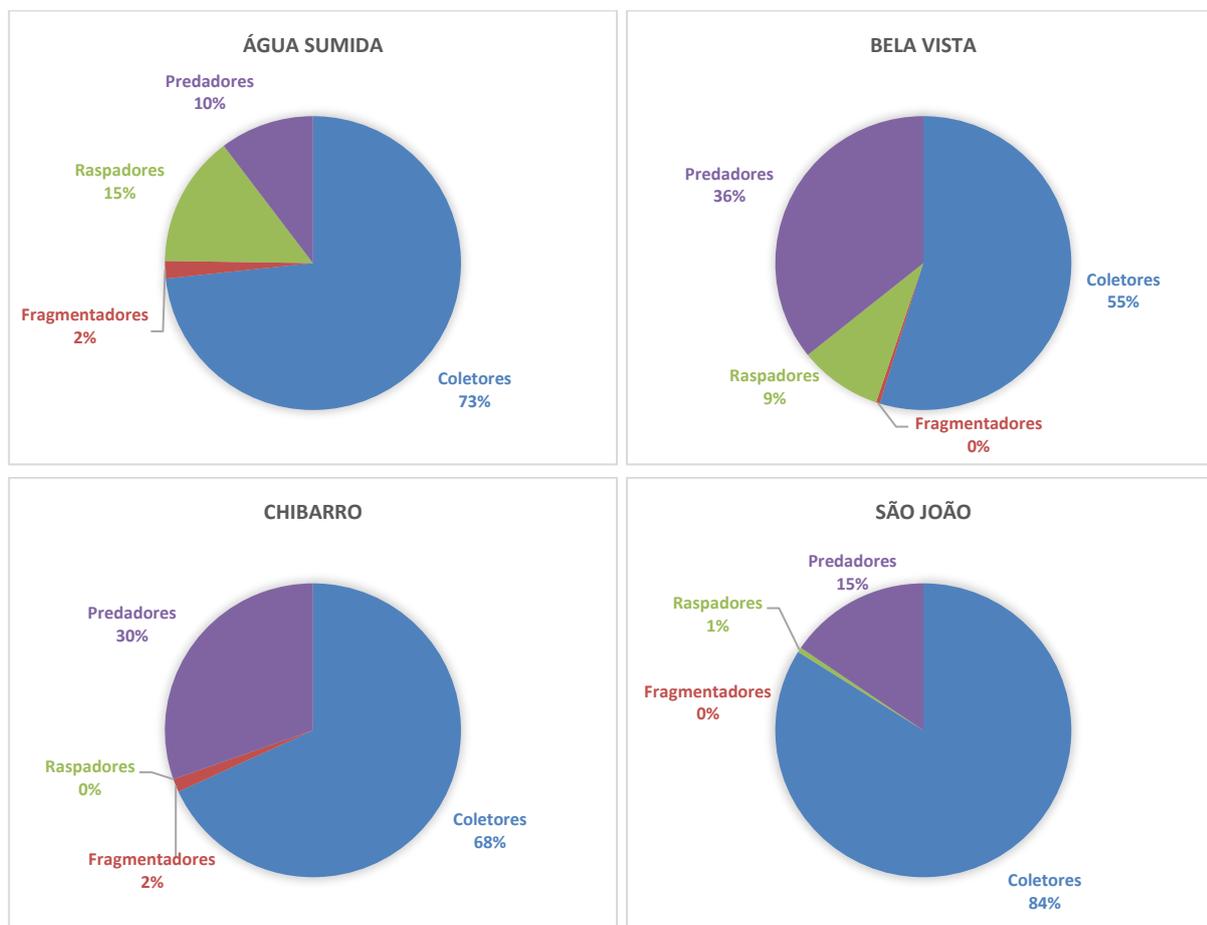
Os resultados do presente estudo mostraram que houve distinção no número de grupos tróficos funcionais e na abundância de cada grupo entre as áreas de mata e de cultivo de cana-de-açúcar. Foram identificadas quatro categorias de grupos tróficos funcionais nos córregos, sendo, coletores, fragmentadores, raspadores e predadores (Figura 19 e 20).

Figura 19 - Representação dos grupos tróficos funcionais dos córregos em área de mata.



Fonte: Elaborada pela autora (2021).

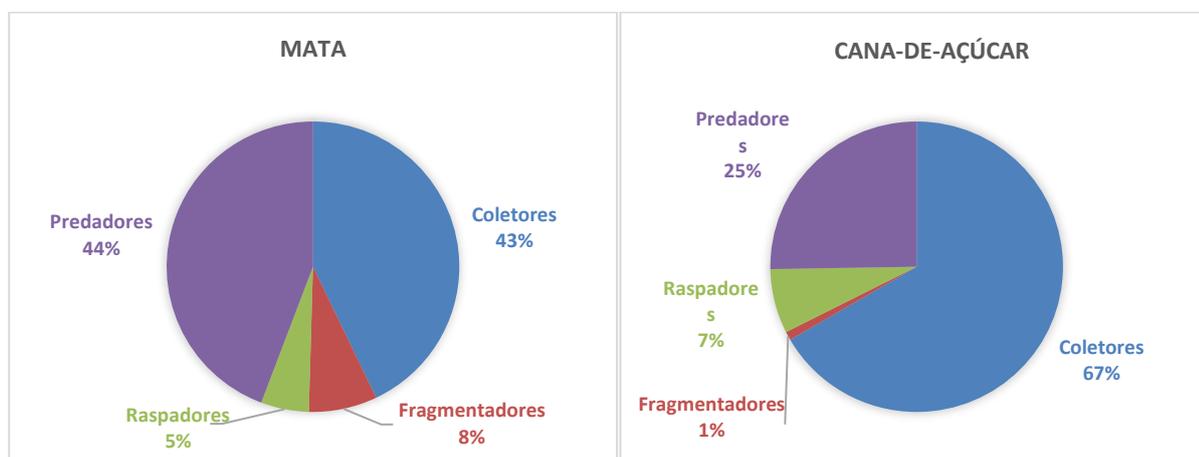
Figura 20 - Representação dos grupos tróficos funcionais dos córregos em área de cana-de-açúcar.



Fonte: Elaborada pela autora (2021).

Nos córregos de mata, os grupos mais representativos foram os predadores, seguidos dos coletores, fragmentadores e raspadores. Nos córregos de cana-de-açúcar houve o predomínio do grupo de coletores, seguido dos predadores, raspadores e fragmentadores (Figura 21).

Figura 21 - Representação dos grupos tróficos funcionais por uso e ocupação do solo.



Fonte: Elaborada pela autora (2021).

Nota-se que a presença da vegetação nativa foi essencial para a composição estrutural alimentar da comunidade de macroinvertebrados aquáticos. Nos córregos de cana-de-açúcar, a proporção de fragmentadores foi menor e em alguns córregos, não foram encontrados organismos desse grupo. Em córregos de pequena ordem, a principal fonte de alimento é a matéria orgânica particulada grossa, oriunda da mata ciliar e os fragmentadores são responsáveis por triturar esse material e transformar em matéria orgânica fina que serve de alimento para os organismos à jusante (VANNOTE et al., 1980). Além disso, as condições de sombra e do substrato são fatores importantes para o habitat dos fragmentadores (FU et al., 2016). Miserendino e Masi (2010) descobriram que a riqueza de fragmentadores era maior nas áreas de floresta nativa que nas áreas sob a influência de urbanização e cultivo de Pinus. Hepp et al. (2016) documentaram uma proporção mais alta de fragmentadores em córregos com presença de vegetação ribeirinha no sul do Brasil.

Com o aumento da perturbação ao ambiente, a porcentagem de fragmentadores vai diminuindo e em contrapartida, o grupo de coletores vai aumentando (MOYA et al., 2007). O aumento dos coletores em áreas mais perturbadas está relacionado com a maior abundância de alguns recursos alimentares (FU et al, 2016). Masese et al. (2014) observaram que os coletores eram dominantes nos córregos da agricultura e atribuiu essa abundância às temperaturas mais quentes dos riachos agrícolas, maiores concentrações de nutrientes e sedimentos em suspensão. Compin e Céréghino (2007) também relataram porcentagens mais altas de coletores em paisagens urbanas e agrícolas de riachos no sudoeste da França. Os resultados também foram congruentes com Chagas et al. (2017) em estudos no sul do Brasil. Apesar do grupo de coletores ter aumentado nos córregos de cana-de-açúcar, a sua presença nos córregos de mata também foi abundante devido a maior frequência e abundância do grupo Chironominae e de Oligochaeta. Callisto et al. (2001a) atribuiu a dominância dos coletores nas áreas de cabeceiras às características físicas dos rios, leitos estreitos, fundos rochosos e vegetação ripária bem desenvolvida. Fierro et al. (2017) também relataram abundância de coletores tanto nas áreas de agricultura, quanto em área de floresta nativa no Chile, fato explicado pela presença de vegetação ripária em ambos os locais de amostragem. A presença de coletores nas cabeceiras também está relacionada com a matéria orgânica processada pelos fragmentadores, que serve de alimento para aqueles (VANNOTE et al., 1980).

Os predadores tiveram a segunda maior presença e abundância nos córregos de mata (Figura 21) devido ao predomínio do grupo Tanyptodinae e dos organismos da ordem Odonata. Fu et al. (2016) descobriram que os predadores tinham maior densidade nas áreas florestais que nas

áreas de agricultura e urbanas, o que é semelhante aos resultados do presente estudo. No entanto, Compin e Céréghino (2007) descobriram que os predadores também dominavam áreas de agricultura. Os predadores são um grupo que mantêm sua proporção ao longo do rio devido à disponibilidade de presas (VANNOTE et al., 1980).

Os raspadores tiveram maior participação em dois córregos de cultivo de cana-de-açúcar (Água Sumida e Bela Vista). Esse grupo é mais representativo em rios que apresentam áreas abertas, com maior luminosidade e produtividade primária de algas, pois são organismos que se alimentam raspando as algas da superfície das rochas e da vegetação submersa (VANNOTE et al., 1980). Essas características e a presença de vegetação submersa foram observadas nos dois córregos, o que justifica o predomínio dos raspadores nesses locais. Por outro lado, foi observada a presença de raspadores no córrego Anhumas (mata), devido o predomínio da família Hydroptilidae. Nesse córrego havia a presença de luminosidade, por ser de mata aberta, e vegetação submersa nas margens.

A análise dos grupos tróficos funcionais e o estudo da estrutura da comunidade de macroinvertebrados aquáticos são importantes ferramentas que auxiliam na obtenção de informações sobre as condições dos riachos que as análises físicas e químicas não fornecem, sendo usada para monitorar e avaliar as mudanças no uso do solo e a saúde dos ecossistemas aquáticos.

Com base nessas ferramentas e na análise histórica sobre o estado de contaminação das áreas de cana-de-açúcar, comparando as métricas comunitárias obtidas em 2008 (CORBI; TRIVINHO-STRIXINO, 2008) e a métricas atuais, observou-se que no geral, as condições ecológicas dos córregos de cana-de-açúcar foram melhores no ano de 2008, com maior riqueza e diversidade de famílias, números de táxons e %EPT. Destaca-se o córrego Água Sumida que teve suas condições atuais melhoradas em relação ao ano 2008, com aumento de todas as métricas comunitárias. Nesse córrego, a qualidade da água avançou de péssima para regular, a % EPT subiu para 14% e houve 2% de organismos fragmentadores, mostrando que as condições ecológicas desse córrego estão melhorando, frente ao estresse ambiental. O córrego Bela Vista e São João também tiveram a qualidade da água melhorada, indo de regular para boa; e de péssima para regular, respectivamente.

Assim sendo, os resultados mostraram forte influência dos cultivos de cana-de-açúcar e da ausência de mata ciliar na comunidade de macroinvertebrados aquáticos, acarretando menor riqueza e diversidade taxonômica e funcional de organismos, particularmente do grupo funcional dos fragmentadores, e o aumento dos coletores. Por isso, é fundamental o manejo

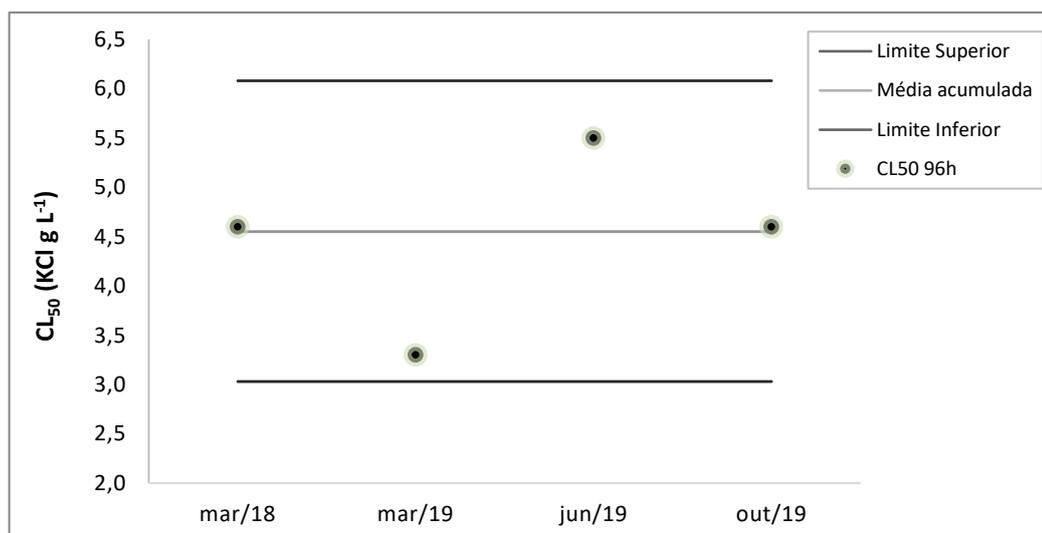
sustentável das áreas agrícolas, visando à manutenção das boas condições da mata ciliar, da qualidade da água e dos serviços ecossistêmicos oferecidos pelo macroinvertebrados aos ambientes aquáticos.

5.3. Testes ecotoxicológicos

5.3.1. Teste de sensibilidade

As larvas de *C. sancticaroli* apresentaram variação de sensibilidade ao KCl dentro do intervalo de $3,03 \text{ g L}^{-1}$ e $6,08 \text{ g L}^{-1}$, com média de $4,5 \text{ g L}^{-1}$. As concentrações letais (CL50) de cloreto de potássio variaram de $3,3 \pm 0,2 \text{ g L}^{-1}$ (março/2019) a $5,5 \pm 0,2 \text{ g L}^{-1}$ (jun/2019). A dispersão dos dados ao longo do tempo está contida na Figura 22.

Figura 22 – Carta controle para *Chironomus sancticaroli* exposto a substância KCl no teste de sensibilidade.



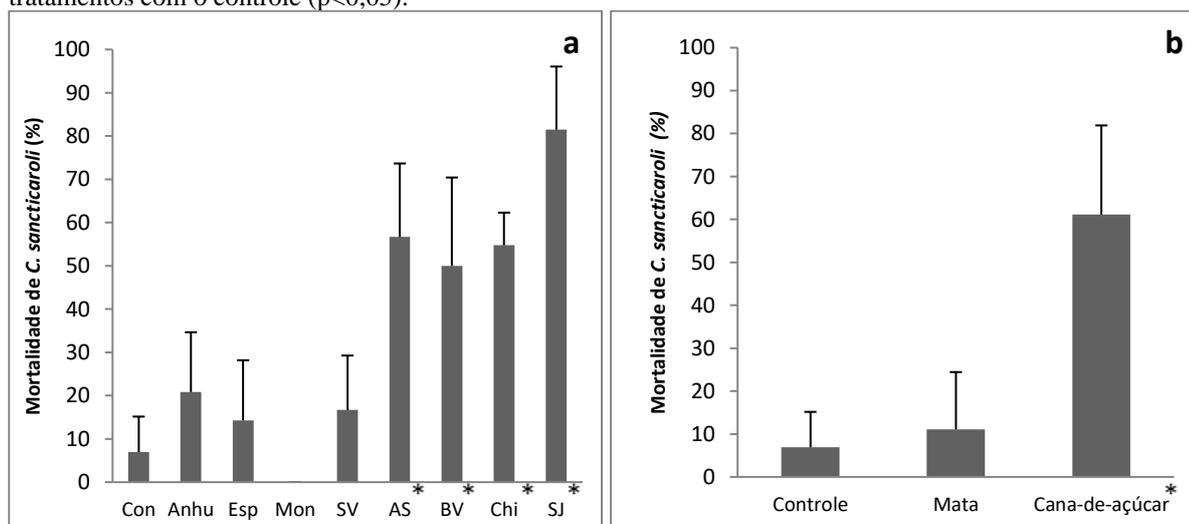
Fonte: Elaborada pela autora (2021).

5.3.2. Teste de toxicidade aguda

Na Figura 23a estão apresentados os valores médios, em porcentagem, e o desvio padrão da mortalidade de larvas de instar IV de *C. sancticaroli* expostas ao sedimento de teste de toxicidade aguda de cada córrego. A mortalidade no controle foi inferior a 15%. Foi verificado que as maiores mortalidades ocorreram nos córregos de cana-de-açúcar, variando de 50 a 81%. Nos córregos em áreas de mata, a mortalidade foi baixa, variando de 0 a 20%. O teste de Kruskal-Wallis e o teste Post Hoc de Dunn's indicou que houve diferença estatística ($p < 0,05$) entre o controle e os córregos em área de cultivo de cana-de-açúcar e entre os córregos de mata e cana-de-açúcar.

Comparando a mortalidade por uso e ocupação do solo (Figura 23b), verifica-se que os sedimentos dos córregos de cana-de-açúcar causou uma mortalidade significativa na espécie *C. sancticaroli* ($p < 0,05$), contribuindo com mais de 60% da mortalidade dos organismos. Os testes estatísticos também apontaram diferença significativa entre os córregos de mata e os córregos de cana-de-açúcar.

Figura 23 – a) Valores médios e desvio padrão da mortalidade (%) de larvas de instar IV de *Chironomus sancticaroli* expostas ao controle e aos sedimentos dos córregos de mata e de cana-de-açúcar em testes de toxicidade aguda. b) Mortalidade (%) por uso e ocupação do solo. (*) Presença de diferença significativa dos tratamentos com o controle ($p < 0,05$).



(**) Mata: Anhu=Anhumas; Esp=Espiraiado; Mon=Monjolinho; SV=São Vicente; Cana-de-açúcar: AS= Água Sumida; BV=Bela Vista; Chi=Chibarro e SJ=São João. Fonte: Elaborada pela autora (2021).

O teste de toxicidade aguda é realizado para medir os efeitos dos agentes tóxicos a um curto prazo de tempo, de forma rápida e severa, em relação ao período de vida do organismo-teste (COSTA et al., 2008). Foi possível observar que em poucas horas de exposição, o sedimento dos córregos de cana-de-açúcar foi prejudicial aos organismos, causando mais de 50% de mortalidade (Figura 23a).

Na atividade agrícola é comum o uso de compostos químicos contendo diferentes metais em sua composição que podem ser tóxicos aos organismos aquáticos. Pela Figura 16 é possível observar a presença mais elevada de metais nos córregos de cana-de-açúcar. Além disso, na região também foi identificada a presença de pesticidas (CORBI et al., 2006). Dessa forma, ressalta-se que o sedimento de áreas adjacentes aos cultivos de cana-de-açúcar pode ser prejudicial não só no nível de comunidade, como observado pelos resultados da estrutura da comunidade de macroinvertebrados aquáticos e das métricas comunitária (Tabela 6 e 7), mas também no nível de indivíduos, sendo a espécie de *C. sancticaroli* sensível à exposição em curto prazo. Testes toxicológicos realizados com os mesmos córregos mostraram que a cana-

de-açúcar afetava a sobrevivência *C. sancticaroli*, mas quando os metais presentes no sedimento eram adsorvidos pela quitosana, um biopolímero utilizado para a remoção de compostos do meio, a sobrevivência dos organismos aumentava (COSTA, 2018).

Estudos realizados com sedimentos de campo também indicaram sensibilidade à exposição de curto prazo. Cheng et al. (2017) em estudos com sedimentos urbanos contaminados com pesticidas, na região da China, mostraram letalidade aguda a *Chironomus dilutus*, com mortalidade variando de 10% a 100% em todos os sedimentos amostrados. Os resultados ainda mostraram que os sedimentos contaminados causaram alterações nas atividades enzimáticas dos organismos. Outros estudos observaram mortalidades entre 70 e 100% para a mesma espécie, em regiões com práticas agrícolas e industriais (SUN et al., 2015). Altas taxas de mortalidade aguda, entre 70 e 100%, também foram relatadas por Souto et al. (2019), em sedimentos contaminados por metais, no sudeste do Brasil. Efeitos tóxicos em *C. xanthus* foram evidenciados por Messias (2008) em áreas de ocupação urbanas e de cana-de-açúcar, com mortalidade superior a 50%. Dornfeld (2002) constatou indícios de toxicidade em *C. xanthus* no reservatório de Salto Grande (SP) influenciado pela urbanização e atividades agrícolas.

O sedimento é uma matriz complexa, composta de areia, argila, sais minerais, matéria orgânica (ZAGATTO; BERTOLETTI, 2008), e a expansão da agricultura têm contribuído com o acúmulo de outros compostos nesse compartimento, como metais e pesticidas. Esses compostos têm o potencial de causar vários prejuízos aos organismos aquáticos. Da Silva et al. (2018) perceberam que a exposição de 32 mg L⁻¹ de inseticida, por apenas 48h, causou letalidade total em *C. xanthus*. Efeitos nocivos também foram observados por Albuquerque et al. (2017), em exposição de larvas de *C. sancticaroli* por 96h ao herbicida atrazina, inclusive em concentrações permitidas pela legislação (0,002 mg L⁻¹). Alguns herbicidas apesar de não serem altamente tóxicos podem potencializar a toxicidade aguda de alguns inseticidas aos organismos aquáticos. Schuler et al. (2005) mostraram que a mistura de herbicidas com inseticidas na concentração de 200 µg L⁻¹ resultou em um aumento de duas vezes na toxicidade em comparação com a toxicidade dos inseticidas isoladamente, em *Chironomus tentans* expostos a teste de toxicidade aguda.

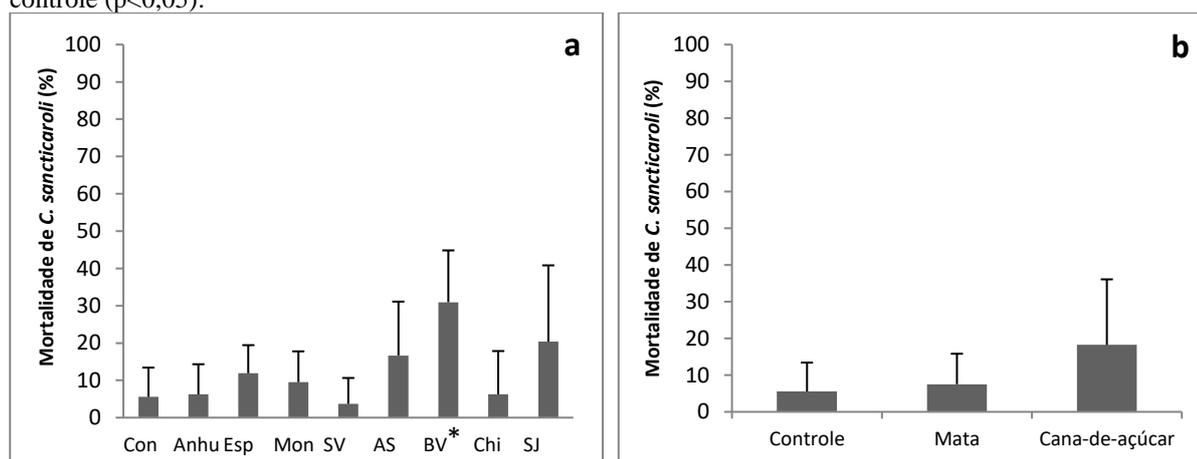
Outros organismos também apresentaram efeitos após a exposição em curto prazo de pesticidas e metais. Em uma combinação do inseticida imidaclopride e cádmio foram observadas degenerações das células epidérmicas, intestinais e nervosas, em espécies de oligochaetas aquáticas, expostas a 24h e 48h (LEKVONGPHIBOON; PRAPHAIRAKSIT, 2020). Testes realizados com microalgas detectaram inibição do crescimento em concentrações

nanomolares (inferiores a 1 nM) para dois tipos de herbicidas, no Reino Unido (NYSTRÖM et al., 1999). Estudos realizados com *Daphnia magna* não mostraram diferença na sobrevivência de adultos (machos e fêmeas) entre os tratamentos com inseticida fenoxicarbe e o controle, mas a reprodução sexual foi afetada, com redução de 72,5% na produção juvenil de organismos em baixas concentrações ($0,7 \mu\text{g L}^{-1}$) e quase nenhuma produção juvenil na maior concentração ($65,6 \mu\text{g L}^{-1}$) (NAVIS et al., 2018).

5.3.3. Teste de toxicidade crônica

Na Figura 24a estão apresentados os valores médios, em porcentagem, e o desvio padrão da mortalidade de larvas instar I de *C. sancticaroli* expostas ao sedimento de córregos de áreas de mata e de cana-de-açúcar. A mortalidade média no controle foi inferior a 10%. Nos córregos de mata, a mortalidade foi baixa, variando de 3 a 12%. No geral, os córregos de cana-de-açúcar tiveram as maiores mortalidades, variando de 6 a 31%. Apesar disso, os testes Kruskal-Wallis e Post Hoc de Dunn's não evidenciaram diferenças estatísticas ($p > 0,05$) entre o controle e todos os córregos em área de cultivo de cana-de-açúcar, exceto para o córrego Bela Vista, por apresentar mortalidade maior que os demais córregos de cana-de-açúcar.

Figura 24 – a) Valores médios e desvio padrão da mortalidade (%) de larvas de instar I de *Chironomus sancticaroli* expostas ao controle e aos sedimentos dos córregos de mata e de cana-de-açúcar em testes de toxicidade crônica, b) Mortalidade (%) por uso e ocupação do solo. (*) Presença de diferença significativa dos tratamentos com o controle ($p < 0,05$).



(**) Mata: Anhu=Anhumas; Esp=Espreado; Mon=Monjolinho; SV=São Vicente; Cana-de-açúcar: AS=Água Sumida; BV=Bela Vista; Chi=Chibarro e SJ=São João. Fonte: Elaborada pela autora (2021).

Comparando a mortalidade por uso e ocupação do solo (Figura 24b), nota-se que foi baixa em ambas as áreas (<20%). O teste Kruskal-Wallis e o teste Post Hoc de Dunn's mostraram

estatisticamente que não houve diferença significativa entre os tratamentos ($p > 0,05$), ou seja, a cana-de-açúcar não causa uma mortalidade crônica significativa em larvas de *C. sancticaroli* quando expostas a longo prazo. Marigo (2019) também não encontrou diferença significativa de mortalidade em *C. sancticaroli* expostos por 9 dias a sedimentos de rios com diferentes usos e ocupação do solo. A sobrevivência de *C. sancticaroli* também não foi comprometida quando expostas à cafeína e ao hormônio 17α -etinilestradiol (DELL'ACQUA, 2017; BERNEGOSI, 2019).

Os testes de toxicidade crônica são realizados para medir os efeitos dos agentes tóxicos por um longo período do ciclo de vida do organismo-teste, de modo a avaliar a mortalidade e os efeitos no crescimento (COSTA et al., 2008). Nota-se pela Figura 24 que nos primeiros períodos do ciclo de vida do *C. sancticaroli* o cultivo de cana-de-açúcar foi capaz de interferir na sua sobrevivência, apesar de baixa a mortalidade e de estatisticamente não mostrar diferença com os córregos de mata. O comprometimento da sobrevivência das larvas de *C. sancticaroli* pode levar à redução da população dessa espécie e causar alteração no funcionamento das cadeias alimentares, uma vez que as larvas de *Chironomus* são fontes de alimento para peixes e aves. Por exemplo, estudos realizados por Dornfeld et al. (2009) mostraram que fêmeas de *C. riparius* não evitaram depositar seus ovos em ambientes contaminados por cobre, no entanto, a eclodibilidade e a viabilidade dos ovos na solução de cobre foram significativamente menores comparadas com a solução controle, o que poderia comprometer o desenvolvimento dos embriões, a sobrevivência das larvas do ínstar inicial e o estabelecimento de uma nova população. Experimentos realizados com *Daphnia ambigua* expostas a $3 \mu\text{g L}^{-1}$ do inseticida carbaril mostraram que todos os organismos morreram antes de iniciarem o quinto estágio de vida e nas concentrações de 4 e $5 \mu\text{g L}^{-1}$, os organismos conseguiram sobreviver apenas até o terceiro estágio (HANAZATO, 1991).

A exposição a pesticidas e metais pode causar vários efeitos a longo prazo aos organismos aquáticos. Efeitos na sobrevivência foram investigados por Rakotondravelo et al. (2006) que mostraram que o pesticida clorpirifós na concentração de $0,1 \mu\text{g L}^{-1}$ reduziu em 67% a sobrevivência de *C. tentans* após exposição de 20 dias. A diminuição no crescimento e o comprometimento do padrão comportamental foram observados em larvas de *C. riparius* expostas ao inseticida imidaclopride durante 10 dias (AZEVEDO-PEREIRA et al., 2011). Estudos realizados por Rebecchi et al. (2014) indicaram que o inseticida malatião além de causar toxicidade ao *C. sancticaroli* expostos por longos períodos, também causou a inibição da atividade enzimática. Em outras espécies, esses compostos em longo prazo reduziram o

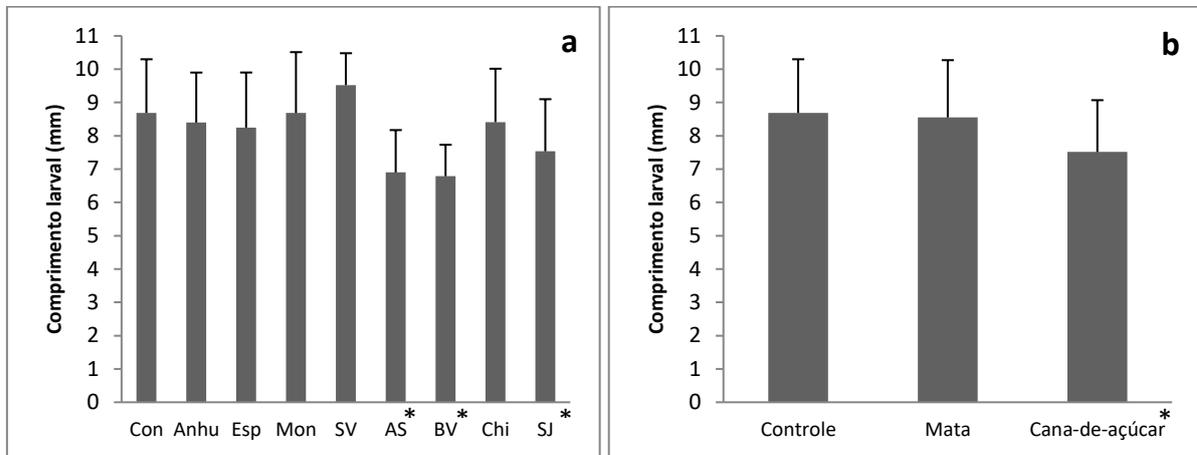
crescimento e a reprodução em *D. ambigua* (HANAZATO, 1991), reduziram a atividade de natação em girinos (WRUBLESWSKI et al., 2018) e causaram perda de escamas, hemorragias e flexão do corpo em peixes (HANDA; JINDAL, 2019).

Ao comparar os valores de mortalidade entre o teste agudo e crônico (Figuras 23 e 24), nota-se que as larvas do teste agudo, de instar IV, foram mais sensíveis ao sedimento do cultivo de cana-de-açúcar, pois apresentaram menor porcentagem de sobrevivência. Fonseca (1997) também observou nos seus experimentos com *C. xanthus* que as larvas de instar IV eram mais sensíveis ao sedimento, fato explicado pela mudança da fase larval do *Chironomus* para a fase de pupa. Na fase de pupação, a maior mortalidade está associada às várias mudanças bioquímicas e fisiológicas que ocorrem antes da emergência de adultos, como exemplo a mobilização de lipídios durante a metamorfose e outros compostos que antes estavam armazenados (BENOIT et al., 1997).

Além da mortalidade, alterações no crescimento das larvas de *Chironomus* podem ser observadas em decorrência da exposição prolongada. Na Figura 25a está apresentada a variação dos valores do comprimento médio (mm) e do desvio padrão para larvas de *C. sancticaroli* expostas por 10 dias ao sedimento dos córregos de cana-de-açúcar e de mata. O comprimento médio das larvas do controle foi de 8,69 mm. Nos córregos de mata, variou de 8,25 a 9,52 mm. Nos córregos de cana-de-açúcar, variou entre 6,79 e 8,41 mm. No geral, nota-se que a exposição prolongada ao sedimento dos córregos de cana-de-açúcar reduziu o comprimento das larvas de *C. sancticaroli*. O teste One-Way Anova e o teste Post Hoc Tukey's apontaram diferença estatística ($p < 0,05$) entre o controle e os córregos Água Sumida, Bela Vista e São João. O córrego Chibarro, apesar de estar localizado em área de cana-de-açúcar, teve seu comprimento estatisticamente semelhante às áreas de mata preservada.

Comparando as duas áreas de uso e ocupação do solo (Figura 25b) foi possível observar a interferência da cana-de-açúcar na redução do comprimento das larvas de *C. sancticaroli* (7,51 mm), enquanto nos córregos de mata, o comprimento se manteve semelhante ao controle, de aproximadamente 8,55 mm. Estatisticamente, o comprimento larval de *C. sancticaroli* das áreas de cana-de-açúcar foi significativamente diferente do tratamento controle e da área de mata ($p < 0,05$).

Figura 25 – a) Valores médios e desvio padrão do comprimento de larvas de instar I de *Chironomus sancticaroli* (mm) expostas ao controle e aos sedimentos dos córregos de mata e de cana-de-açúcar em testes de toxicidade crônica, b) Comprimento larval (mm) por uso e ocupação do solo. (*) Presença de diferença significativa dos tratamentos com o controle ($p < 0,05$).



(**) Mata: Anhu=Anhumas; Esp=Espreado; Mon=Monjolinho; SV=São Vicente; Cana-de-açúcar: AS= Água Sumida; BV=Bela Vista; Chi=Chibarro e SJ=São João. Fonte: Elaborada pela autora (2021).

Nos ambientes contaminados por substâncias tóxicas, o crescimento das larvas pode ser influenciado por diversos processos, entre eles, o processo de desintoxicação das substâncias tóxicas do corpo que envolve o gasto das reservas energéticas (CAMPERO et al., 2007; MAUL et al., 2008; ARAMBOUROU et al., 2013) e o processo de evitação de alimentos contaminados (MAUL et al., 2008), em que a ingestão reduzida de alimentos causa a diminuição da energia gasta com o crescimento do corpo das larvas de *Chironomus* (POSTMA et al., 1994; RISTOLA et al., 1999; PÉRY et al., 2002). Possivelmente esses dois processos influenciaram o crescimento das larvas de *C. sancticaroli* em córregos de cana-de-açúcar, pois nessas áreas foi constatada a presença de alguns metais e o comprimento das larvas foi menor. Wentsel et al. (1977) encontraram correlação positiva entre as concentrações de cromo, zinco e cádmio no sedimento de lagos e a inibição do desenvolvimento das larvas de *C. tentans*. Beghelli et al. (2018) analisaram sedimentos de campo poluídos com metais e também constataram redução do comprimento das larvas de *C. sancticaroli*.

Outros fatores, como a temperatura e a quantidade de alimento disponível na fase larval, podem interferir no crescimento das larvas *C. sancticaroli* (TRIVINHO-STRIXINO; STRIXINO, 1982; STRIXINO; TRIVINHO-STRIXINO, 1985). Acredita-se que esses dois fatores não prejudicaram o crescimento das larvas, pois os testes foram realizados em condições controladas de temperatura ($24 \pm 2^\circ\text{C}$) (FONSECA; ROCHA, 2004) e alimento (5g L^{-1} de solução de Tetramin), que foi adicionado duas vezes, no início e no meio do teste, fornecido igualmente nos potes.

As respostas de crescimento larval de *C. sancticaroli* têm relevância ecológica na natureza. Por exemplo, Sibley et al. (1997) mostraram que a redução do crescimento durante a fase larval de *C. tentans* estava associada ao declínio da reprodução de fêmeas, o que causaria redução da prole das gerações subsequentes. Atrasos no crescimento de *C. tentans* resultaram em reduções de 86 a 100% na emergência de adultos, e afetaram negativamente a pupação e a fecundidade (LIBER et al., 1996). Os processos de predação e a capacidade de resistência aos estressores ambientais também podem ser afetados, uma vez que os indivíduos maiores são menos susceptíveis aos predadores e à perturbação no meio (SIBLEY et al., 1997; DIAS et al., 2008; MAUL et al., 2008; HASENBEIN et al., 2015). Portanto, o comprometimento no crescimento das larvas de *C. sancticaroli* pode ter efeitos significativos na manutenção da população da espécie e deve ser considerado em testes de toxicidade e no monitoramento dos ecossistemas aquáticos.

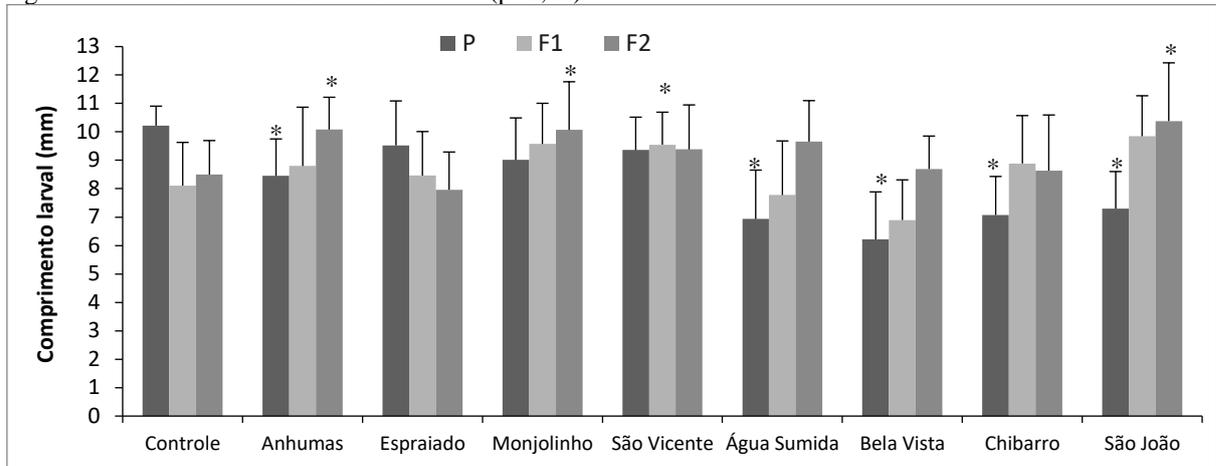
5.3.4. Teste de gerações

5.3.3.1. Comprimento das larvas

Na Figura 26 está apresentado o comprimento médio, em mm, e o desvio padrão das larvas de *C. sancticaroli* nas gerações P, F1 e F2. Na geração P, o comprimento das larvas do controle foi 10,22 mm. Nos córregos de mata, variou de 8,46 a 9,52 mm e nos córregos de cana-de-açúcar, variaram de 6,22 a 7,30 mm. Na geração F1, o comprimento das larvas do controle foi de 8,11 mm. Nos córregos de mata, variou de 8,46 a 9,57 mm e nos córregos de cana-de-açúcar, variou entre 6,90 e 9,85 mm. Para a geração F2, o comprimento do controle foi de 8,50 mm. Nos córregos de mata, variou entre 7,96 e 10,08 mm e nos córregos de cana-de-açúcar, variou de 8,64 a 10,38 mm.

Na geração P, o comprimento das larvas de *C. sancticaroli* das áreas de cana-de-açúcar foi menor que nas áreas de mata e no tratamento controle. Na geração F1, no geral, nota-se um aumento do comprimento larval em ambas as áreas. O mesmo ocorre na geração F2, exceto nos córregos Espraiado, São Vicente e Chibarro, que tiveram seu comprimento reduzido da geração F1 para a geração F2. O teste One-Way Anova e o teste Post Hoc de Tukey's indicaram diferença estatística na geração P ($p < 0,05$) do controle com o córrego Anhumas e todos os córregos de cana-de-açúcar. Na geração F1, houve diferença estatística apenas entre o controle e o córrego São Vicente. Na geração F2 houve diferença estatística entre o controle e os córregos Anhumas, Monjolinho e São João.

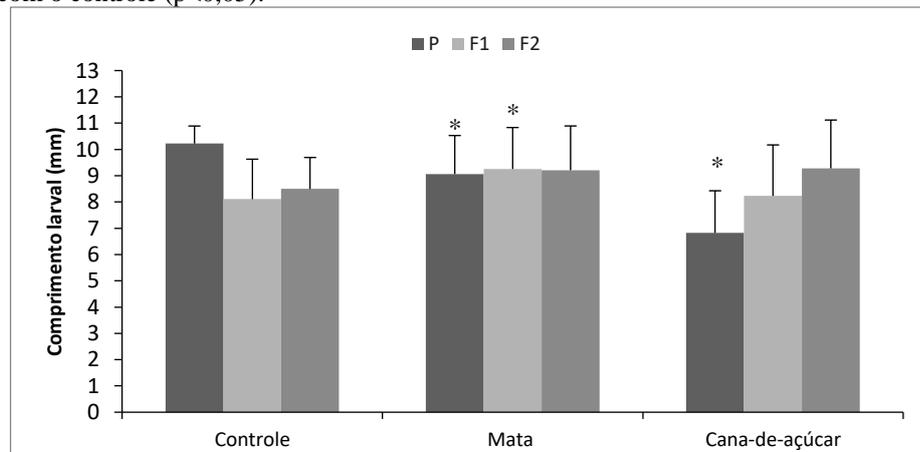
Figura 26 - Comprimento médio e desvio padrão das larvas de *Chironomus sancticaroli* (mm) amostradas nas gerações P, F1 e F2 expostas ao controle e aos sedimentos dos córregos de mata (Anhumas, Espiraiado, Monjolinho e São Vicente) e de cana-de-açúcar (Água Sumida, Bela Vista, Chibarro e São João). (*) Presença de diferença significativa dos tratamentos com o controle ($p < 0,05$).



Fonte: Elaborada pela autora (2021).

Comparando as duas áreas de uso e ocupação do solo (Figura 27), nota-se que nas áreas de mata o comprimento das larvas *C. sancticaroli* foi semelhante entre as três gerações, e nas áreas de cana-de-açúcar, o comprimento foi aumentando ao longo das gerações. Estatisticamente, pelo teste One-Way Anova e o teste Post Hoc Tukey's, o comprimento das larvas de *C. sancticaroli* das áreas de cana-de-açúcar, nas gerações P e F1, foi diferente do comprimento das áreas de mata. Na geração F2 o teste não apontou diferença estatística entre ambas as áreas.

Figura 27 - Comprimento médio e desvio padrão das larvas de *Chironomus sancticaroli* (mm) amostradas nas gerações P, F1 e F2, representado por uso e ocupação do solo. (*) Presença de diferença significativa dos tratamentos com o controle ($p < 0,05$).



Fonte: Elaborada pela autora (2021).

Com isso, é possível inferir que nas primeiras gerações do ciclo de vida de *C. sancticaroli*, o sedimento das áreas de cana-de-açúcar influenciou o comprimento das larvas,

uma vez que os testes estatísticos mostraram diferença entre o sedimento de mata e de cana-de-açúcar nas gerações P e F1. Esse fato também foi confirmado com o teste de toxicidade crônica (Figura 25) que mostrou diferença significativa entre o sedimento das duas áreas em uma única geração, sendo o comprimento das larvas menor nos córregos de cana-de-açúcar, o mesmo observado para a geração P, no teste de gerações. Porém, a partir da geração F2, os resultados mostram que o sedimento da área agrícola não compromete o desenvolvimento das larvas.

Esses resultados ressaltam a importância de expor os organismos-testes a várias gerações para simular exposição crônica a longo prazo e investigar os processos dinâmicos da população que ocorrem na natureza em resposta aos contaminantes (VOGT et al., 2007) que pode ser dificilmente documentada em experimentos de geração única. Com os testes de gerações, é possível verificar se as populações aumentam sua capacidade de sobrevivência ao longo do tempo devido a um maior potencial de adaptação às exposições dos contaminantes (FRANKHAM, 2005) ou se entram em um declínio e posterior extinção.

Nota-se que o comprimento das larvas de *C. sancticaroli* nos sedimentos de cana-de-açúcar foi crescendo ao longo das gerações. Sibley et al. (1997) mostraram que o crescimento larval de *C. tentans* foi significativamente correlacionado com a quantidade de alimento disponível para consumo. Acredita-se que o maior crescimento de *C. sancticaroli* observado nos córregos de cana-de-açúcar está relacionado com o maior aporte de matéria orgânica nesses córregos (Figura 15), que é a principal fonte de alimento para os *Chironomus*. Essa mesma relação foi constatada por Castro et al. (2003) que perceberam que a matéria orgânica presente nos sedimentos naturais pode ter contribuído com o aumento no crescimento de *C. riparius*.

Efeitos positivos no crescimento das larvas de *C. sancticaroli* foram observados por Felipe (2019) em testes de três gerações com o surfactante LAS nas concentrações de 10 e 15 mg L⁻¹. Esse efeito também foi observado por Stanković et al. (2020) em experimentos de toxicidade de microplástico em *C. riparius* que inclusive mostrou tendência de aumento do formato das asas. Por outro lado, Pellinen e Soimasuo (1993) mostraram que tanto nos sedimentos poluídos, com compostos orgânicos halogênicos, quanto em sedimentos de referência em lagos na Finlândia, não foi observada nenhuma inibição do crescimento nas larvas de *C. riparius*. As larvas cresceram em ambos os sedimentos, sendo até maior nos sedimentos poluídos, fato explicado pelo excesso de nutrientes despejados nos lagos.

Segundo Vedamanikam (2009) os insetos são adaptáveis e desenvolvem resistência às substâncias químicas quando expostos a substâncias tóxicas por um longo período. Seus experimentos mostraram formação de resistência do *Chironomus plumosus* a quatro pesticidas

ao longo de 45 gerações. O autor ainda acredita que larvas de dípteros criadas em água contaminada podem ser menos afetadas pela poluição que organismos de águas limpas, devido ao desenvolvimento de tolerância e adaptações fisiológicas aos poluentes. Acredita-se que as larvas de *C. sancticaroli* da geração F2, se adaptaram às condições de exposição prolongada e se tornaram mais tolerantes ao sedimento de cana-de-açúcar. Estudos realizados por Wentsel et al. (1978) também confirmam esse achado. Os resultados mostraram que em sedimentos altamente contaminado com cádmio, zinco e cromo, as larvas de *C. tentans* tiveram maior porcentagem de sobrevivência (75%) e se desenvolveram melhor (1,53 cm) que nos pontos de referência que tiveram apenas 47,5% de organismos sobreviventes e o comprimento das larvas foi de aproximadamente 1,0 cm.

A família Chironomidae é amplamente distribuída em muitos ecossistemas de água doce. Esse grupo é o mais adaptado em relação aos demais insetos aquáticos e certas espécies apresentam adaptações ecológicas e biológicas que as tornam aptas a explorar diferentes hábitat, como exemplo ambiente de alta temperatura, pH, conteúdo de matéria orgânica no sedimento e baixo oxigênio dissolvido na interface água-sedimento (ARMITAGE et al., 1995). Essa família já foi registrada tanto em ambientes limpos quanto em ambientes contaminados (CORTEZZI et al., 2009; HEPP et al., 2010; SURIANO; FONSECA-GESSNER, 2013).

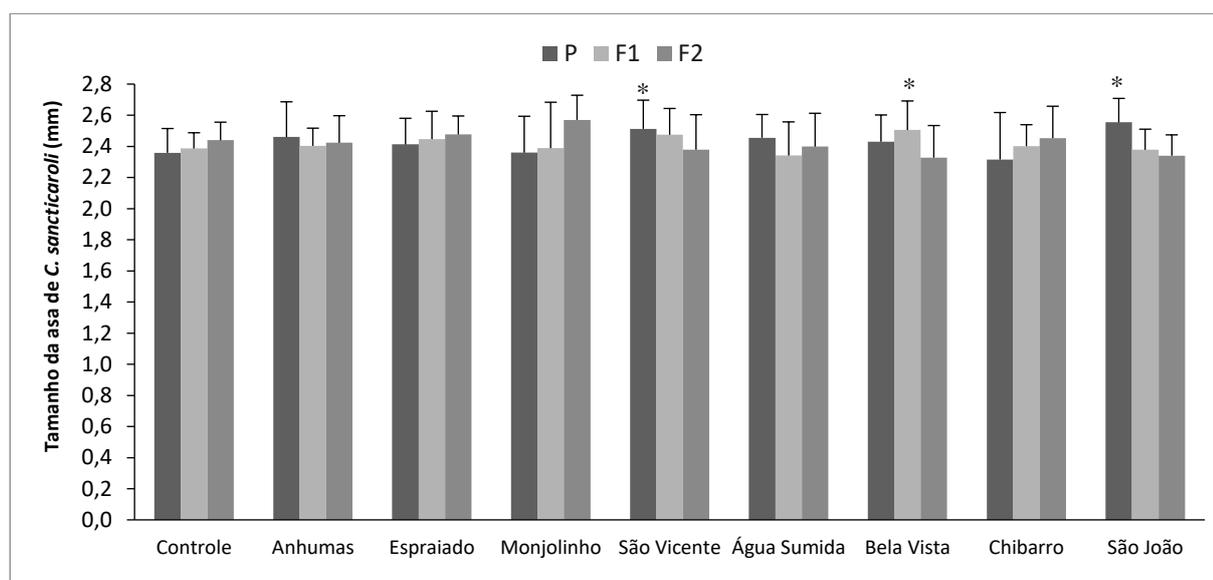
No presente estudo organismos dessa família foram registrados nos dois tipos de uso e ocupação do solo, sendo mais dominante nos córregos de cana-de-açúcar (Tabela 6). Estudos anteriores (CORBI; TRIVINHO-STRIXINO, 2008; 2017) também registraram predomínio das larvas de *Chironomus* nos córregos com atividade canavieira, com mais de 50 exemplares encontrados em cada córrego, enquanto nas áreas de mata foram registrados aproximadamente 5 exemplares.

Isso mostra que a espécie *Chironomus* tem a capacidade de se adaptar para conseguir sobreviver em diferentes ambientes, inclusive nos de cana-de-açúcar. Em termos ecológicos, as adaptações fisiológicas dos organismos e a manutenção do crescimento tem sua importância nos processos funcionais dos ecossistemas, pois uma redução no crescimento, resultante da exposição de sedimentos contaminados pode reduzir a biomassa, e conseqüentemente reduzir a quantidade de alimentos disponíveis para níveis tróficos mais altos, como exemplos os peixes, que se alimentam das larvas de *Chironomus* (SIBLEY et al., 1997). No presente trabalho, foi verificada a influência positiva no crescimento dos organismos ao longo das gerações, o que é bom para a manutenção da dinâmica do ecossistema aquático, mesmo diante do constante aporte de produtos agrícolas no ambiente.

5.3.3.2. Tamanho da asa e fecundidade potencial

Na Figura 28 está apresentado o tamanho médio, em mm, e o desvio padrão das asas das fêmeas de *C. sancticaroli* emergidas durante as gerações P, F1 e F2. Na geração P, o tamanho das asas das fêmeas do controle foi de 2,36 mm. Nos córregos de mata, variou de 2,36 a 2,51 mm e nos córregos de cana-de-açúcar, variou de 2,32 a 2,55 mm. Na geração F1, o tamanho das asas das fêmeas do controle foi de 2,39 mm. Nos córregos de mata, variou de 2,39 a 2,47 mm e nos córregos de cana-de-açúcar, variou entre 2,34 e 2,50 mm. Para a geração F2, o tamanho das asas das fêmeas do controle foi de 2,44 mm. Nos córregos de mata, variou entre 2,38 e 2,57 mm e nos córregos de cana-de-açúcar, variou de 2,33 a 2,45 mm. No geral, o tamanho das asas ficou dentro do comumente observado para a espécie, que varia de 2,34 a 3,51 mm, com média de 2,98 mm (TRIVINHO-STRIXINO, 1980).

Figura 28 - Tamanho médio e desvio padrão da asa das fêmeas de *Chironomus sancticaroli* (mm) emergidas durante o teste de gerações para as gerações P, F1 e F2 expostas ao controle e aos sedimentos dos córregos de mata (Anhumas, Espraiado, Monjolinho e São Vicente) e de cana-de-açúcar (Água Sumida, Bela Vista, Chibarro e São João). (*) Presença de diferença significativa dos tratamentos com o controle ($p < 0,05$).

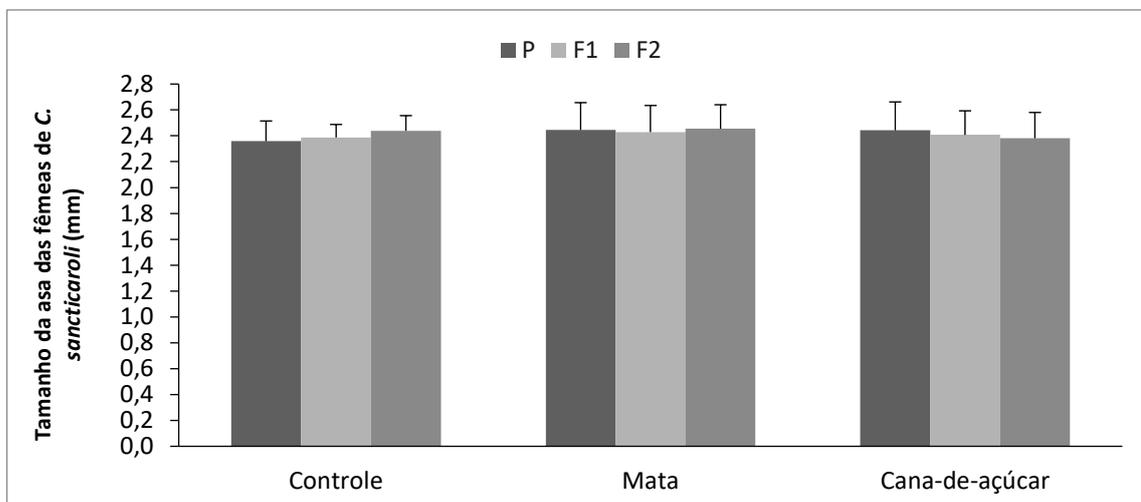


Fonte: Elaborada pela autora (2021).

Os testes estatísticos de Kruskal-Wallis e Post Hoc de Dunn's apontaram diferença estatística na geração P ($p < 0,05$) entre o controle e os córregos São Vicente e São João, que apresentaram os maiores tamanhos de asa (2,51 mm e 2,55 mm, respectivamente). Na geração F1, houve diferença estatística apenas entre o controle e o córrego Bela Vista que apresentou tamanho de asa mais elevado (2,50 mm) que o controle e os demais córregos. Na geração F2 não houve diferença estatística entre o controle e todos os córregos ($p > 0,05$).

Comparando as duas áreas de uso e ocupação do solo (Figura 29), nota-se que o tamanho da asa das fêmeas de *C. sancticaroli* foi reduzindo ao longo das gerações nas áreas de cana-de-açúcar, enquanto nas áreas de mata foi semelhante entre as três gerações. Os testes indicaram similaridade no tamanho das asas entre os córregos de cana-de-açúcar e de mata ($p > 0,05$) nas gerações P e F1, ao passo que, na geração F2, os testes apontaram diferença significativa entre ambas as áreas. Isso mostra que nas primeiras gerações do ciclo de vida das fêmeas de *C. sancticaroli*, a cana-de-açúcar não é capaz de influenciar no tamanho da asa, mas começa a ter uma interferência na geração seguinte (F2).

Figura 29 - Tamanho médio e desvio padrão da asa das fêmeas de *Chironomus sancticaroli* (mm) emergidas durante o teste de gerações para as gerações P, F1 e F2, representado por uso e ocupação do solo.



Fonte: Elaborada pela autora (2021).

É interessante observar que nos córregos de cana-de-açúcar, o comportamento do tamanho da asa foi contrário ao comprimento das larvas (Figura 27), ou seja, o comprimento das larvas aumentou, enquanto o tamanho da asa diminuiu ao longo das gerações. As larvas possuem reservas energéticas que podem ser distribuídas nos processos de desintoxicação, desenvolvimento e reprodução (ARAMBOUROU et al., 2013). Esse processo pode ter influenciado no crescimento do corpo das larvas de *C. sancticaroli*, o que resultou na redução de energia alocada para o crescimento das asas das fêmeas.

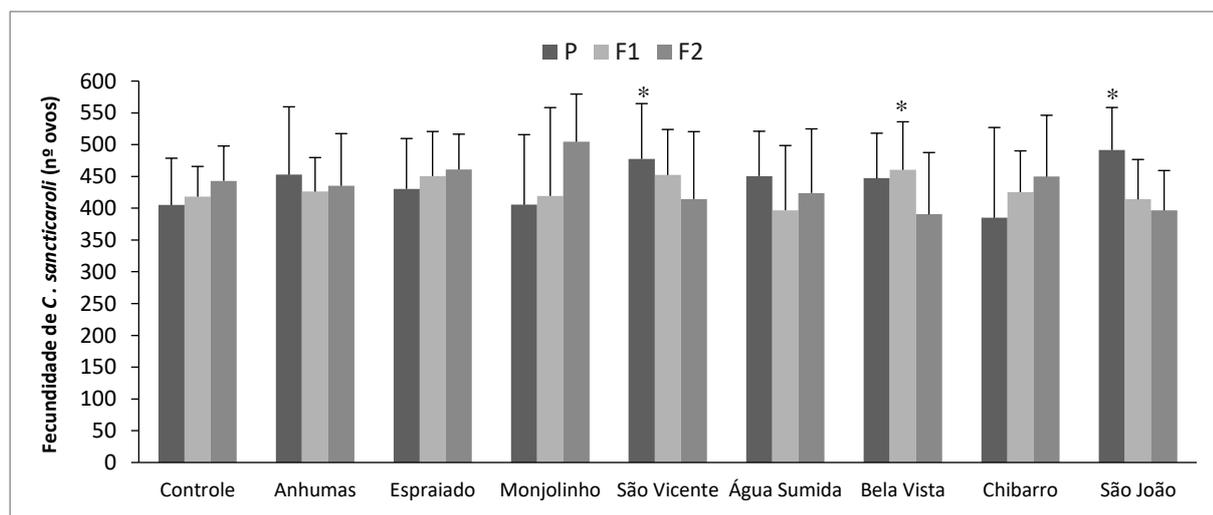
Outro ponto interessante de observar é que nos ambientes mais limpos e com presença de mata ciliar, o tamanho da asa praticamente se manteve constante ao longo das gerações. Ecologicamente, essa situação tem um impacto positivo na manutenção da população de *Chironomus* na natureza, pois o tamanho da asa está diretamente relacionado à fecundidade (número de ovos depositados pelas fêmeas). Por outro lado, em áreas impactadas, como as de cana-de-açúcar, a redução do tamanho da asa pode comprometer a fecundidade das fêmeas, o

que causaria a redução da prole das gerações subsequentes e possivelmente a extinção da espécie.

A partir do tamanho da asa das fêmeas de *C. sancticaroli* foi estimada a fecundidade potencial e seus valores e o respectivo desvio padrão para as gerações P, F1 e F2 estão apresentados na Figura 30. Na geração P, a fecundidade das fêmeas do controle foi de 405 ovos. Nos córregos de mata, variou de 405 a 478 ovos e nos córregos de cana-de-açúcar, variou entre 385 e 492 ovos. Na geração F1, a fecundidade das fêmeas do controle foi de 418 ovos. Nos córregos de mata, variou de 419 a 452 ovos e nos córregos de cana-de-açúcar, variou entre 397 e 460 ovos. Para a geração F2, a fecundidade das fêmeas do controle foi de 443 ovos. Nos córregos de mata, variou entre 414 e 505 ovos e nos córregos de cana-de-açúcar, variou de 390 a 450 ovos.

Conforme obtido para o tamanho das asas, ao aplicar o teste de Kruskal-Wallis e o teste Post Hoc de Dunn's foi verificada diferença estatística na geração P ($p < 0,05$) entre o controle e os córregos São Vicente e São João; na geração F1 entre o controle e o córrego Bela Vista e na geração F2 não houve diferença estatística entre o controle e os demais córregos ($p > 0,05$).

Figura 30 - Fecundidade potencial média (nº de ovos) e desvio padrão das fêmeas de *Chironomus sancticaroli* emergidas durante o teste de gerações para as gerações P, F1 e F2 expostas ao controle e aos sedimentos dos córregos de mata (Anhumas, Espriado, Monjolinho e São Vicente) e de cana-de-açúcar (Água Sumida, Bela Vista, Chibarro e São João). (*) Presença de diferença significativa dos tratamentos com o controle ($p < 0,05$).

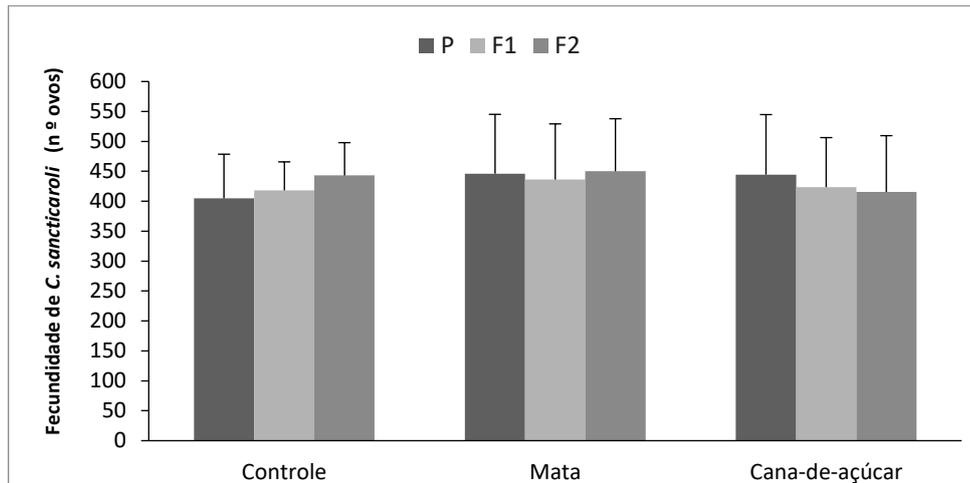


Fonte: Elaborada pela autora (2021).

Comparando as duas áreas de uso e ocupação do solo (Figura 31), percebe-se que a fecundidade potencial nos córregos de cana-de-açúcar foi diminuindo ao longo das gerações, enquanto nas áreas de mata se manteve semelhante entre as três gerações. Na geração P e F1, os testes de Kruskal-Wallis e o Post Hoc de Dunn's indicaram semelhança no número de ovos

produzidos pelas fêmeas entre os córregos de cana-de-açúcar e de mata ($p > 0,05$). Porém, na geração F2, houve diferença estatística entre ambas as áreas ($p < 0,05$). Isso mostra que nas primeiras gerações do ciclo de vida das fêmeas de *C. sancticaroli*, a cana-de-açúcar não influenciou na fecundidade das fêmeas, mas uma interferência começa a ser percebida na geração seguinte (F2).

Figura 31: Fecundidade potencial média (nº de ovos) e desvio padrão das fêmeas de *Chironomus sancticaroli* emergidas durante o teste de gerações para as gerações P, F1 e F2, representada por uso e ocupação do solo.



Fonte: Elaborada pela autora (2021).

As espécies de *Chironomus* têm sido amplamente utilizadas em testes de laboratório na avaliação da toxicidade de vários contaminantes (SCHULER et al., 2005; FERREIRA-JUNIOR et al., 2017; BEGHELLI et al., 2018; DORNFELD et al., 2019; FELIPE et al., 2021). A maioria dos testes realizados é de curto prazo, concentram-se apenas na avaliação da sobrevivência e do crescimento de uma parte do ciclo de vida do organismo-teste (DORNFELD, 2006; PRINTES et al., 2011; NOVELLI et al., 2012; SOUTO et al., 2019). Porém, o impacto das substâncias tóxicas pode afetar outras características da espécie analisada, como exemplo, tamanho da asa, fecundidade, fertilidade, má-formação da corda de ovos, emergência de adultos, tempo de emergência, proporção sexual, que são mais bem monitorados quando todo o ciclo de vida do organismo-teste é incluído na realização dos testes (VOGT et al., 2007; BERNEGOSSI et al., 2019; CAMPOS et al., 2019; PINTO et al., 2021).

Essas respostas podem ainda ser extrapoladas com testes multigeracionais mostrando que a exposição dos pais a um estressor pode ou não afetar a sensibilidade e a qualidade da prole aos estressores nas gerações posteriores (TOWNSEND et al., 2012). Os resultados do presente estudo mostraram que a presença de metais no sedimento de áreas de cana-de-açúcar não afetaram o tamanho de asa e a fecundidade das fêmeas de *C. sancticaroli* na primeira prole (geração F1), ou seja, essa espécie se mostrou mais tolerante aos contaminantes do sedimento

nas primeiras gerações. Ao passo que uma sensibilidade ao sedimento de cana-de-açúcar começa a ser observada na prole seguinte (geração F2), com redução do tamanho da asa e da fecundidade. Por outro lado, Dell'Acqua (2017), Bernegossi (2019), e Felipe (2019), conseguiram observar interferência a partir da primeira geração (F1) no tamanho de asa e na fecundidade das fêmeas de *C. sancticaroli* expostos à cafeína, ao hormônio 17 α -etinilestradiol e ao surfactante LAS.

Em estudos de uma única geração, Morais et al. (2020) observaram semelhança no tamanho da asa das fêmeas de *C. sancticaroli* expostos na concentração de 0,1 e 1,0 $\mu\text{g L}^{-1}$ de ftalato de butil benzílico, enquanto para as exposições de 50 $\mu\text{g L}^{-1}$ de antimônio e ao inseticida lindano, foram observados efeitos de redução no comprimento das asas (HIRTHE et al., 2001). Em contrapartida, efeitos de crescimento das asas de *C. riparius* foram observados com análises morfológicas em exposição aos microplásticos (STANKOVIĆ et al., 2020) e a sedimentos de campo contaminado com pesticidas, ftalatos e hidrocarbonetos aromáticos policíclicos (ARAMBOUROU et al., 2019). Em exposições com o inseticida malathion, o tamanho da asa reduziu de 3,1 mm do controle para 2,8 mm na maior concentração testada (0,1 $\mu\text{g L}^{-1}$) (Rebechi, 2012).

No ambiente natural da espécie *C. sancticaroli*, Trivinho-Strixino (1980) encontrou fecundidade variando de 528 a 736 ovos, com média de 646 ovos de fêmeas coletadas em campo. Em outros trabalhos, como o de Fonseca e Rocha (2004) foram encontrados de 500 a 600 ovos. Estudos com sedimento de campo, no rio Mississippi (EUA) analisando apenas uma única geração, mostraram que a fecundidade das fêmeas de *C. tentans* não apresentou diferença entre os pontos contaminados e o ponto de referência (BENOIT et al., 1997), o que condiz com os resultados do presente estudo, para a geração P e F1. Em estudos com microplástico a fecundidade das fêmeas de *C. sancticaroli* também não foi afetada (CASTRO, 2020).

Assim como no presente estudo, Rebechi (2012) também observou efeitos negativos sobre a fecundidade das fêmeas *C. sancticaroli*, em que a fecundidade sofreu uma redução de 13% na concentração de 0,1 $\mu\text{g L}^{-1}$ de malathion comparada com o controle, enquanto na concentração maior (0,25 $\mu\text{g L}^{-1}$) não foram observadas alterações significativas. Tassou e Schulz (2011) observaram que na maior concentração testada em laboratório (156,3 $\mu\text{g kg}^{-1}$) do pesticida Teflubenzuron fez com que nenhuma das fêmeas de *C. riparius* depositassem ovos na geração P. Lilley et al. (2012) observaram aumento da fecundidade de *C. riparius* ao longo de cinco gerações na concentração de 30 $\mu\text{g kg}^{-1}$ de Tributyltina. Por outro lado, exposições de Benzofeno-3 não afetaram a fecundidade de *C. riparius*, mas uma forte relação foi observada

para a fertilidade, em que nenhuma das cordas de ovos eclodiu na concentração de 8 mg kg^{-1} (CAMPOS et al., 2019).

Em outros organismos, o comprometido da reprodução foi observado em vários estudos. Em *Daphnia magna* exposta a duas gerações do pesticida diazinon, a reprodução foi significativamente reduzida em concentrações superiores a $0,05 \text{ ng L}^{-1}$ (SANCHEZ et al. 1999). Em peixes, a fertilidade dos adultos na geração P e a eclodibilidade na geração F1 foi reduzida em exposição a diferentes pesticidas (HOLDWAY et al., 2008). Para *Ceriodaphnia dubia*, não foram observados efeitos adversos para a primeira geração, mas perturbações na reprodução começaram a ser observadas a partir da segunda e terceira geração, em exposição às águas pluviais urbanas (GOSSET et al., 2018). Oliveira-Filho et al. (2009) também mostraram efeitos adversos da exposição de endosulfan na produção de ovos e na massa de ovos colocadas pela geração F0 de caracóis, além de observarem efeitos de má formação e redução da eclosão da geração seguinte.

Os testes de gerações podem apresentar diferentes respostas, pois os efeitos tóxicos dos contaminantes podem diminuir, aumentar ou permanecer inalterados ao longo das gerações (BARATA et al., 2017). Esse fato foi confirmado por Im et al. (2019) que observaram maior sensibilidade *C. riparius* aos sedimentos de campo contaminados por metais na geração F2, decorrente da exposição contínua aos metais, e menor sensibilidade na geração F4 decorrente de uma recuperação e adaptação fisiológica dos organismos aos contaminantes. Os autores ainda sugerem que nas primeiras gerações os organismos enfrentaram estresse e evocaram os mecanismos de defesa, enquanto nas gerações subsequentes, se adaptaram às condições tóxicas de exposição ao sedimento. Com base nessa relação, sugere-se que as fêmeas de *C. sancticaroli* possivelmente desenvolveram mecanismos de defesa na geração P e F1, tornando-se menos sensíveis ao sedimento de cana-de-açúcar, mas em decorrência da exposição contínua, passaram a desenvolver uma maior sensibilidade aos compostos presentes no sedimento.

Esse comportamento de adaptação tem grande relevância na natureza, pois ajudaria as populações de *Chironomus* a sobreviver em ambientes de constantes mudanças (WAISSI et al., 2017), como no caso da cana-de-açúcar que passa por diversas etapas, de semeadura e colheita, aplicação de produtos químicos e retirada da cobertura do solo. O desenvolvimento de adaptações foi observado em *C. riparius* expostos ao cádmio por nove gerações (POSTMA;

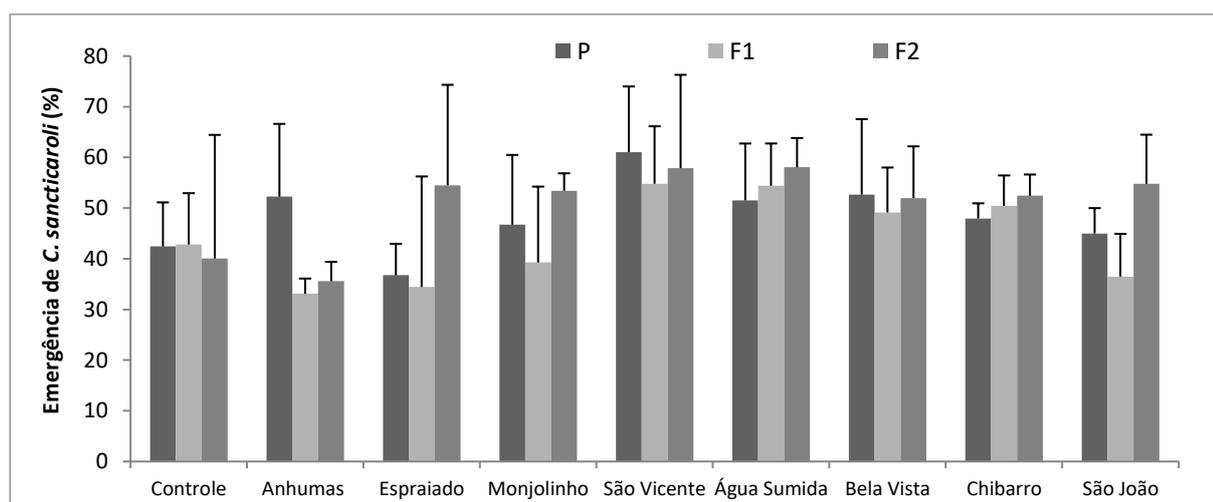
DAVIDS, 1995) e por populações do crustáceo *Gammarus pulex*, em córregos altamente contaminados com pesticidas (SHAHID et al., 2018).

Testes de toxicidade multigeracionais utilizando sedimentos de campo nas análises da fecundidade e do tamanho da asa em *Chironomus*, envolvendo áreas de cana-de-açúcar, ainda são escassos, pois os estudos são mais direcionados para análises de um ou mais pesticidas em específico, em concentrações letais e subletais testadas em laboratório utilizando sedimentos artificiais. Assim sendo, os resultados do presente estudo são de grande contribuição, pois permitem avaliar a toxicidade de metais no sedimento em condições mais realistas de um ambiente que apresenta uma combinação de várias substâncias como matéria orgânica, metais e pesticidas, mostrando que a contaminação em áreas de cana-de-açúcar aparentemente não é tóxica para o tamanho da asa e a fecundidade das fêmeas de *C. sancticaroli* nas primeiras gerações.

5.3.3.3. Emergência de adultos

Na Figura 32 estão apresentados os valores médios, em porcentagem, e o desvio padrão da emergência de adultos de *C. sancticaroli* para as gerações P, F1 e F2.

Figura 32 - Emergência média (%) e desvio padrão dos adultos de *Chironomus sancticaroli* nas gerações P, F1 e F2 expostas ao controle e aos sedimentos dos córregos de mata e de cana-de-açúcar.



Fonte: Elaborada pela autora (2021).

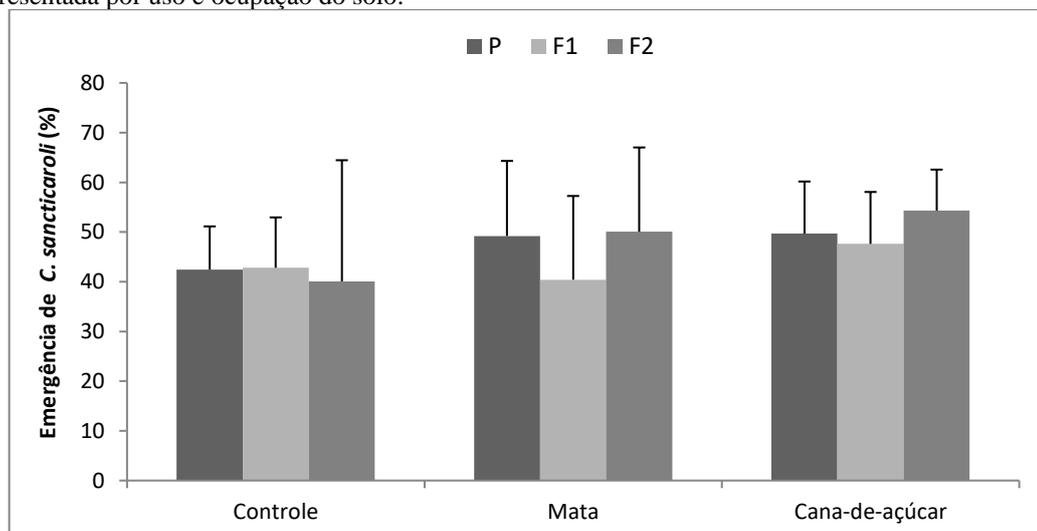
No geral, nota-se que a emergência diminuiu da geração P para a F1 e depois aumentou da geração F1 para a F2. Na geração P, houve emergência de 42% dos organismos no controle, entre 37 e 61% nos córregos de mata e entre 45 a 53% nos córregos de cana-de-açúcar. Na

geração F1, a emergência do controle foi de 43%, nos córregos de mata variou de 33 a 55% e nos córregos de cana-de-açúcar variou de 36 a 54%. Na geração F2, a emergência do controle foi de 40%, nos córregos de mata variou de 36 a 58% e nos córregos de cana-de-açúcar variou de 52 a 58%. Os testes estatísticos de Kruskal-Wallis e o teste Post Hoc de Dunn's não evidenciaram diferença estatística entre os tratamentos para as três gerações.

Comparando por uso e ocupação do solo (Figura 33), percebe-se que o padrão de emergência dos adultos dos córregos de mata foi semelhante aos córregos de cana-de-açúcar, diminuindo da geração P para a F1 e aumentando da geração F1 para a F2. As porcentagens de emergência em ambas as áreas, se mantiveram entre 40 e 50% nas três gerações.

Estatisticamente, os testes mostraram que, para as condições testadas, a emergência de adultos de *C. sancticaroli* não sofre influência significativa da exposição prolongada aos sedimentos dos córregos de cana-de-açúcar por três gerações, pois os testes não mostraram diferença significativa entre as áreas de mata e de cana-de-açúcar ($p > 0,05$).

Figura 33 - Emergência média (%) e desvio padrão dos adultos de *Chironomus sancticaroli* nas gerações P, F1 e F2, representada por uso e ocupação do solo.



Fonte: Elaborada pela autora (2021).

A emergência de adultos é um parâmetro frequentemente usado para avaliar os efeitos das substâncias tóxicas aos *Chironomus* (WATTS et al., 2001; PRINTES et al., 2011; CAMPOS et al., 2019; IM et al., 2019; PINTO et al., 2021). Sua análise é importante, pois qualquer redução ou retardamento da emergência pode ter um impacto negativo na manutenção das populações dessa espécie ao longo do tempo (RAKOTONDRAVELO et al., 2006).

Estudos de várias gerações com *Chironomus* expostos a diferentes contaminantes sugerem que os organismos vão diminuindo a sensibilidade a um determinado tóxico e

desenvolvendo maior tolerância ao longo das gerações, devido a uma adaptação genética (POSTMA; DAVIDS, 1995; VOGT et al., 2007; VEDAMANIKAM, 2009), fazendo com que cada vez mais indivíduos tolerantes sejam selecionados diante das condições de estresse ambiental (BEAUDOUIN et al., 2012). Na natureza, esse tipo de comportamento é muito relevante, pois a rápida adaptação e a seleção de organismos tolerantes ajudariam a população de *Chironomus* a sobreviver em ambientes de constante mudança, como exemplo, as áreas agrícolas. Acredita-se que os organismos do presente estudo cultivados nos sedimentos das áreas de cana-de-açúcar desenvolveram esse mecanismo de adaptação, pois a emergência dos adultos de *C. sancticaroli* não foi afetada significativamente por essas áreas.

Aumento de emergência de adultos de *C. riparius* expostos a sedimento de campo contaminado com metais ao longo de duas gerações foi observado em estudos na Coreia (IM et al., 2019). Em testes de uma única geração com sedimentos de rios contaminados com compostos orgânicos, a emergência de adultos *C. tentans* não foi afetada significativamente e variou de 60 a 71% (BENOIT et al., 1997). Exposições crônicas à atrazina e DDT também não afetaram significativamente a emergência de adultos de *C. riparius* (RAKOTONDRAVELO et al., 2006). O mesmo foi observado por Castro (2020) em *C. sancticaroli* expostos a microplásticos. Por outro lado, exposições ao inseticida fipronil por três gerações prejudicaram a sobrevivência de adultos de *C. sancticaroli* e nas três maiores concentrações desse composto (0,7; 1,1 e 1,6 $\mu\text{g L}^{-1}$), a população dessa espécie foi extinta no final da primeira geração (PINTO et al., 2021).

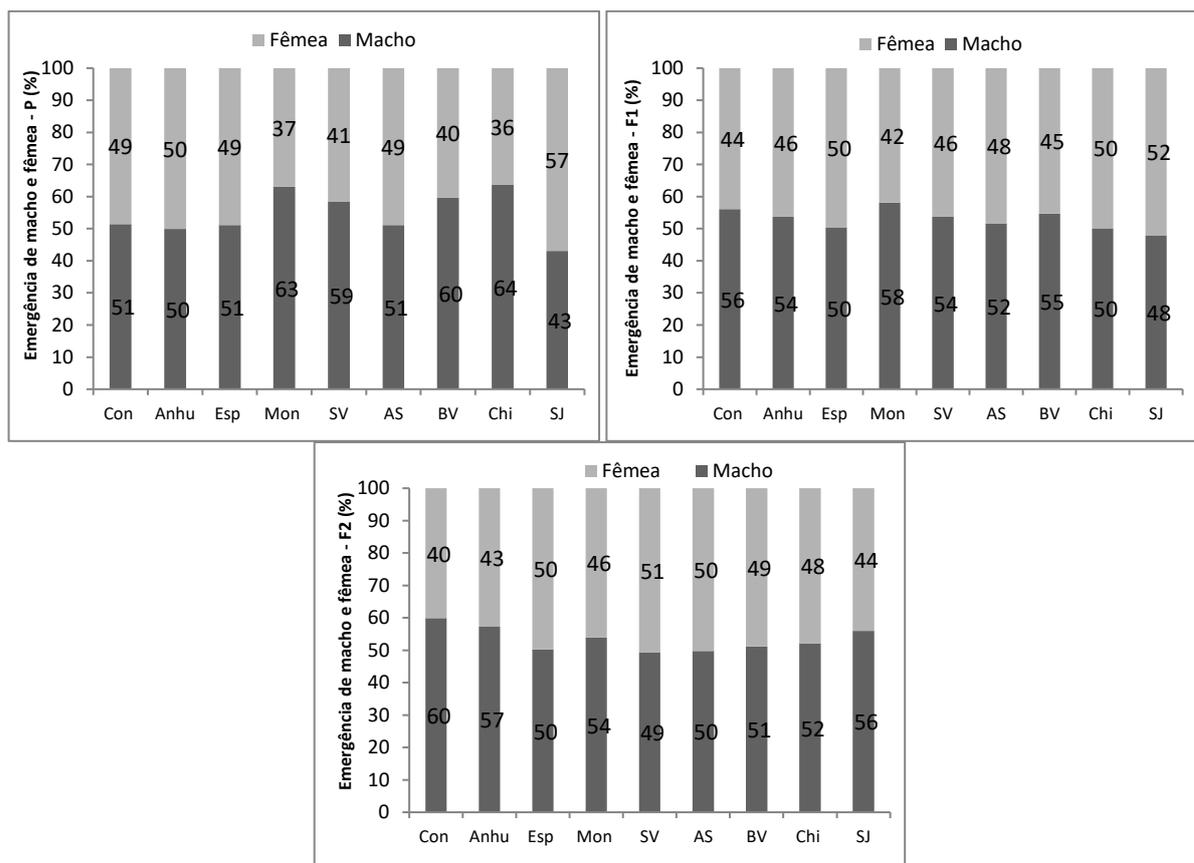
Apesar da emergência de adultos não ser afetada em alguns casos, outros parâmetros do ciclo de vida do *Chironomus*, como sobrevivência de larvas e pupas, atraso na emergência total de adultos, diferença na proporção sexual e no tempo de emergência entre machos e fêmeas, ocorrência de anormalidade e redução do número de cordas de ovos depositadas pelas fêmeas, alteração na fecundidade e fertilidade, podem ser comprometidos (HIRTHE et al., 2001; NYAKEYA et al., 2018; FELIPE et al., 2021; PINTO et al., 2021). No presente trabalho, apenas a fecundidade e razão sexual de machos e fêmeas foram analisadas. Os demais parâmetros não foram investigados para confirmar se a exposição ao sedimento de cana-de-açúcar poderia causar alguma influência nesses outros aspectos do ciclo de vida do *C. sancticaroli*.

5.3.3.4. Emergência de machos e fêmeas

Na Figura 34 está apresentada a emergência de machos e fêmeas de *C. sancticaroli*, em porcentagem, e o desvio padrão dos organismos emergidos durante as gerações P, F1 e F2.

Nota-se que no geral, houve um padrão de maior emergência de machos em relação às fêmeas nas três gerações, exceto para os córregos São João, na geração P e F1 e São Vicente, na geração F2 que tiveram a proporção de emergência de fêmeas superior as de machos. Na geração P, a razão sexual do controle foi de 51%M:49%F, nos córregos de mata a proporção de machos variou de 50 a 63% e de fêmeas entre 37 e 50%. Nos córregos de cana-de-açúcar variou de 43 a 64% para os machos e entre 36 e 57% para as fêmeas. Na geração F1, a razão sexual do controle foi de 56%M:44%F, nos córregos de mata a proporção de machos variou de 50 a 58% e de fêmeas entre 42 e 50%. Nos córregos de cana-de-açúcar, a proporção de machos variou de 48 a 55% e de fêmeas entre 45 e 52%. Na geração F2, a razão sexual do controle foi de 60%M:40%F, nos córregos de mata a proporção de machos variou de 49 a 57% e de fêmeas entre 43 e 51%. Nos córregos de cana-de-açúcar variou de 50 a 56% para os machos e entre 44 e 50% para as fêmeas.

Figura 34 - Emergência média (%) e desvio padrão de machos e fêmeas de *Chironomus sancticaroli* (%) nas gerações P, F1 e F2 expostas ao controle e aos sedimentos dos córregos de mata e de cana-de-açúcar.

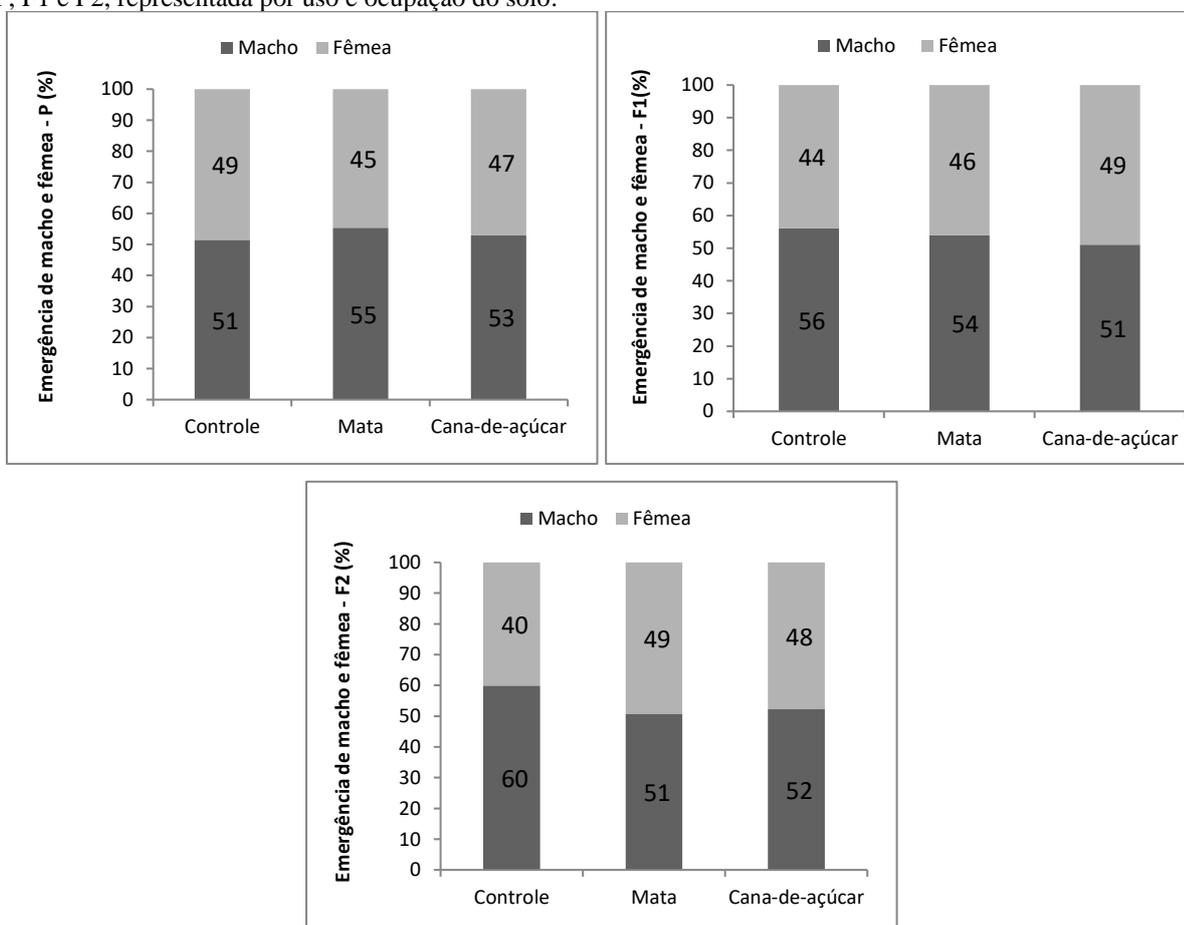


(*) Mata: Anhu=Anhumas; Esp=Espreado; Mon=Monjolinho; SV=São Vicente; Cana-de-açúcar: AS= Água Sumida; BV=Bela Vista; Chi=Chibarro e SJ=São João. Fonte: Elaborada pela autora (2021).

Não houve diferença significativa entre os tratamentos nas três gerações ($p>0,05$), de acordo com os testes de Kruskal-Wallis e o Post Hoc de Dunn's. Ainda é possível observar que houve uma mudança no padrão de emergência no córrego São João, na geração P e F1, e no córrego São Vicente, na geração F2, ocorrendo mais emergência de fêmeas em relação aos machos.

Na análise comparativa por uso e ocupação do solo (Figura 35), percebe-se que o padrão de emergência dos adultos de machos e fêmeas acompanhou os mesmos resultados da análise individual de cada córrego (Figura 34), sendo a proporção de machos maior que a de fêmeas em todos os tratamentos. Na geração P, a razão sexual nos córregos de mata foi de 55%M:45%F e nos córregos de cana-de-açúcar foi de 53%M:47%F. Na geração F1, a razão sexual nos córregos de mata foi de 54%M:46%F e nos córregos de cana-de-açúcar foi de 51%M:49%F. Na geração F2, a razão sexual nos córregos de mata foi de 51%M:49%F e nos córregos de cana-de-açúcar foi de 52%M:48%F. Os testes de Kruskal-Wallis e o Post Hoc de Dunn's não mostraram diferença significativa entre os tratamentos nas três gerações.

Figura 35 - Emergência média (%) e desvio padrão de machos e fêmeas de *Chironomus sancticarioli* nas gerações P, F1 e F2, representada por uso e ocupação do solo.



Fonte: Elaborada pela autora (2021).

Nota-se, no geral, que a proporção de emergência de machos e fêmeas de *C. sancticaroli* foi semelhante nas áreas de mata e de cana-de-açúcar nas três gerações. Weltje e Bruns (2009) afirmam que a razão sexual para *C. riparius* na natureza é uniformemente distribuída, alcançando-se geralmente a proporção de 50%M:50%F, com baixos desvios. Para a espécie *C. dilutus*, Maloney et al. (2018) observaram uma proporção maior de emergência de machos em relação as fêmeas, o que pode estar relacionada a uma tendência da família Chironomidae, pois essas duas relações foram observadas para a espécie *C. sancticaroli* no presente estudo e por Bernegossi (2019) e Castro (2020).

Mudanças na sincronia da emergência masculina e feminina podem afetar o processo de acasalamento e a reprodução dos organismos (CAMPOS et al., 2019). Um número significativamente maior de machos em relação às fêmeas pode levar à redução da população de *Chironomus* devido ao número reduzido de fêmeas para a deposição de ovos (RAKOTONDRAVELO et al, 2006). Nota-se que a cana-de-açúcar não interferiu nesse processo, visto que houve sincronia de emergência de ambos os sexos, além disso, os organismos conseguiram se reproduzir e alcançar a terceira geração em todos os córregos amostrados.

A homogeneidade de emergência de machos e fêmeas de *C. sancticaroli* foi observada em exposições ao inseticida malation, com uma tendência de maior emergência de machos na concentração de $0,25 \mu\text{g L}^{-1}$ (REBECHI, 2012). Exposições crônicas de misturas individuais e binárias dos inseticidas thiamethoxam e clothianidin resultaram em tendências de uma mudança na relação sexual para populações dominantes masculinas de *C. dilutus* (MALONEY et al., 2018). Essa mesma relação foi observada para *C. riparius* expostos por duas gerações ao hormônio 17α -etinilestradiol (WATTS et al., 2001). Por outro lado, exposições ao herbicida 2,4-D, ao inseticida fipronil e as suas combinações alteraram o surgimento e a proporção de machos e fêmeas. Em algumas concentrações a emergência de macho foi abaixo de 40% ou não houve emergência (PINTO et al., 2021).

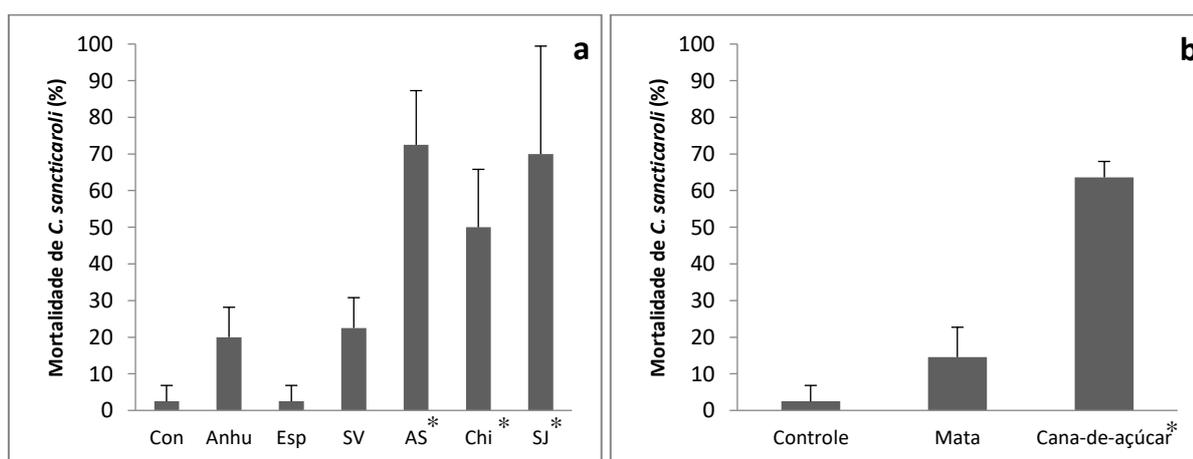
5.3.4. Teste de toxicidade crônica de longa duração com remoção da matéria orgânica

Para verificar se a ausência de matéria orgânica influenciou na mortalidade e no comprimento das larvas de *C. sancticaroli*, os resultados deste tópico foram comparados com os resultados do teste de toxicidade crônica (item 5.3.3), que foi realizado com a presença de

matéria orgânica e durante o mesmo período de exposição (10 dias). Da mesma forma, os resultados de tamanho de asa, fecundidade, emergência de adultos e de machos e fêmeas deste tópico foram comparados com os resultados da geração P do teste de geração (item 5.3.4), que foi realizado com a presença de matéria orgânica no sedimento. Procurou-se tomar o cuidado de sempre comparar condições semelhantes de exposição dos organismos para não haver divergência na interpretação dos resultados.

Na Figura 36a estão apresentados os valores médios, em porcentagem, e o desvio padrão da mortalidade de larvas de *C. sancticaroli* expostas ao teste de toxicidade crônica de longa duração com remoção da matéria orgânica. A mortalidade no controle ficou abaixo de 10%. Os córregos de cana-de-açúcar tiveram as maiores mortalidades, variando de 50 a 72%. Nos córregos de mata, a mortalidade foi baixa, com máxima de 22%. O teste de Kruskal-Wallis e o teste Post Hoc de Dunn's apontaram diferença estatística ($p < 0,05$) entre o tratamento controle e todos os córregos de cana-de-açúcar. Comparando os resultados por uso e ocupação do solo (Figura 36b), é possível observar que a ausência de matéria orgânica no sedimento causa uma mortalidade mais significativa ($p < 0,05$) nas áreas de cana-de-açúcar em relação as áreas de mata, em que mais de 60% das larvas de *C. sancticaroli* não sobreviveram à condição testada. Com isso, observa-se que a retirada da matéria orgânica do sedimento dos córregos de cana-de-açúcar influencia no aumento da mortalidade de *C. sancticaroli*.

Figura 36 - Valores médios e desvio padrão da mortalidade (%) de larvas de instar I de *Chironomus sancticaroli* expostas ao teste de toxicidade crônica de longa duração: a) mortalidade dos seis córregos analisados; b) mortalidade por uso e ocupação do solo (*) Presença de diferença significativa dos tratamentos com o controle ($p < 0,05$).



(**) Mata: Anhu=Anhumas; Esp=Espirado; SV=São Vicente; Cana-de-açúcar: AS= Água Sumida; Chi=Chibarro e SJ=São João. Fonte: Elaborada pela autora (2021).

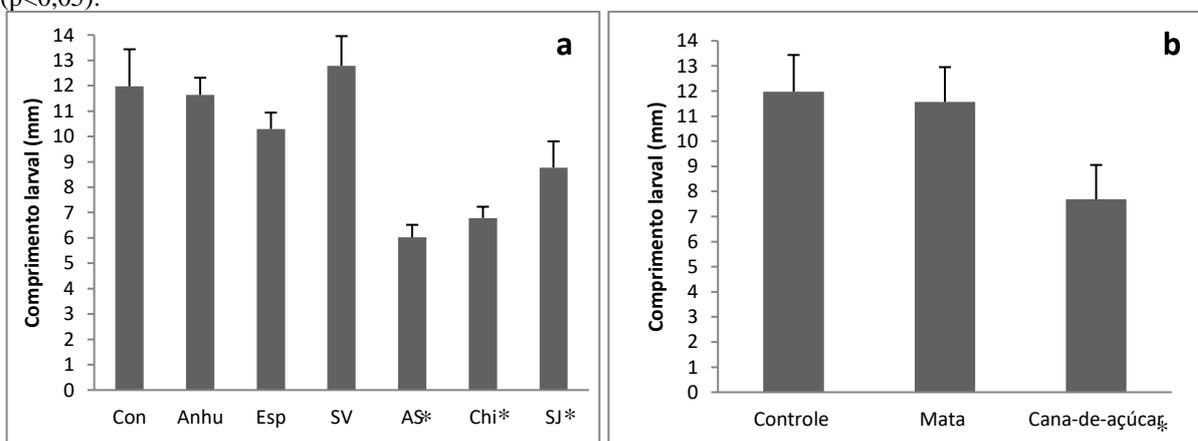
Ao comparar os resultados do teste de toxicidade crônica de longa duração com os resultados do teste de toxicidade crônica (Figura 24), percebe-se que a ausência de matéria

orgânica fez com que reduzisse a sobrevivência das larvas de *C. sancticaroli* nas áreas de cana-de-açúcar. Os metais têm alta capacidade de se ligarem à matéria orgânica (WARREN; ZIMMERMAN, 1994) e acredita-se que ao queimar a matéria orgânica, os metais ficaram mais disponíveis no sedimento, causando uma maior toxicidade aos organismos. Apesar dos córregos de mata também apresentarem metais, essas concentrações são baixas e provavelmente não foram suficientes para causar toxicidade nos organismos na ausência de matéria orgânica.

Lacey et al. (1999) também relataram impacto negativo na sobrevivência de *C. tentans* em experimentos com sedimentos naturais, em que a sobrevivência foi abaixo de 70% nas menores concentrações de matéria orgânica (6% e 7%). Suedel e Rogers (1994) realizaram um experimento em que expuseram por 10 dias larvas de *C. tentans* a várias concentrações de matéria orgânica (entre 0,13 e 7,8%) e outro experimento em que adicionaram diferentes quantidade de húmus ao sedimento. Os resultados mostraram uma intolerância da espécie a baixos teores de matéria orgânica, com uma redução estatisticamente significativa na sobrevivência (abaixo de 80%) em concentrações menores que 0,91% de matéria orgânica e de 0,76% de húmus.

Em relação ao comprimento das larvas de *C. sancticaroli* (Figura 37a), percebe-se que as larvas cresceram e se desenvolveram melhor nas áreas de mata. O comprimento médio das larvas no controle foi de 12 mm. Nos córregos de mata, variou de 10,29 a 12,78 mm e nos córregos de cana-de-açúcar, variou entre 6,02 e 8,77 mm. Estatisticamente, os testes One-Way Anova e Post Hoc de Tukey's mostraram diferença significativa ($p < 0,05$) entre o controle e todos os córregos de cana-de-açúcar.

Figura 37 - Valores médios e desvio padrão do comprimento de larvas de instar I de *Chironomus sancticaroli* (mm) expostas ao teste de toxicidade crônica de longa duração: a) comprimento dos seis córregos analisados; b) comprimento por uso e ocupação do solo (*) Presença de diferença significativa dos tratamentos com o controle ($p < 0,05$).



(**) Mata: Anhu=Anhumas; Esp=Espreado; SV=São Vicente; Cana-de-açúcar: AS=Água Sumida; Chi=Chibarro e SJ=São João. Fonte: Elaborada pela autora (2021).

Na comparação por uso e ocupação do solo (Figura 37b), os testes apontaram semelhança ($p>0,05$) entre o comprimento das larvas do controle e dos córregos de mata e diferença significativa das áreas de cana-de-açúcar com o controle e com as áreas de mata ($p<0,05$). Com isso, observa-se que a retirada da matéria orgânica do sedimento dos córregos de cana-de-açúcar influencia negativamente o crescimento de *C. sancticaroli*.

A ausência de mata ciliar nos córregos de cana-de-açúcar contribui para que diferentes compostos químicos utilizados no cultivo sejam depositados no sedimento dos córregos. Acredita-se que ao queimar a matéria orgânica do sedimento dessas áreas, outros contaminantes, como os metais e os pesticidas, podem ter ficado retidos nas amostras e causado a toxicidade nas larvas, prejudicando seu desenvolvimento.

Ao comparar os resultados do teste crônico de longa duração com os resultados do teste crônico (Figura 25), as áreas de mata tiveram um comportamento inesperado no comprimento das larvas, uma vez que, na ausência de matéria orgânica as larvas se desenvolveram e cresceram mais. Esse fato também foi observado por Lacey et al. (1999) testando diferentes fontes de matéria orgânica, em que houve maior crescimento das larvas de *C. tentans* nas menores concentrações de matéria orgânica (3% de folhas e 1% de musgo), comparado com as maiores concentrações testadas (5, 10 e 20%).

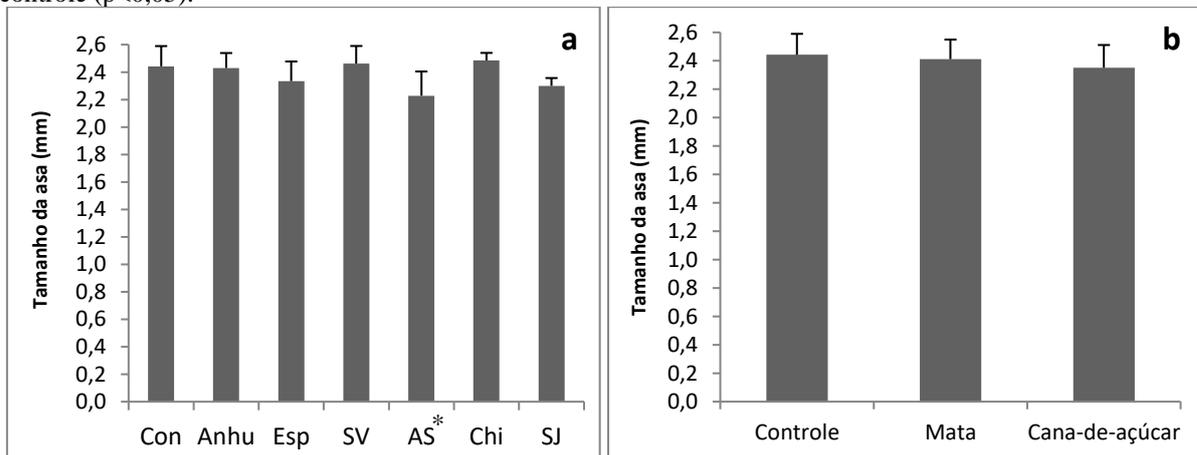
Outra possível explicação para o maior crescimento das larvas na ausência de matéria orgânica, pode estar relacionada ao aumento da ingestão alimentar como uma adaptação ao estresse de alimentos que tinham disponíveis.

No teste crônico, as larvas tinham como fonte de alimento a matéria orgânica do sedimento e a ração, adicionada no início e no meio do teste. No teste crônico de longa duração, as larvas passaram a ter somente como fonte de alimento, a ração adicionada semanalmente, o que fez com que as larvas desenvolvessem um mecanismo de adaptação em relação a restrição de alimento. Cabe ressaltar que os experimentos de retirada de matéria orgânica foram realizados uma única vez. Goedkoop et al. (2010) acreditam que em seus experimentos também houve um aumento da atividade alimentar de *C. riparius* devido ao estresse tóxico subletal como um provável mecanismo de defesa. Os autores perceberam que o tamanho dos adultos de *C. riparius* na concentração $0,8 \mu\text{g L}^{-1}$ do inseticida cipermetrina expostos a sedimentos

contendo 0% de matéria orgânica, era maior que na condição controle e em concentrações menores (0,05 e 0,2 $\mu\text{g L}^{-1}$ de cipermetrina).

Para o tamanho da asa das fêmeas de *C. sancticaroli* (Figura 38a), a remoção da matéria orgânica do sedimento causou diferença significativa entre o tratamento controle e o córrego Água Sumida ($p < 0,05$), por apresentar o menor comprimento. No controle, o tamanho da asa foi de 2,44 mm. Nos córregos de mata, variou de 2,33 a 2,46 mm e nos córregos de cana-de-açúcar, variou de 2,23 a 2,49 mm. Na comparação por uso e ocupação do solo (Figura 38b), os testes apontaram similaridade no tamanho da asa das fêmeas entre as áreas de mata e de cana-de-açúcar.

Figura 38 - Valores médios e desvio padrão do tamanho da asa das fêmeas de *Chironomus sancticaroli* (mm) expostas ao teste de toxicidade crônica de longa duração: a) comprimento da asa dos seis córregos analisados; b) comprimento da asa por uso e ocupação do solo. (*) Presença de diferença significativa dos tratamentos com o controle ($p < 0,05$).

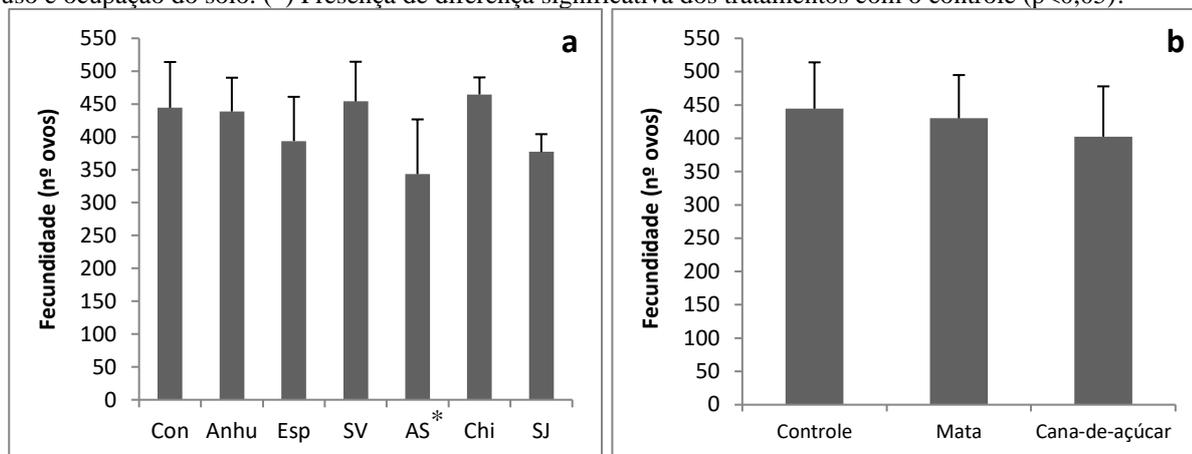


(**) Mata: Anhu=Anhumas; Esp=Espiraado; SV=São Vicente; Cana-de-açúcar: AS= Água Sumida; Chi=Chibarro e SJ=São João. Fonte: Elaborada pela autora (2021).

Em relação à fecundidade potencial de *C. sancticaroli* (Figura 39a), houve uma produção de 444 ovos no tratamento controle. Nos córregos de mata, a fecundidade variou de 394 a 454 ovos e nos córregos de cana-de-açúcar, variou de 343 a 465 ovos.

As diferenças estatísticas foram evidenciadas apenas para o córrego Água Sumida, pelo teste Kruskal-Wallis e o Post Hoc de Dunn's. Na análise comparativa por uso e ocupação do solo (Figura 39b) os testes estatísticos indicaram similaridade de produção de ovos entre ambas as áreas ($p > 0,05$).

Figura 39 - Valores médios e desvio padrão da fecundidade das fêmeas de *Chironomus sancticaroli* (mm) expostas ao teste de toxicidade crônica de longa duração: a) fecundidade dos seis córregos analisados; b) fecundidade por uso e ocupação do solo. (*) Presença de diferença significativa dos tratamentos com o controle ($p < 0,05$).



(**) Mata: Anhu=Anhumas; Esp=Espriado; SV=São Vicente; Cana-de-açúcar: AS= Água Sumida; Chi=Chibarro e SJ=São João. Fonte: Elaborada pela autora (2021).

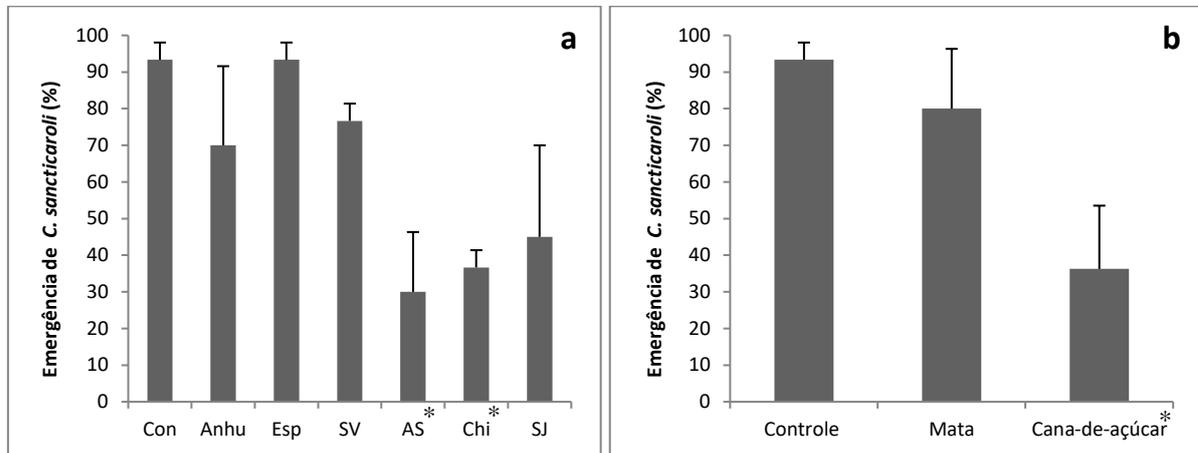
Apesar da ausência de matéria orgânica no sedimento ter reduzido o tamanho da asa e a produção de ovos da espécie *C. sancticaroli* nas áreas de cana-de-açúcar, essa redução não foi estatisticamente significativa em relação as áreas de mata. Ou seja, para ambas as áreas, a ausência de matéria orgânica parece não interferir nesses dois parâmetros. Do mesmo modo, não foi constatada diferença estatística para esses dois parâmetros entre as duas condições testadas (com e sem matéria orgânica). Isso indica que tanto na presença como na ausência de matéria orgânica, o tamanho da asa e a produção de ovos são similares.

Por outro lado, a emergência de adultos foi influenciada pela retirada de matéria orgânica do sedimento nas áreas de cana-de-açúcar (Figura 40a). Nos córregos de mata, a emergência variou entre 70 e 93%, enquanto nos córregos de cana-de-açúcar teve média de 37% de emergência. Pelo teste estatístico de Kruskal-Wallis e o teste Post Hoc de Dunn's, houve diferença estatística entre o controle e os córregos Água Sumida e Chibarro. Na análise comparativa por uso e ocupação do solo (Figura 40b), a emergência da área de cana-de-açúcar foi significativamente menor das áreas de mata e do controle ($p < 0,05$).

A baixa emergência de adultos de *C. sancticaroli* nas áreas de cana-de-açúcar pode estar relacionada com os compostos presentes nesses sedimentos, como os pesticidas e os fertilizantes, contendo metais em sua composição. Por terem afinidade de se ligarem a matéria orgânica, ao ser queimada, os metais e outras toxinas podem ter ficado disponíveis no

sedimento, causando uma maior toxicidade aos organismos. Além disso, o baixo crescimento das larvas também pode ter contribuído para a baixa taxa de emergência dos adultos.

Figura 40 - Emergência média (%) e desvio padrão dos adultos de *Chironomus sancticaroli* (%) expostos ao teste de toxicidade crônica de longa duração: a) emergência dos seis córregos analisados; b) emergência por uso e ocupação do solo. (*) Presença de diferença significativa dos tratamentos com o controle ($p < 0,05$).

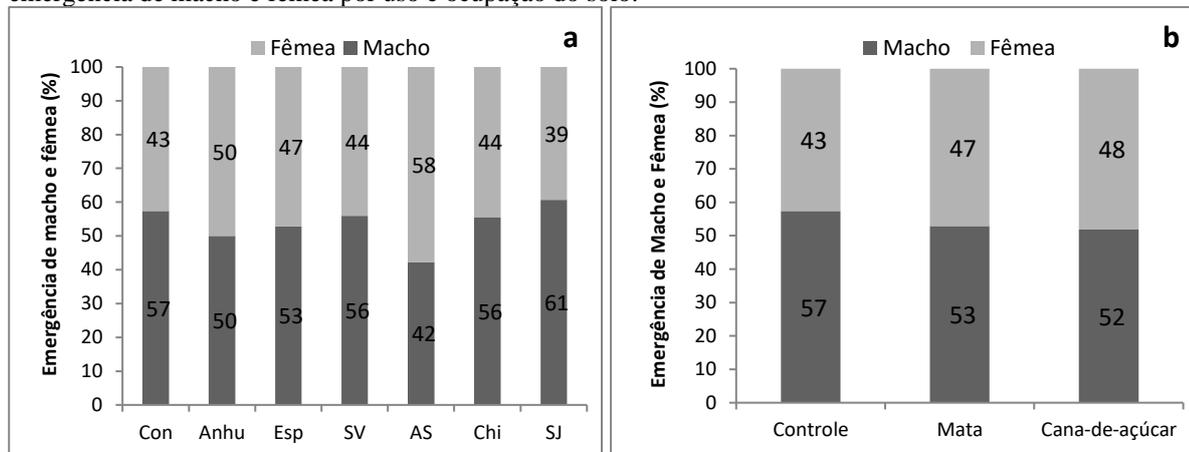


(**) Mata: Anhu=Anhumas; Esp=Espiraiado; SV=São Vicente; Cana-de-açúcar: AS= Água Sumida; Chi=Chibarro e SJ=São João. Fonte: Elaborada pela autora (2021).

Comparando a condição de presença de matéria orgânica (Figuras 32 e 33) e a condição de ausência de matéria orgânica (Figura 40), percebe-se que a emergência de adultos nas áreas de mata aumentou na sua ausência. Esse fato pode estar relacionado com o comprimento das larvas, pois nessas áreas, as larvas de *C. sancticaroli* conseguiram crescer e se desenvolverem mais, contribuindo com a maior taxa de emergência. Liber et al. (1996) também encontraram essa relação em *C. tentans* em que o sucesso de emergência estava relacionado com o crescimento das larvas. Por outro lado, a emergência nas áreas de cana-de-açúcar, apesar de diminuir na ausência de matéria orgânica, não foram estatisticamente diferentes da condição de presença de matéria orgânica ($p > 0,05$).

Em relação à proporção de machos e fêmeas de *C. sancticaroli* (Figura 41a) emergidos durante a exposição do teste crônico de longa duração, houve uma razão de emergência de 57% machos para 43% fêmeas no tratamento controle. Nos córregos de mata a proporção de macho variou de 50 a 56%, e de fêmeas, entre 44 a 50%. Nos córregos de cana-de-açúcar a proporção de macho variou de 42 a 61%, e de fêmeas, entre 39 a 58%. Os testes estatísticos de Kruskal-Wallis e o teste Post Hoc de Dunn's indicaram similaridade ($p > 0,05$) na emergência na análise por córregos (Figura 41a) e por uso e ocupação do solo (Figura 41b).

Figura 41 - Emergência média (%) e desvio padrão de macho e fêmea de *Chironomus sancticaroli* (%) expostos ao teste de toxicidade crônica de longa duração: a) emergência de macho e fêmea dos seis córregos analisados; b) emergência de macho e fêmea por uso e ocupação do solo.



(*) Mata: Anhu=Anhumas; Esp=Espiraído; SV=São Vicente; Cana-de-açúcar: AS= Água Sumida; Chi=Chibarro e SJ=São João. Fonte: Elaborada pela autora (2021).

A proporção de machos e fêmeas de *C. sancticaroli* se manteve uniformemente distribuída entre as áreas de mata e cana-de-açúcar, na ausência de matéria orgânica. Essa mesma relação também foi mantida na condição em que a matéria orgânica estava presente no sedimento (Figuras 34 e 35). A proporção sexual parece ser um parâmetro que não é afetado pela presença ou ausência de matéria orgânica nas áreas de mata e de cana-de-açúcar.

6. CONCLUSÃO

As variáveis físicas e químicas (pH, oxigênio dissolvido, temperatura e condutividade elétrica) da água dos córregos de mata e de cana-de-açúcar estiveram dentro dos padrões estabelecidos pela Resolução Conama nº 357/05.

As concentrações de metais (alumínio, cádmio, cobre, ferro, magnésio, manganês e zinco) foram significativamente diferentes no sedimento dos córregos localizados em áreas de cultivo de cana-de-açúcar, apesar disso, os valores estiveram dentro dos padrões estabelecidos pela Resolução Conama nº 420/2009 e nº 454/2012.

As métricas comunitárias e a representação por grupo trófico funcional indicaram melhores condições ecológicas nos córregos de mata, favorecendo a ocorrência de maior riqueza e diversidade de macroinvertebrados aquáticos, provavelmente devido a presença da mata ciliar, disponibilidade maior de habitats e recursos alimentares. Por outro lado, foi possível observar que o cultivo de cana-de-açúcar influenciou negativamente a estrutura e a diversidade taxonômica e funcional da comunidade de macroinvertebrados aquáticos, acarretando ausência de organismos fragmentadores em alguns córregos e maior proporção de organismos coletores.

Nos testes de toxicidade aguda, a sobrevivência de *C. sancticaroli* foi significativamente afetada pela cana-de-açúcar, ao passo que na exposição mais prolongada (10 dias) isso não ocorreu, apesar de evidenciar uma mortalidade maior em relação às áreas de mata e redução do comprimento das larvas.

No teste de gerações, o comprimento das larvas foi afetado pela presença da cana-de-açúcar apenas nas gerações P e F1. O tamanho da asa e a fecundidade potencial, começam a ter uma interferência da atividade canavieira a partir da geração F2. Em relação à emergência de adultos e à proporção de machos e fêmeas, a cana-de-açúcar não afetou a espécie *C. sancticaroli* nas condições testadas.

Em relação ao teste crônico de longa duração, a ausência de matéria orgânica afetou a sobrevivência, o comprimento das larvas e a emergência de adultos de *C. sancticaroli* nos córregos de cana-de-açúcar, causando uma redução significativa nesses parâmetros. Por outro lado, o tamanho da asa, a fecundidade e a proporção de machos e fêmeas nos córregos de cana-de-açúcar não foram afetados pela ausência de matéria orgânica em relação às áreas de mata.

Com isso, os impactos do cultivo de cana-de-açúcar puderam ser observados em diferentes níveis de organização biológica (população e comunidades) simultaneamente, permitindo realizar pesquisas interdisciplinares e escolher a melhor ferramenta a ser utilizada.

7. CONSIDERAÇÕES FINAIS

Por meio das análises da toxicidade dos sedimentos de cana-de-açúcar foram observadas respostas diferentes em relação ao tempo de exposição das larvas de *C. sancticaroli* e a variável-resposta analisada. Por exemplo, a cana-de-açúcar influenciou na sobrevivência das larvas expostas ao teste de curta duração (teste agudo de 96h), mas não afetou a sobrevivência em uma exposição mais prolongada (teste crônico de 10 dias). Por outro lado, para o mesmo tempo de exposição (teste crônico de 10 dias), o comprimento das larvas pareceu responder melhor à toxicidade da cana-de-açúcar do que a sobrevivência das larvas.

As respostas à toxicidade também podem variar ao longo das gerações do organismo-teste e algumas variáveis-resposta podem ser mais sensíveis que outras. Por exemplo, a cana-de-açúcar afetou o comprimento das larvas de *C. sancticaroli* apenas nas primeiras gerações (P e F1), mas não afetou o tamanho da asa e a fecundidade nas mesmas gerações analisadas. Por outro lado, a emergência de adultos e de machos e fêmeas, pareceram ser variáveis-resposta menos sensíveis à exposição do sedimento de cana-de-açúcar, pois nenhuma interferência significativa foi observada ao longo das três gerações, mostrando que a espécie *C. sancticaroli* tem a capacidade de sobreviver e de manter a proporção sexual, mesmo diante da presença da atividade canavieira. Esses comportamentos observados para *C. sancticaroli* tem grande relevância ecológica, pois a rápida adaptação, a seleção de organismos tolerantes, a manutenção da fecundidade e da proporção sexual contribui com o aumento de sua população ao longo do tempo e a sobrevivência em ambientes de constantes mudanças, como as áreas agrícolas.

Com isso destaca-se a importância de submeter os organismos a diferentes tempos de exposição aos contaminantes, a diferentes variáveis-resposta e a várias gerações, pois exposições crônicas podem dar respostas que não são observadas em exposições agudas, e exposições multigeracionais podem fornecer informações mais detalhadas que não são possíveis de investigar em testes convencionais. Assim, os resultados dos testes ecotoxicológicos do presente estudo, podem contribuir com futuras pesquisas em relação à escolha das variáveis-resposta ou ferramentas toxicológicas que respondem melhor à toxicidade dos sedimentos da cana-de-açúcar.

Cabe ressaltar ainda, a influência da matéria orgânica no ciclo de vida da espécie *C. sancticaroli*. Quando a matéria orgânica foi retirada dos córregos de cana-de-açúcar, provavelmente as toxinas presentes ficaram disponíveis no sedimento, o que afetou a sobrevivência, o comprimento das larvas e a emergência dos organismos.

Apesar do sedimento das áreas de cana-de-açúcar não causar toxicidade para algumas variáveis-resposta analisadas, não significa que a cana-de-açúcar não cause prejuízos aos organismos aquáticos, fato esse, comprovado com a análise da estrutura da comunidade de macroinvertebrados aquáticos. Os resultados mostraram que os diferentes usos e ocupações do solo entorno dos corpos de água modula a estrutura e distribuição da comunidade de macroinvertebrados aquáticos, proporcionando a seleção de grupos taxonômicos mais sensíveis ou tolerantes para cada área. Essa relação ressalta a relevância de integrar as ferramentas da estrutura da comunidade de macroinvertebrados aquáticos com as ferramentas de testes toxicológicos, de modo a fornecer informações complementares sobre a toxicidade de determinada área.

Destaca-se ainda a dificuldade de realizar experimentos de longo prazo utilizando amostras ambientais, devido às rápidas mudanças que esses ambientes vêm sofrendo. As áreas de cana-de-açúcar, por exemplo, passam por várias modificações a cada ano, incluindo a semeadura, a colheita, aplicação constante de grandes quantidades e variedade de produtos químicos, revolvimento do solo, além da retirada da cobertura do solo. Para trabalhos futuros, sugere-se realizar experimentos adicionando metais ou combinações destes nos sedimentos de cana-de-açúcar para verificar como a espécie *C. sancticaroli* responde a essa toxicidade, uma vez que as amostras ambientais são matrizes complexas e que cada córrego apresenta características físicas e químicas diferentes e recebem variadas quantidade de compostos químicos anualmente.

As informações sobre os efeitos tóxicos que os sedimentos de cana-de-açúcar causam em *Chironomus*, em específico em *C. sancticaroli*, ainda são limitadas e esta pesquisa é de grande contribuição para a área. O grande desafio de hoje em dia é conseguir conciliar as atividades agrícolas, que são importantes para o crescimento econômico do país, com a manutenção das comunidades aquáticas, sem causar grandes impactos na integridade funcional do meio e sem afetar os serviços ecossistêmicos prestados por esta. Desse modo, recomendamos avaliar outras variáveis-respostas, como por exemplo, integrar as análises genéticas e metabólicas para ampliar o conhecimento da toxicidade do cultivo de cana-de-açúcar nos invertebrados aquáticos.

8. REFERÊNCIAS

ABDALA, K. O.; RIBEIRO, F. L. Análise dos impactos da competição pelo uso do solo no estado de Goiás durante o período 2000 a 2009 provenientes da expansão do complexo sucroalcooleiro. **Revista Brasileira de Economia**, v.65, n.4, p.373-400, dez. 2011.

ALBUQUERQUE, F. P.; MACHADO, L. S.; POMPÊO, M. L. M; FRACETO, L. F.; MOSCHINI-CARLOS, V. Efeito da atrazina sobre larvas de *Chironomus sancticaroli* em teste de toxicidade aguda. **Mémoires do III Workshop Integração de Saberes Ambientais**. Universidade Estadual Paulista, Sorocaba, 2017.

ALMEIDA, W. D.; FIÚZA, J.; MAGALHÃES, C. M.; JUNGER, C. M. Agrotóxicos. **Cadernos de Saúde Pública**, v. 1, p. 220-249, 1985.

AMERICAN PUBLIC HEALTH ASSOCIATION (APHA). **Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater**. 23ª edição. Washington DC, American Water Works Association, 1504 p., 2005.

AMPOFO, J. A.; TETTEH, W.; BELLO, M. Impact of commonly used agrochemicals on bacterial diversity in cultivated soils. **Indian Journal of Microbiology**, v. 49, n.3, p. 223-229, 2009.

ARAMBOUROU, H.; GISMONDI, E.; BRANCHU, P.; BEISEL, J. N. Biochemical and morphological responses in *Chironomus riparius* (Diptera, Chironomidae) larvae exposed to lead-spiked sediment. **Environmental Toxicology and Chemistry**, v. 32, n. 11, p. 2558-2564, 2013.

ARAMBOUROU, H.; PLANELLÓ, R.; LLORENTE, L.; FUERTES, I.; BARATA, C.; DELORME, N.; NOURY, P.; HERRERO, O.; VILLENEUVE, A.; BONNINEAU, C. *Chironomus riparius* exposure to field-collected contaminated sediments: from subcellular effect to whole-organism response. **Science of The Total Environment**, v. 671, p. 874-882, 2019.

ARIAS, A. R. L.; BUSS, D. F.; ALBURQUERQUE, C. D.; 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.

ARMITAGE, P. D.; CRANSTON, P. S.; PINDER, L. C. V. **The Chironomidae: Biology and ecology of non-biting midges**. Biogeography, p. 194–224, 1995.

ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS (ABNT). **ABNT NBR 15469: Ecotoxicologia – Coleta, preservação e preparo de amostras**. ABNT, Rio de Janeiro, 22p., 2015.

AUBER, A.; ROUCAUTE, M.; TOGOLA, A.; CAQUET, T. Structural and functional effects of conventional and low pesticide input crop-protection programs on benthic macroinvertebrate communities in outdoor pond mesocosms. **Ecotoxicology**, v. 20, n. 8, p. 2042, 2011.

AZEVEDO, F. A.; CHASIN, A. D. M. **Metais: gerenciamento da toxicidade**. São Paulo: Editora Atheneu, 2003.

AZEVEDO-PEREIRA, H. M. V. S.; LEMOS, M. F. L.; SOARES, A. M. V. M. Behaviour and growth of *Chironomus riparius* Meigen (Diptera: Chironomidae) under imidacloprid pulse and constant exposure scenarios. **Water, Air and Soil Pollution**, v. 219, p. 215–224, 2011.

BAGGIO, D. R. **Respostas metabólicas e moleculares de *Chironomus sancticaroli* Strixino & Strixino, 1981 (Diptera: Chironomidae) exposta ao Malathion, Fenantreno e Cádmio**. 2016. 187f. Tese (Doutorado) Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2016.

BAPTISTA, D. F.; BUSS, D. F.; EGLER, M. Macroinvertebrados como bioindicadores de ecossistemas aquáticos contaminados por agrotóxicos. **É Veneno ou é Remédio**, p. 157-175, 2003.

BARATA, C.; CAMPOS, B.; RIVETTI, C.; LEBLANC, G. A.; EYTCHESON, S.; MCKNIGHT, S.; SARAPULTSEVA, E. I. Validation of a two-generational reproduction test in *Daphnia magna*: an interlaboratory exercise. **Science of the Total Environment**, v. 579, p. 1073-1083, 2017.

BARBOUR, M. T.; GERRITSEN, J.; SNYDER, B. D., STRIBLING, J. B. **Rapid Bioassessment Protocols for Use in Streams and Wadeable Rivers: Periphyton, Benthic Macroinvertebrates and Fish**, 2a ed. EPA 841-B-99-002. U.S. Environmental Protection Agency; Office of Water; Washington, D.C. 1999.

BARMENTLO, S. H.; SCHRAMA, M.; HUNTING, E. R.; HEUTINK, R.; VAN BODEGOM, P. M.; DE SNOO, G. R.; VIJVER, M. G. Assessing combined impacts of agrochemicals: Aquatic macroinvertebrate population responses in outdoor mesocosms. **Science of the Total Environment**, v. 631, p. 341-347, 2018.

BEAUDOUIN, R.; DIAS, V.; BONZOM, J. M.; PÉRY, A. Individual-based model of *Chironomus riparius* population dynamics over several generations to explore adaptation

following exposure to uranium-spiked sediments. **Ecotoxicology**, v. 21, n. 4, p. 1225-1239. 2012.

BEGHELLI, F. G. S.; LOPEZ-DOVÁL, J. C.; ROSA, A. H.; POMPÊO, M.; CARLOS, V. M. Lethal and sublethal effects of metal-polluted sediments on *Chironomus sancticarloi* Strixino and Strixino, 1981. **Ecotoxicology**, v. 27, n. 3, p. 286-299, 2018.

BENOIT, D. A.; SIBLEY, P. K.; JUENEMANN, J. L.; ANKLEY, G. T. *Chironomus tentans* life-cycle test: Design and evaluation for use in assessing toxicity of contaminated sediments. **Environmental Toxicology and Chemistry: An International Journal**, v. 16, n. 6, p. 1165-1176, 1997.

BERNEGOSI, A. C. **Efeito tóxico da cafeína sobre o ciclo de vida de *Chironomus sancticarloi* (Chironomidae, Diptera) e *Daphnia magna* (Daphniidae, Cladocera)**. 2019. Tese de Doutorado. Universidade de São Paulo. 2019.

BERNEGOSI, A. C.; CARDOSO, B. N.; FELIPE, M. C.; SILVA, M. R. D. L.; CORBI, J. J. *Chironomus sancticarloi* generation test: A new methodology with a Brazilian endemic insect. **MethodsX**, v. 6, p. 92-97, 2019.

BEKETOV, M. A.; KEFFORD, B. J.; SCHÄFER, R. B.; LIESS, M. Pesticides reduce regional biodiversity of stream invertebrates. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v. 110, n. 27, p. 11039-11043, 2013.

BIASI, C.; MILESI, S. V.; RESTELLO, R. M.; HEPP, L. U. Ocorrência e distribuição de insetos aquáticos (Ephemeroptera, Plecoptera, Trichoptera) em riachos de Erechim/RS. **Revista Perspectiva**, v.32, p.171-180, 2008.

BONTEMPO, A. F.; CARNEIRO, G. D.; GUIMARÃES, F. A.; DOS REIS, M. R.; SILVA, D. V.; ROCHA, B. H.; SOUZA, M. F.; SEDIYAMA, T. Residual tembotrione and atrazine in carrot. **Journal of Environmental Science and Health, Part B**, v. 51, n. 7, p. 465-468, 2016.

BOYER-RECHLIN, N. J.; BRULAND, G. L.; RECHLIN, M. A. The effects of agricultural land use on benthic macroinvertebrate communities and the applicability of family level bioassessment metrics in Southern Illinois headwater streams. Illinois State Academy of Science. **Transactions**, v. 109, p. 49, 2016.

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 exploração, 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; 12 de Julho de 1989.

BRASIL. Conselho Nacional do Meio Ambiente. Resolução Conama nº 357, de 17 de março de 2005. Dispõe sobre a classificação dos corpos de água e diretrizes ambientais para o seu enquadramento, bem como estabelece as condições e padrões de lançamento de efluentes, e dá outras providências. **Diário Oficial da União**, Brasília, DF, 18 mar. 2005.

BRASIL. Conselho Nacional do Meio Ambiente. Resolução nº 420, de 28 de dezembro de 2009. Dispõe sobre critérios e valores orientadores de qualidade do solo quanto à presença de substâncias químicas e estabelece diretrizes para o gerenciamento ambiental de áreas contaminadas por essas substâncias em decorrência de atividades antrópicas. **Diário Oficial da União**, Brasília, DF, 30 dez. 2009.

BRASIL. Conselho Nacional do Meio Ambiente. Resolução nº 454, de 01 de novembro de 2012. Estabelece as diretrizes gerais e os procedimentos referenciais para o gerenciamento do material a ser dragado em águas sob jurisdição nacional. **Diário Oficial da União**, Brasília, DF, 08 nov. 2012.

BRASIL. PORTARIA nº 03, de 16 de janeiro de 1992. Dispõe sobre as diretrizes e exigências referentes à autorização de registros, renovação de registro e extensão de uso de produtos agrotóxicos e afins. **Diário Oficial da União**, Brasília, DF, 4 fev. 1992.

BRASIL. Decreto n.º 4.074, de 4 de janeiro de 2002. Regulamenta a Lei no 7.802, de 11 de julho 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. **Diário Oficial da União**, Brasília; 08 de janeiro de 2002.

BRUNINI, R. G.; SILVA, M. C.; PISSARA, T. C. T. Efeito do sistema de produção de cana-de-açúcar na qualidade da água em bacias hidrográficas. **Revista Agrarian**, Dourados, n.36, v.10, p. 170-180, 2017.

BRUNO, C. G. C.; GONÇALVES, R. C.; DOS SANTOS, A.; FACURE, K. G.; CORBI, J. J.; JACOBUCCI, G. B. The relationship between sediment metal concentration and Odonata (Insecta) larvae assemblage structure in Cerrado streams. *Limnetica*, 41(1), 000-000. 2022.

- BURTON, G. A. **Sediment toxicity assessment**. Boca Raton, Florida: Lewis Publishers, 457p. 1992.
- BUSS, D. F.; BAPTISTA, D. F.; SILVEIRA, M. P.; NESSIMIAN, J. L.; DORVILLÉ, L. F. Influence of water chemistry and environmental degradation on macroinvertebrate assemblages in a river basin in south-east Brazil. **Hydrobiologia**, v. 481, n. 1-3, p. 125-136, 2002.
- BYTYÇI, P. S.; ETEMI, F. Z.; ISMAILI, M. A.; SHALA, S. A.; SERBINOVSKI, M. S.; ÇADRAKU, H. S.; FETOSHI, O. B. Biomonitoring of water quality of River Nerodime based on physicochemical parameters and macroinvertebrates. **Rasayan Journal of Chemistry**, v. 11, n. 2, p. 554-568, 2018.
- CALLISTO, M.; MORENO, P. Indicadores ecológicos: a vida na lama. **Ciência Hoje**, v. 36, n. 213, p. 68-71, 2005.
- CALLISTO, M.; MORENO, P.; BARBOSA, F. A. Habitat diversity and benthic functional trophic groups at Serra do Cipó, Southeast Brazil. **Revista Brasileira de Biologia**, v. 61, n. 2, p.259-66, 2001a.
- CALLISTO, M.; MORETTI, M.; GOULART, M. Macroinvertebrados bentônicos como ferramenta para avaliar a saúde de riachos. **Revista Brasileira de Recursos Hídricos**, v. 6, n. 1, p. 71-82, 2001b.
- CAMPERO, M.; SLOS, S.; OLLEVIER, F.; STOKS, R. Sublethal pesticide concentrations and predation jointly shape life history: behavioral and physiological mechanisms. **Ecological Applications**, v. 17, n. 7, p. 2111-2122, 2007.
- CAMPOS, D.; SILVA, A. R. R.; LOUREIRO, S.; GRABICOVÁ, K.; STAŇOVÁ, A. V.; SOARES, A. M.; PESTANA, J. L. Two-generational effects of Benzophenone-3 on the aquatic midge *Chironomus riparius*. **Science of The Total Environment**, v. 669, p. 983-990, 2019.
- CARMO, D. L.; SILVA, C. A. Métodos de quantificação de carbono e matéria orgânica em resíduos orgânicos. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v. 36, n. 4, p. 1211-1220, 2012.
- CASTRO, B. B.; GUILHERMINO, L.; RIBEIRO, R. In situ bioassay chambers and procedures for assessment of sediment toxicity with *Chironomus riparius*. **Environmental Pollution**, v. 125, n. 3, p. 325-335, 2003.

CASTRO, G. B. **Efeitos tóxicos do microplástico polietileno em *Allonais inaequalis*, *Chironomus sancticaroli* e *Daphnia magna* sob exposições convencionais e de estresse.** 2020. Dissertação (Mestrado). Universidade de São Paulo. 2020.

CAVALHEIROS, D. F. **Ecotoxicologia de compostos organoclorados persistentes em um ecossistema eutrófico Represa de Barra Bonita (Médio Tietê, SP).** São Carlos, p.198. Dissertação (Mestrado). Escola de Engenharia de São Carlos, USP, 1993.

CENTENO, L. N.; GUEVARA, M. D. F.; CECCONELLO, S. T.; DE SOUSA, R. O.; TIMM, L. C. Textura do solo: conceitos e aplicações em solos arenosos. **Revista Brasileira de Engenharia e Sustentabilidade**, v. 4, n. 1, p. 31-37, 2017.

CHAGAS, F. B.; RUTKOSKI, C. F.; BIENIEK, G. B.; VARGAS, G. D. L. P.; HARTMANN, P. A.; HARTMANN, M. T. Utilização da estrutura de comunidades de macroinvertebrados bentônicos como indicador de qualidade da água em rios no sul do Brasil. **Ambiente e Água – An Interdisciplinary Journal of Applied Science**, v. 12, n. 3, p. 416-425, 2017.

CHELINHO, S.; LOPES, I.; NATAL-DA-LUZ, T.; DOMENE, X.; NUNES, M. E. T.; ESPÍNDOLA, E. L. G. 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.

CHENG, F.; LI, H.; QI, H.; HAN, Q.; YOU, J. Contribution of pyrethroids in large urban rivers to sediment toxicity assessed with benthic invertebrates *Chironomus dilutus*: A case study in South China. **Environmental toxicology and chemistry**, v. 36, n. 12, p. 3367-3375, 2017.

CLAPCOTT, J. E.; BUNN, S. E. Can C4 plants contribute to aquatic food webs of subtropical streams? **Freshwater Biology**, v. 48, n. 6, p. 1105-1116, 2003.

CLASEN, B.; LORO, V. L.; MURUSSI, C. R.; TIECHER, T. L.; MORAES, B.; ZANELLA, R. Bioaccumulation and oxidative stress caused by pesticides in *Cyprinus carpio* reared in a rice-fish system. **Science of The Total Environment**, v. 626, p. 737-743, 2018.

COLLINS, S. J.; FAHRIG, L. Are macroinvertebrate traits reliable indicators of specific agrichemicals? **Ecological Indicators**, v. 111, p. 105965, 2020.

COLOMBO-CORBI, V.; GORNI, G. R.; SANZOVO-FALCOSKI, T.; COSTA, P. I.; CORBI, J. J. Genetic diversity loss in *Chironomus sancticaroli* (Diptera: Chironomidae) exposed to pyrimethanil fungicide: analysis using RAPD technique. **Water, Air and Soil Pollution**, v. 228, n. 10, p. 399, 2017.

COMPANHIA NACIONAL DE ABASTECIMENTO (CONAB). **Acompanhamento de safra brasileira: cana-de-açúcar, primeiro levantamento, novembro/2021**. Companhia Nacional de Abastecimento, Brasília, 2021.

COMPIN, A.; CÉRÉGHINO, R. Spatial patterns of macroinvertebrate functional feeding groups in streams in relation to physical variables and land-cover in Southwestern France. **Landscape Ecology**, v. 22, n. 8, p. 1215-1225, 2007.

COQUERY, M.; WELBOURN, P. M. The relationship between metal concentration and organic matter in sediments and metal concentration in the aquatic macrophyte *Eriocaulon septangulare*. **Water Research**, v. 29, n. 9, p. 2094-2102, 1995.

CORBI, J. J. **Influência de práticas de manejo de solo sobre os macroinvertebrados aquáticos de córregos: ênfase para o cultivo de cana-de-açúcar em áreas adjacentes**. 2006. 96f. Tese (Doutorado). Universidade Federal de São Carlo, São Carlos, 2006.

CORBI, J. J. Invertebrados aquáticos como ferramenta para a avaliação do impacto de metais em córregos adjacentes ao cultivo de cana-de-açúcar. **In: Ciências Ambientais: Recursos Hídricos**, p. 201, 2020.

CORBI, J. J.; COSTA, C. G.; GORNI, G. R.; COLOMBO, V.; RIOS, L. Environmental diagnosis of metals in streams near sugarcane cultivation areas: current and historical analysis in the central region of the State of São Paulo. **Anais da Academia Brasileira de Ciências**, v. 90, n. 3, p. 2711-2719, 2018.

CORBI, J. J.; FROEHLICH, C. G.; STRIXINO, S. T.; SANTOS, A. D. Bioaccumulation of metals in aquatic insects of streams located in areas with sugar cane cultivation. **Química Nova**, v 33, p. 644-648, 2010.

CORBI, J. J.; FROEHLICH, C. G.; TRIVINHO-STRIXINO, S.; DOS SANTOS, A. Evaluating the use of predatory insects as bioindicators of metals contamination due to sugarcane cultivation in neotropical streams. **Environmental Monitoring and Assessment**, v. 177, n. 1-4, p. 545-554, 2011.

CORBI, J. J.; KLEINE, P.; TRIVINHO-STRIXINO, S. Are aquatic insect species sensitive to banana plant cultivation? **Ecological Indicators**, v. 25, p. 156-161, 2013.

CORBI, J. J.; STRIXINO, S. T.; SANTOS, A. D.; DEL GRANDE, M. Diagnóstico ambiental de metais e organoclorados em córregos adjacentes a áreas de cultivo de cana-de-açúcar (Estado de São Paulo, Brasil). **Química Nova**, v. 29, n. 1, p. 61-65, 2006.

- CORBI, J. J.; TRIVINHO-STRIXINO, S. Influence of taxonomic resolution of stream macroinvertebrate communities on the evaluation of different land uses. **Acta Limnologica Brasiliensia**, v. 18, n. 4, p. 469-475, 2006.
- CORBI, J. J.; TRIVINHO-STRIXINO, S. Relationship between sugarcane cultivation and stream macroinvertebrate communities. **Brazilian Archives of Biology and Technology**, v. 51, n. 4, p. 569-579, 2008.
- CORBI, J. J.; TRIVINHO-STRIXINO, S. Chironomid species are sensitive to sugarcane cultivation. **Hydrobiologia**, v. 785, n. 1, p. 91-99, 2017.
- CORBI, J. J.; TRIVINHO-STRIXINO, S.; DOS SANTOS, A. Environmental evaluation of metals in sediments and dragonflies due to sugarcane cultivation in Neotropical streams. **Water, Air and Soil Pollution**, v. 195, n. 1-4, p. 325-333, 2008.
- CORRALO, V. S.; MORAIS, M. M.; BENEDETT, A.; FERRAZ, L. Presença de pesticidas organoclorados no leite materno: fatores de contaminação e efeitos à saúde humana. **Hygeia**, v. 12, n. 22, p. 101-109, 2016.
- CORREIA, N. M. **Comportamento dos herbicidas no ambiente**. Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária (EMBRAPA). Documento 160, Brasília, DF, 2018.
- CORTEZZI, S. S.; BISPO, P. D. C.; PACIENCIA, G. D. P.; LEITE, R. C. Influência da ação antrópica sobre a fauna de macroinvertebrados aquáticos em riachos de uma região de cerrado do sudoeste do Estado de São Paulo. **Iheringia, Sér. Zool.**, Porto Alegre, v. 99, n. 1, p. 36-43, 2009.
- COSTA, C. G. A. G. **Avaliação da remoção de cromo hexavalente a partir de adsorventes à base de quitosana e celulose bacteriana e os seus efeitos na biota aquática**. Tese (Doutorado). Universidade de São Paulo. 2018.
- COSTA, C. R.; OLIVI, P.; BOTTA, C. M.; ESPINDOLA, E. L. A toxicidade em ambientes aquáticos: discussão e métodos de avaliação. **Química Nova**, v. 31, n. 7, p. 1820-1830, 2008.
- COSTA, E. B. **Distribuição de larvas de Chironominae (Insecta: Diptera: Chironomidae) em cursos d'água de baixa ordem sob influência de diferentes usos do solo no Município de Cabo Verde, MG**. Dissertação, Universidade Federal de Alfenas, 2015.
- COSTA, J. M.; SOUZA, L. O. I.; OLDRINI, B. B. **Chave para identificação das famílias e gêneros das larvas conhecidas de Odonata do Brasil: comentários e registros bibliográficos (Insecta, Odonata)**. Museu Nacional, 2004.

COUTINHO, C. B. **Influência de diferentes usos de solo na estrutura da comunidade de macroinvertebrados aquáticos em cursos d'água de baixa ordem no município de Cabo Verde-MG.** Dissertação (Mestrado), 2015.

COUTO, M. B.; AFFONSO, A. L. S. Avaliação de qualidade de água de um afluente do rio Capivara presente numa Unidade de Conservação, Campina do Simão, PR. **Brazilian Journal of Development**, v. 7, n. 4, p. 43608-43615, 2021.

CUMMINS, K. W.; MERRITT, R. W.; ANDRADE, P. C. The use of invertebrate functional groups to characterize ecosystem attributes in selected streams and rivers in south Brazil. **Studies on Neotropical Fauna and Environment**, v. 40, n. 1, p. 69-89, 2005.

DA SILVA, J. M. A. V.; QUEIROZ, L. G.; DE PAIVA, T. C. B. Avaliação dos efeitos tóxicos do pesticida neonicotinóide imidacloprido sobre os organismos *Danio rerio* e *Chironomus xanthus*. **III Encontro Acadêmico da Engenharia Ambiental da Universidade de São Paulo**, 2018.

DA SILVA, M. R.; DE CAMPOS, A. C. E.; BOHM, F. Z. Agrotóxicos e seus impactos sobre ecossistemas aquáticos continentais. **SaBios-Revista de Saúde e Biologia**, v. 8, n. 2, 2013.

DELL'ACQUA, M. M. **Efeito do hormônio 17 α -etinilestradiol sobre a biologia de *Chironomus sancticaroli* (Chironomidae, Diptera).** Tese de Doutorado. Universidade de São Paulo. 2017.

DE PAULA, F. C. F.; MOZETO, A. A. Biogeochemical evolution of trace elements in a pristine water shed at the Brazilian southeastern coast. **Applied Geochemistry**, v. 16, p.1139-1151, 2001.

DIAS, V.; VASSEUR, C.; BONZOM, J. M. Exposure of *Chironomus riparius* larvae to uranium: effects on survival, development time, growth, and mouthpart deformities. **Chemosphere**, v. 71, n. 3, p. 574-581, 2008.

DODDS, W. K.; TROMBONI, F.; APARECIDO SALTARELLI, W.; FERNANDES CUNHA, D. G. The root of the problem: Direct influence of riparian vegetation on estimation of stream ecosystem metabolic rates. **Limnology and Oceanography Letters**, v. 2, n. 1, p. 9-17, 2017.

DORNFELD, C. B. **Utilização de análises limnológicas, bioensaios de toxicidade e macroinvertebrados bentônicos para o diagnóstico ambiental do reservatório de Salto Grande (Americana, SP).** 2002. 223f. Dissertação (Mestrado) Escola de Engenharia de São Carlos, Universidade de São Paulo, São Carlos, 2002.

- DORNFELD, C. B. **Utilização de *Chironomus* sp. (Diptera, Chironomidae) para a avaliação da qualidade de sedimentos e contaminação por metais.** 2006. 239f. Tese (Doutorado) - Escola de Engenharia de São Carlos, Universidade de São Paulo, São Carlos, 2006.
- DORNFELD, C. B.; MOREIRA-SANTOS, M.; ESPINDOLA, E. L., RIBEIRO, R. Do larvae and ovipositing *Chironomus riparius* (Diptera: Chironomidae) females avoid copper-contaminated environments? **Human and Ecological Risk Assessment**, v. 15, n. 1, p. 63-75, 2009.
- DORNFELD, C. B.; RODGHER, S.; NEGRI, R. G.; ESPÍNDOLA, E. L. G.; DAAM, M. A. *Chironomus sancticaroli* (Diptera, Chironomidae) as a Sensitive Tropical Test Species in Laboratory Bioassays Evaluating Metals (Copper and Cadmium) and Field Testing. **Archives of Environmental Contamination and Toxicology**. 2019.
- DOS SANTOS, H. G.; JACOMINE, P. K. T.; ANJOS, L. H. C.; OLIVEIRA, V. A.; LUMBRERAS, J. F.; COELHO, M. R.; ALMEIDA, J. A.; ARAUJO FILHO, J. C.; OLIVEIRA, J. B.; CUNHA, T. J. F. **Sistema brasileiro de classificação de solos.** Brasília, DF: Embrapa, 2018.
- EGLER, M.; BUSS, D. F.; MOREIRA, J. C.; BAPTISTA, D. F. Influence of agricultural land-use and pesticides on benthic macroinvertebrate assemblages in an agricultural river basin in southeast Brazil. **Brazilian Journal of Biology**, v. 72, n. 3, p. 437-443, 2012.
- ESTEVES, F.A. **Fundamentos de Limnologia.** Rio de Janeiro, Interciência. 828p. 2011.
- FELIPE, M. C. **Bioensaios de toxicidade utilizando invertebrados aquáticos em exposição ao Alquilbenzeno Linear Sulfonado.** Tese (Doutorado). Universidade de São Paulo. 2019.
- FELIPE, M. C.; BERNEGOSSI, A. C.; CARDOSO-SILVA, B. N.; DELL'ACQUA, M. M.; CORBI, J. J. *Chironomus sancticaroli* generation test applied to chemical contaminants and freshwater sediment samples. **Environmental Science and Pollution Research**, p. 1-14, 2021.
- FERNANDES, A. C. M. **Macroinvertebrados bentônicos como indicadores biológicos de qualidade da água: proposta para elaboração de um índice de integridade biológica.** 2007. 226 f., Tese (Doutorado em Ecologia) Universidade de Brasília, Brasília, 2007.
- FERNICOLA, N. A. G. G.; BOHRER-MOREL, M. B. B.; BAINY, A. C. D. **Ecotoxicologia.** In: AZEVEDO, F. A.; CHASIN, A. A. M. As bases ecotoxicológicas da ecotoxicologia, RiMa editora, InterTox, p.221-243, 2003.

FERREIRA-JUNIOR, D. F.; SARMENTO, R. A.; DE SOUZA SARAIVA, A.; PEREIRA, R. R.; PICANÇO, M. C.; PESTANA, J. L.; SOARES, A. M. Low concentrations of glyphosate-based herbicide affects the development of *Chironomus xanthus*. **Water, Air, & Soil Pollution**, v. 228, n. 10, p. 390, 2017.

FIERRO, P.; BERTRÁN, C.; TAPIA, J.; HAUENSTEIN, E.; PEÑA-CORTÉS, F.; VERGARA, C.; CERNA, C.; VARGAS-CHACOFF, L. Effects of local land-use on riparian vegetation, water quality, and the functional organization of macroinvertebrate assemblages. **Science of the Total Environment**, v. 609, p. 724-734, 2017.

FIERRO, P.; VALDOVINOS, C.; ARISMENDI, I.; DÍAZ, G.; JARA-FLORES, A.; HABIT, E.; VARGAS-CHACOFF, L. Examining the influence of human stressors on benthic algae, macroinvertebrate, and fish assemblages in Mediterranean streams of Chile. **Science of the Total Environment**, v. 686, p. 26-37, 2019.

FIGUEIREDO, A. F.; AUGUSTO, F. G.; COLETTA, L. D.; DUARTE-NETO, P. J.; MAZZI, E. A.; MARTINELLI, L. A. Comparison of microbial processing of *Brachiaria brizantha*, a C4 invasive species and a rainforest species in tropical streams of the Atlantic Forest of south-eastern Brazil. **Marine and Freshwater Research**, v. 69, n. 9, p. 1397-1407, 2018.

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

FONSECA, A. L.; ROCHA O. Laboratory cultures of the native species *Chironomus xanthus* Rempel, 1939 (Diptera, Chironomidae). **Acta Limnologica Brasiliensia**, v. 16, p. 153–161, 2004.

FONTOURA, A. P. **Manual de vigilância da qualidade das águas superficiais. Avaliação biológica da qualidade da água**. Instituto de zoologia. Faculdade de Ciências – Universidade do Porto. Porto – Portugal. 38p. 1985.

FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION OF THE UNITED NATIONS (FAO). Data base **Faostat - Top 10 Country Production of Sugarcane**. Disponível em: https://www.fao.org/faostat/en/#rankings/countries_by_commodity. 2019.

FRANÇA, J. S.; MORENO, P.; CALLISTO, M. Importância da composição granulométrica para a comunidade bentônica e sua relação com o uso e ocupação do solo na bacia hidrográfica

do Rio das Velhas (MG). **VII Encontro Nacional de Engenharia de Sedimentos**, v. 7, p. 12-14, 2006.

FRANKE, M. C. **A influência do reflorestamento da mata ciliar sobre a estrutura da comunidade de macroinvertebrados bentônicos em rios de baixa ordem**. Dissertação (Mestrado). Universidade Estadual do Oeste do Paraná, 2012.

FRANKHAM, R. Genetics and extinction. **Biological Conservation**, v. 126, n. 2, p. 131-140, 2005.

FREIRE, C. F.; FONSECA-GESSNER, A. A. Larvas de Chironomidae (Diptera) na microbacia do Ribeirão Canchim, São Carlos, SP, Brasil. **Entomol. y Vect.**, v.8, p.17-429, 2002.

FREIRE, L. R.; BALIEIRO, F. C.; ZONTA, E.; DOS ANJOS, L. C.; PEREIRA, M. G.; LIMA, E.; GUERRA, J. G. M.; FERREIRA, M. B. C.; LEAL, M. A. A.; DE CAMPOS, D. V. B.; POLIDORO, J. C. **Manual de calagem e adubação do Estado do Rio de Janeiro**. Embrapa Solos-Livro técnico (INFOTECA-E), 2013.

FU, L.; JIANG, Y.; DING, J.; LIU, Q.; PENG, Q. Z.; KANG, M. Y. Impacts of land use and environmental factors on macroinvertebrate functional feeding groups in the Dongjiang River basin, southeast China. **Journal of Freshwater Ecology**, v. 31, n. 1, p. 21-35, 2016.

GAGLIARDI, B.; PETTIGROVE, V. Removal of intensive agriculture from the landscape improves aquatic ecosystem health. **Agriculture, Ecosystems and Environment**, v. 176, p. 1-8, 2013.

GENITO, D.; GBUREK, W. J.; SHARPLEY, A. N. Response of stream macroinvertebrates to agricultural land cover in a small watershed. **Journal of Freshwater Ecology**, v. 17, n. 1, p.109-119, 2002.

GHERARDI-GOLDSTEIN, E.; BERTOLETTI, E.; ZAGATTO, P. A.; ARAÚJO, R. P. A.; RAMOS, M. L. L. C. **Procedimentos para Utilização de Testes de Toxicidade no Controle de Efluentes Líquidos**. Companhia de Tecnologia de Saneamento Ambiental (CETESB): São Paulo, 1990.

GOEDKOOOP, W.; SPANN, N.; ÅKERBLUM, N. Sublethal and sex-specific cypermethrin effects in toxicity tests with the midge *Chironomus riparius* Meigen. **Ecotoxicology**, v. 19, n. 7, p. 1201-1208, 2010.

GOSSET, A.; WIGH, A.; BONY, S.; DEVAUX, A.; BAYARD, R.; DURRIEU, C.; BROCARD, M.; APPLAGNAT, M.; BAZIN, C. Assessment of long term ecotoxicity of urban

- stormwaters using a multigenerational bioassay on *Ceriodaphnia dubia*: A preliminary study. **Journal of Environmental Science and Health, Part A**, v. 53, n. 3, p. 244-252, 2018.
- GOULART, M. D.; CALLISTO, M. Bioindicadores de qualidade de água como ferramenta em estudos de impacto ambiental. **Revista da FAPAM**, v. 2, n. 1, p. 153-164, 2003.
- GRAÇA, M.A.S.; POZO, J.; CANHOTO, C.; ELOSEGI, A. Effects of *Eucalyptus* plantations on detritus, decomposers and detritivores in streams. **The Scientific World Journal**, v. 2, pp. 1173-1185, 2002.
- GRUMIAUX, F.; LEPRÊTRE, A.; DHAINAUT-COURTOIS, N. Effect of sediment quality on benthic macroinvertebrate community in streams in the north of France. **Hydrobiologia**, The Hague, v. 385, n. 1-3, p. 33-46, 1998.
- HAMADA, N.; NESSIMIAN, J. L.; QUERINO, R. B. **Insetos Aquáticos na Amazônia brasileira: taxonomia, biologia e ecologia**. Editora INPA, 724p, 2014.
- HAMMER, Ø.; HARPER, D. A. T.; RYAN, P. D. PAST: Paleontological statistics software package for education and data analysis. **Palaeontologia Electronica** 4(1): 9pp. Disponível em: http://palaeo-electronica.org/2001_1/past/issue1_01.htm, 2001.
- HANAZATO, T. Effects of long-and short-term exposure to carbaryl on survival, growth and reproduction of *Daphnia ambigua*. **Environmental Pollution**, v. 74, n. 2, p. 139-148, 1991.
- HANDA, K.; JINDAL, R. Chronic toxicity of hexavalent chromium affects the morphology and behaviour of *Ctenopharyngodon idellus* (Cuvier and Valenciennes). **Cell**, v. 4, n. 8, 2019.
- HARDING, J.S.; CLAASSEN, K.; EVERS, N. Can forest fragments reset physical and water quality conditions in agricultural catchments and act as refugia for forest stream invertebrates? **Hydrobiologia**. v. 568, p.391-402, 2006.
- HASENBEIN, S.; CONNON, R. E.; LAWLER, S. P.; GEIST, J. A comparison of the sublethal and lethal toxicity of four pesticides in *Hyalella azteca* and *Chironomus dilutus*. **Environmental Science and Pollution Research**, v. 22, n. 15, p. 11327-11339, 2015.
- HEPP, L. U.; MILESI, S. V.; BIASI, C.; RESTELLO, R. M. Effects of agricultural and urban impacts on macroinvertebrates assemblages in streams (Rio Grande do Sul, Brazil). **Zoologia (Curitiba)**, v. 27, n. 1, p. 106-113, 2010.

HEPP, L. U.; SANTOS, S. Benthic communities of streams related to different land uses in a hydrographic basin in southern Brazil. **Environmental monitoring and Assessment**, v. 157, n. 1-4, p. 305-318, 2009.

HEPP, L. U.; URBIM, F. M.; TONELLO, G.; LOUREIRO, R. C.; SAUSEN, T. L.; FORNEL, R.; RESTELLO, R. M. Influence of land-use on structural and functional macroinvertebrate composition communities associated on detritus in Subtropical Atlantic Forest streams. **Acta Limnologica Brasiliensia**, v. 28, e3, 2016.

HIRTHER, G.; FISHER, T. C.; CRANE, M.; CALLAGHAN, A. Short-term exposure to sub-lethal doses of lindane affects developmental parameters in *Chironomus riparius* Meigen but has no effect on larval glutathione-S-transferase activity. **Chemosphere**, v. 44, n. 4, p. 583-589, 2001.

HOLDWAY, D. A.; HEFFERMAN, J.; SMITH, A. Multigeneration assessment of nonylphenol and endosulfan using a model Australian freshwater fish, *Melanotaenia fluviatilis*. **Environmental Toxicology: An International Journal**, v. 23, n. 2, p. 253-262, 2008.

IM, J.; CHATTERJEE, N.; CHOI, J. Genetic, epigenetic, and developmental toxicity of *Chironomus riparius* raised in metal-contaminated field sediments: A multi-generational study with arsenic as a second challenge. **Science of The Total Environment**, v. 672, p. 789-797, 2019.

INSTITUTO NACIONAL DE CÂNCER (INCA). **Posicionamento do Instituto Nacional de Câncer José Alencar Gomes da Silva acerca dos agrotóxicos**. Brasília, DF: Ministério da Saúde, 2015. Disponível em: <https://www.inca.gov.br/sites/ufu.sti.inca.local/files//media/document//posicionamento-do-inca-sobre-os-agrotoxicos-06-abr-15.pdf>.

INSTITUTO BRASILEIRO DO MEIO AMBIENTE E DOS RECURSOS NATURAIS (IBAMA). **Histórico de comercialização. 2019**. Disponível em: <<http://www.ibama.gov.br/relatorios/quimicos-e-biologicos/relatorios-de-comercializacao-de-agrotoxicos>>. Acesso em: 22 abr de 2021.

INSTITUTO BRASILEIRO DO MEIO AMBIENTE E DOS RECURSOS NATURAIS (IBAMA). **Os 10 ingredientes ativos mais vendidos. 2019** <<http://www.ibama.gov.br/relatorios/quimicos-e-biologicos/relatorios-de-comercializacao-de>

agrotóxicos>. Acesso em: 22 abr de 2020.

ISHERWOOD, K. E. **O uso de fertilizantes minerais e o meio ambiente**. International Fertilizer Industry Association, United Nations Environment Programme. Trad. Associação Nacional para Difusão de Adubos. Paris, 2000.

JUNQUEIRA, M.V.; AMARANTE, M.C.; DIAS, C.F.S.; FRANÇA, E.S. Biomonitoramento da qualidade das águas da Bacia do Alto Rio das Velhas (MG/Brasil) através de macroinvertebrados. **Acta Limnologica Brasiliensia**, v. 12, p.73-87, 2000.

KAMPA M.; CASTANAS E. Human health effects of air pollution. **Environmental Pollution**, v. 151, n. 2, p. 362-367, 2008.

KIM, K. H.; KABIR, E.; JAHAN, S. A. Exposure to pesticides and the associated human health effects. **Science of the Total Environment**, v. 575, p. 525-535, 2016.

KLEINE, P.; TRIVINHO-STRIXINO, S.; CORBI, J. J. Relationship between banana plant cultivation and stream macroinvertebrate communities. **Acta Limnologica Brasiliensia**, v. 23, n. 4, p. 344-352, 2011.

KUHLMANN, M. L.; JOHNSCHER-FORNASARO, G.; OGURA, L. L.; IMBIMBO, H. R. V. **Protocolo para o biomonitoramento com as comunidades bentônicas de rios e reservatórios do estado de São Paulo**. São Paulo: CETESB, 2012.

KUHLMANN, M. L.; SOUZA, N. F.; OLIVEIRA, T. F.; BUSS, D. F. Biomonitoramento participativo de córregos, riachos. São Paulo: CETESB, 2019.

LACEY, R.; WATZIN, M. C.; MCINTOSH, A. W. Sediment organic matter content as a confounding factor in toxicity tests with *Chironomus tentans*. **Environmental Toxicology and Chemistry: An International Journal**, v. 18, n. 2, p. 231-236, 1999.

LEITE-ROSSI, L. A.; TRIVINHO-STRIXINO, S. Are sugarcane leaf-detritus well colonized by aquatic macroinvertebrates? **Acta Limnologica Brasiliensia**, v. 24, n. 3, p. 303-313, 2012.

LEKVONGPHIBOON, P.; PRAPHAIRAKSIT, N. Combined toxicity of imidacloprid and cadmium on histopathology and acetylcholinesterase activity in aquatic oligochaetes (*Tubifex tubifex* Müller, 1774). **Environmental Geochemistry and Health**, p. 1-11, 2020.

LIBER, K.; CALL, D. J.; DAWSON, T. D.; WHITEMAN, F. W.; DILLON, T. M. Effects of *Chironomus tentans* larval growth retardation on adult emergence and ovipositing success:

implications for interpreting freshwater sediment bioassays. **Hydrobiologia**, v. 323, n. 3, p. 155-167, 1996.

LILLEY, T. M.; RUOKOLAINEN, L.; PIKKARAINEN, A.; LAINE, V. N.; KILPIMAA, J.; RANTALA, M. J.; NIKINMAA, M. Impact of Tributyltin on Immune Response and Life History Traits of *Chironomus riparius*: Single and Multigeneration Effects and Recovery from Pollution. **Environmental Science & Technology**, v. 46, n. 13, 7382-7389. 2012.

LIMA, M.; SALLES, F.; CRUZ, P.; COELHO, L.; LEITE, T.; BOCCAGINI, D. Avaliação dos efeitos do desmatamento da vegetação ripária sobre os macroinvertebrados bentônicos em um rio por meio da avaliação de grupamentos funcionais alimentares. VII Congresso de ecologia do Brasil. **Anais**. 2005.

LIN, J. G.; CHEN, S. Y. The relationship between adsorption of heavy metal and organic matter in river sediments. **Environment International**, v. 24, n. 3, p. 345-352, 1998.

LOPES, C. V. A.; ALBUQUERQUE, G. S. Agrotóxicos e seus impactos na saúde humana e ambiental: uma revisão sistemática. **Saúde em Debate**, v. 42, p. 518-534, 2018.

LOYOLA, R. G. N. Atual estágio do IAP no uso de índices biológicos de qualidade. **V Simpósio de Ecossistemas Brasileiros: Conservação** – Anais, Volume I. UFES, Vitória, Espírito Santo, p.46-52, 2000.

MACHADO, N. G.; NASSARDEN, D. C. S.; SANTOS, F. D.; BOAVENTURA, I. C. G.; PERRIER, G.; SOUZA, F. S. C. D.; MARTINS E. L.; BIUDES, M. S. *Chironomus* larvae (Chironomidae: Diptera) as water quality indicators along an environmental gradient in a neotropical urban stream. **Revista Ambiente & Água**, v. 10, n. 2, p. 298-309, 2015.

MAGALHÃES, D. P.; FILHO, A. S. F. A ecotoxicologia como ferramenta no biomonitoramento de ecossistemas aquáticos. **Oecologia Brasilienses**, v. 12, n. 3, p. 355 - 381, 2008.

MALONEY, E. M.; MORRISSEY, C. A.; HEADLEY, J. V.; PERU, K. M.; LIBER, K. Can chronic exposure to imidacloprid, clothianidin, and thiamethoxam mixtures exert greater than additive toxicity in *Chironomus dilutus*? **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 156, p. 354-365, 2018.

MANFRIN, J.; SCHWANTES, D.; CELSO GONÇALVES JR, A.; DA PAZ SCHILLER, A.; ZIMMERMANN, J.; DE OLIVEIRA, V. H. D. Evaluation of benthic macroinvertebrates as

indicators of metal pollution in Brazilian rivers. **International Journal of River Basin Management**, p.1-11, 2019.

MANSANO, A. S.; MOREIRA, R. A.; PIEROZZI, M.; OLIVEIRA, T. M.; VIEIRA, E. M.; ROCHA, O.; REGALI-SELEGHIM, M. H. Effects of diuron and carbofuran pesticides in their pure and commercial forms on *Paramecium caudatum*: The use of protozoan in ecotoxicology. **Environmental Pollution**, v. 213, p. 160-172, 2016.

MARIGO, A. L. S. **Ensaio ecotoxicológicos utilizando o organismo *Chironomus sancticaroli* para avaliação ambiental de sedimentos naturais**. 2019.

MARQUES, J. J.; SCHULZE, D. G.; CURI, N.; MERTZMAN, S. A. Trace element geochemistry in Brazilian Cerrado Soils. **Geoderma**, v. 121, p. 31-43. 2004.

MASESE, F. O.; KITAKA, N.; KIPKEMBOI, J.; GETTEL, G. M.; IRVINE, K.; MCCLAIN, M. E. Litter processing and shredder distribution as indicators of riparian and catchment influences on ecological health of tropical streams. **Ecological Indicators**, v. 46, p. 23-37, 2014.

MAUL, J. D.; BRENNAN, A. A.; HARWOOD, A. D.; LYDY, M. J. Effect of sediment associated pyrethroids, fipronil, and metabolites on *Chironomus tentans* growth rate, body mass, condition index, immobilization, and survival. **Environmental Toxicology and Chemistry: An International Journal**, v. 27, n. 12, p. 2582-2590, 2008.

MCCAFFERTY, W. P. **Aquatic Entomology: The fishermen's and ecologists illustrated guide to insects and the irrelatives**. Boston, EUA: Jones e Bartlett, 448p, 1981.

MELLO, J. L. S. **Produção secundária de macroinvertebrados aquáticos e fluxos de energia em cadeias tróficas de riachos do Cerrado brasileiro**. Tese (Doutorado). Universidade de São Paulo. 2019.

MELLO, J. L.; CARDOSO, B. N.; COLOMBO-CORBI, V.; CORBI, J. J. Effects of Agrochemicals on Freshwater Macroinvertebrates: Challenges and Perspectives from Southeastern Brazil. **Limnology and Oceanography Bulletin**, v. 28, n. 1, p. 1-4, 2019.

MENEZES, J. P. C.; OLIVEIRA, L. F. C.; SALLA, M. R. Metrics of benthic communities and habitat quality associated to different types of land use. **Engenharia Sanitária e Ambiental**, v. 24, n. 4, p. 737-746, 2019.

- MERRITT, R. W.; CUMMINS, K. W.; BERG, M. B. Trophic relationships of macroinvertebrates. **In: Methods in Stream Ecology**, Volume 1. Academic Press, p. 413-433. 2017.
- MESSIAS, T.G. **Influência da toxicidade da água e do sedimento dos rios São Joaquim e Ribeirão Claro na bacia do Corumbataí**. Tese (Doutorado). Universidade de São Paulo. 2008.
- METCALFE, J. L. Biological water quality assessment of running waters based on macroinvertebrate communities: history and present status in Europe. **Environmental pollution**, v. 60, n. 1-2, p. 101-139, 1989.
- MINISTÉRIO DA AGRICULTURA, PECUÁRIA E ABASTECIMENTO (MAPA). **Registros concedidos de agrotóxicos de 2005 a 2020**. Disponível em: <http://www.agricultura.gov.br/assuntos/insumos-agropecuarios/insumos-agricolas/agrotoxicos/informacoes-tecnicas>>. Acesso em 25 fev 2021.
- MIRANDA, N. M.; DA SILVA, B. S.; CUERVO, M. R. M.; PIZZATO, A. C. Evidências dos efeitos dos agrotóxicos na carcinogênese. **Revista da Graduação**, v. 8, n. 1, 2015.
- MISERENDINO, M. L.; MASI C. I. The effects of land use on environmental features and functional organization of macroinvertebrate communities in Patagonian low order streams. **Ecological Indicators**, v. 10, p. 311–319, 2010.
- MORAIS, G.S.; VIEIRA, T. B.; SANTOS, G. S.; DOLATTO, R. G.; CESTARI, M. M.; GRASSI, M. T.; DA SILVA, M. A. N. Genotoxic, metabolic, and biological responses of *Chironomus sancticaroli* Strixino & Strixino, 1981 (Diptera: Chironomidae) after exposure to BBP. **Science of The Total Environment**, v. 715, 2020.
- MOSCA, A. A. O. **Caracterização hidrológica de duas microbacias visando a identificação de indicadores hidrológicos para o monitoramento ambiental do manejo de florestas plantadas**. Dissertação. Piracicaba, Universidade de São Paulo, 2003.
- MOYA, N.; TOMANOVA, S.; OBERDORFF, T. Desenvolvimento inicial de um índice multi-métrico baseado em macroinvertebrados aquáticos para avaliar a condição de riachos na bacia do Alto Isiboro-Sécure, Amazônia Boliviana. **Hydrobiologia**, v. 589, p.107-116, 2007.
- MUGNAI, R.; NESSIMIAN, J. L.; BAPTISTA, D. F. **Manual de Identificação de Macroinvertebrados Aquáticos do Estado do Rio de Janeiro**. Rio de Janeiro: Livros Técnicos, 176 p, 2010.

NAVIS, S.; WATERKEYN, A.; DE MEESTER, L., BRENDONCK, L. Acute and chronic effects of exposure to the juvenile hormone analog fenoxycarb during sexual reproduction in *Daphnia magna*. **Ecotoxicology**, v. 27, p. 627–634, 2018.

NETO, M. G. F.; ANDRADE, R. D.; FELDEN, É. P. G. Trabalho na agricultura: possível associação entre intoxicação por agrotóxicos e depressão. **Revista Perspectiva: Ciência e Saúde**, v. 3, n. 1, 2018.

NHAN, D. D.; CARVALHO, F. P.; NAM, B. Q. Fate of ¹⁴C-chlorpyrifos in the tropical estuarine environment. **Environmental technology**, v. 23, n. 11, p. 1229-1234, 2002.

NHIWATIWA, T.; DALU, T.; BRENDONCK, L. Impact of irrigation based sugarcane cultivation on the Chiredzi and Runde Rivers quality, Zimbabwe. **Science of the Total Environment**, v. 587, p. 316-325, 2017.

NIYOGI, D. K.; HARDING, J. S.; SIMON, K. S. Organic matter breakdown as a measure of stream health in New Zealand streams affected by acid mine drainage. **Ecological Indicators**, v. 24, p. 510-517, 2013.

NOGUEIRA, A. M. **Mata ciliar na proteção do fluxo de nutrientes em corpos hídricos lacustres**. Dissertação (Mestrado), 2016.

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, n. 1, p. 36-40, 2012.

NOWAK, C.; VOGT, C.; PFENNINGER, M.; SCHWENK, K.; OEHLMANN, J.; STREIT, B.; OETKEN, M. Rapid genetic erosion in pollutant-exposed experimental chironomid populations. **Environmental Pollution**, v. 157, n. 3, p. 881-886, 2009.

NYAKEYA, K.; NYAMORA, J. M.; RABURU, P. O.; MASESE, F. O.; KERICH, E. C.; MAGONDU, E. W. Life cycle responses of the midge of *Chironomus* species (Diptera: Chironomidae) to sugarcane and paper pulp effluents exposure. **African Journal of Education, Science and Technology**, v. 4, n. 3, p. 1-13, 2018.

NYSTRÖM, B.; BJÖRNSÄTER, B.; BLANCK, H. Effects of sulfonylurea herbicides on non-target aquatic micro-organisms: growth inhibition of micro-algae and short-term inhibition of adenine and thymidine incorporation in periphyton communities. **Aquatic toxicology**, v. 47, n. 1, p. 9-22, 1999.

OCHIAI, E. I. Toxicity of heavy metals and biological defense. Principles and applications in bioinorganic chemistry. **VII. Journal of Chemical Education**, v.72, n.6, p.479-483, 1995.

OLIVEIRA-FILHO, E. C.; GRISOLIA, C. K.; PAUMGARTTEN, F. J. R. Effects of endosulfan and ethanol on the reproduction of the snail *Biomphalaria tenagophila*: a multigeneration study. **Chemosphere**, v. 75, n. 3, p. 398-404, 2009.

OLIVEIRA-FILHO, L. C. I.; BARETTA, D. Por que devemos nos importar com os colêmbolos edáficos? **Scientia Agraria**, v.17, n. 2, p. 21-40, 2016.

OLIVEIRA, J. B.; CAMARGO, M. N.; ROSSI, M.; CALDERANO FILHO, B. **Mapa pedológico do Estado de São Paulo: legenda expandida**. Campinas, Instituto Agrônomo/Embrapa Solos. Campinas. 64p. 1999.

ORGANIZATION FOR ECONOMY CO-OPERATION AND DEVELOPMENT - OECD. **Test No. 233: Sediment-Water Chironomid Life-Cycle Toxicity Test Using Spiked Water or Spiked Sediment**. OECD Publishing, 2010.

ORGANIZATION FOR ECONOMY CO-OPERATION AND DEVELOPMENT - OECD. **Test No 235: Chironomus sp., Acute Immobilisation Test**. [s.l.] OECD Publishing, 2011.

PADILHA, B. S.; CARDOSO, J. T. Influência da mata ciliar sobre a diversidade de macroinvertebrados bentônicos e a qualidade da água. **28º Seminário de Iniciação Científica da Universidade do Estado Santa Catarina**, 2018.

PALMA, D. C.; LOURENCETTI, C. Agrotóxicos em água e alimentos: risco a saúde humana. **Revista Brasileira Multidisciplinar**, v. 14, n. 2, p. 7-21, 2011.

PEIRÓ, D. F.; SAULINO, H. H.; GORNI, G. R.; CORBI, J. J.; VANTE, A. P.; AMARAL, G. Insetos aquáticos associados a macrófitas submersas com diferentes complexidades morfológicas. **Revista Brasileira Multidisciplinar**, v. 16, n. 1, p. 133-144, 2013.

PELÁEZ-RODRÍGUEZ, M. **Avaliação da qualidade da água da bacia do Alto Jacaré-Guaçu/SP (Ribeirão do Feijão e Rio do Monjolinho) através de variáveis físicas, químicas e biológicas**. São Carlos, 2001. 147p. Tese (Doutorado). Escola de Engenharia de São Carlos, Universidade de São Paulo.

PELLINEN, J.; SOIMASUO, R. Toxicity of sediments polluted by the pulp and paper industry to a midge (*Chironomus riparius* Meigen). **Science of the Total Environment**, v. 134, p. 1247-1256, 1993.

PÉRY A.R.R.; MONS R.; FLAMMARION P.; LAGADIC L.; GARRIC J. A modelling approach to link food availability, growth, emergence and reproduction for the midge *Chironomus riparius*. **Environmental Toxicology and Chemistry: An International Journal**, v. 21, n. 11, p. 2507-2513, 2002.

PINTO, T. J. S.; ROCHA, G. S.; MOREIRA, R. A.; DA SILVA, L. C. M.; YOSHII, M. P. C.; GOULART, B. V.; MONTAGNER, C. C.; DAAM, M. A.; ESPINDOLA, E. L. G. Multi-generational exposure to fipronil, 2, 4-D, and their mixtures in *Chironomus sancticaroli*: Biochemical, individual, and population endpoints. **Environmental Pollution**, v. 283, p. 117384, 2021.

POLIDORO, B. A.; MORRA, M. J. An ecological risk assessment of pesticides and fish kills in the Sixaola watershed, Costa Rica. **Environmental Science and Pollution Research**, v. 23, n. 6, p. 5983-5991, 2016.

POSTMA, J. F.; BUCKERT-DE JONG, M. C.; STAATS, N., DAVIDS, C. Chronic toxicity of cadmium to *Chironomus riparius* (Diptera: Chironomidae) at different food levels. **Archives of Environmental Contamination and Toxicology**, v. 26, n. 2, p. 143-148, 1994.

POSTMA, J. F.; DAVIDS, C. Tolerance induction and life cycle changes in cadmium-exposed *Chironomus riparius* (Diptera) during consecutive generations. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 30, n. 2, p. 195-202, 1995.

PRINTES, L. B.; FERNANDES, M. N.; ESPÍNDOLA, E. L. G. Laboratory measurements of biomarkers and individual performances in *Chironomus xanthus* to evaluate pesticide contamination of sediments in a river of southeastern Brazil. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 74, n. 3, p. 424-430, 2011.

RAMALHO, J. F. G. P.; DO AMARAL SOBRINHO, N. M. B.; VELLOSO, A. C. X. Contaminação da microbacia de Caetés com metais pesados pelo uso de agroquímicos. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 35, n. 7, p. 1289-1303, 2000.

RAMÍREZ, A.; GUTIÉRREZ-FONSECA, P. E. Functional feeding groups of aquatic insect families in Latin America: a critical analysis and review of existing literature. **Revista de Biología Tropical**, v. 62, p. 155-167, 2014.

RAMOS, C. I.; ROSINI, E. F. Macroinvertebrados bentônicos como bioindicadores da qualidade da água da bacia hidrográfica Popuca-Botinhas, Guarulhos (SP). **Revista Saúde-UNG-Ser**, v. 11, n. 2, p. 13, 2018.

RAKOTONDRAVELO, M. L.; ANDERSON, T. D.; CHARLTON, R. E.; ZHU, K. Y. Sublethal effects of three pesticides on larval survivorship, growth, and macromolecule production in the aquatic midge, *Chironomus tentans* (Diptera: Chironomidae). **Archives of Environmental Contamination and Toxicology**, v. 51, n. 3, p. 352-359, 2006.

RASBAND, W. **ImageJ**. Disponível em: <<https://imagej.nih.gov/ij/>>.2018.

RAZAVI, N. R.; CUSHMAN, S. F.; HALFMAN, J. D.; MASSEY, T.; BEUTNER, R.; CLECKNER, L. B. Mercury bioaccumulation in stream food webs of the Finger Lakes in central New York State, USA. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 172, p. 265-272, 2019.

REBECHI, D. **Efeitos ecotoxicológicos em *Chironomus sancticaroli* Strixino e Strixino, 1981 (Diptera: Chironomidae) expostos ao Malathion**. Tese de Doutorado, 2012.

REBECHI, D.; RICHARDI, V. S.; VICENTINI, M.; GUILOSKI, I. C.; ASSIS, H. C.; NAVARRO-SILVA, M. A. Low malathion concentrations influence metabolism in *Chironomus sancticaroli* (Diptera, Chironomidae) in acute and chronic toxicity tests. **Revista Brasileira de Entomologia**, v. 58, n. 3, p. 296-301, 2014.

RICHARDI, V. S.; VICENTINI, M.; MORAIS, G. S.; REBECHI, D.; DA SILVA, T. A.; FÁVARO, L. F.; NAVARRO-SILVA, M. A. Effects of phenanthrene on different levels of biological organization in larvae of the sediment-dwelling invertebrate *Chironomus sancticaroli* (Diptera: Chironomidae). **Environmental pollution**, v. 242, p. 277-287, 2018.

RIGOTTO, R. M.; VASCONCELOS, D. P.; ROCHA, M. M. Uso de agrotóxicos no Brasil e problemas para a saúde pública. **Cadernos de Saúde Pública**, v. 30, p. 1360-1362, 2014.

RISTOLA T.; PELLINEN J.; RUOKOLAINEN M.; KOSTAMO A.; KUKKONEN J. V. K. Effect of sediment type, feeding level, and larval density on growth and development of a midge (*Chironomus riparius*). **Environmental Toxicology and Chemistry: An International Journal**, v. 18, n. 4, p. 756-764, 1999.

ROBAYO, H. M. S.; SMITH, W. S. Macroinvertebrados aquáticos e sua relação com a mata ciliar na conservação de um rio na Floresta Nacional de Ipanema, SP, Brasil. **XXI Simpósio Brasileiro de Recursos Hídricos**, 2015.

ROCHA, O.; NETO, A. J. G.; DOS SANTOS LIMA, J. C.; FREITAS, E. C.; MIGUEL, M.; DA SILVA MANSANO, A.; MOREIRA, R. A.; DAAM, M. A. Sensitivities of three tropical

indigenous freshwater invertebrates to single and mixture exposures of diuron and carbofuran and their commercial formulations. **Ecotoxicology**, v. 27, n. 7, p. 834-844, 2018.

RODRIGUES, B. K. **Caracterização ambiental da bacia do Alto Jacaré-Guaçu (experimentos laboratoriais e *in situ*): elaboração de sedimentos sintéticos para avaliação da toxicidade do cádmio**. Tese (Doutorado). Universidade Federal de São Carlos, 2011.

RONQUIM, C. C.; FONSECA, M. F. Avanço das áreas de cana-de-açúcar e alterações em áreas de agropecuária no interior paulista. **Embrapa Territorial-Documentos (INFOTECA-E)**, 2018.

ROQUE, F. O.; CORBI, J. J.; TRIVINHO-STRIXINO, S. Considerações sobre a utilização de larvas de Chironomidae (Diptera) na avaliação da qualidade da água de córregos do Estado de São Paulo. **In: Ecotoxicologia: perspectivas para o século XXI**. São Carlos: Rima Artes e Tex, p. 115-126, 2000.

ROQUE, F. O.; SIQUEIRA, T.; BINI, L. M.; RIBEIRO, M. C.; TAMBOSI, L. R.; CIOCHETI, G.; TRIVINHO-STRIXINO, S. Untangling associations between chironomid taxa in Neotropical streams using local and land scape filters. **Freshwater Biology**, v. 55, n. 4, p. 847-865, 2010.

ROQUE, F.O.; TRIVINHO-STRIXINO, S. Chironomidae (Diptera) em córregos do Parque Estadual do Jaraguá: Considerações para conservação *in situ*. **Entomologia e Vectores**, 1999.

ROSENBERG, D. M. Freshwater biomonitoring and Chironomidae. **Netherlands Journal of Aquatic Ecology**, v. 26, p. 101-122, 1992.

ROSENBERG, D. M.; RESH, V. H. Introduction to freshwater biomonitoring and benthic macroinvertebrates. **In: Freshwater biomonitoring and benthic macroinvertebrates**. New York: Chapman and Hall, 1993.

SALLENAVE, R. Stream Biomonitoring Using Benthic Macroinvertebrates. NM State University, Cooperative Extension Service, College of Agricultural, Consumer and Environmental Sciences, **Circular 677**, 2015.

SANCHEZ, M.; FERRANDO, M. D.; SANCHO, E.; ANDREU, E. Assessment of the toxicity of a pesticide with a two-generation reproduction test using *Daphnia magna*. **Comparative Biochemistry and Physiology Part C: Pharmacology, Toxicology and Endocrinology**, v. 124, n. 3, p.247-252, 1999.

SANTIAGO, C. D.; CUNHA-SANTINO, M. B. Avaliação preliminar da qualidade dos sedimentos de duas nascentes, Córrego Espreado e Rio Monjolino, São Carlos–SP. **Revista de Ciências Ambientais**, v. 8, n. 1, p. 77-92, 2014.

SANTOS, J. L.; CONCEIÇÃO, A. A.; MACEDO, C. F.; ROCHA, S. S. Biomonitoramento de um riacho na Serra da Jiboia (Bahia, Brasil) através de macroinvertebrados bentônicos. **MAGISTRA**, v. 29, n. 2, p. 235-245, 2018.

SAULINO, H. H. L.; CORBI, J. J.; CARACCIOLI, L. C. Avaliação da qualidade da água da nascente do Ribeirão das Anhumas (Araraquara-SP) através do estudo dos macroinvertebrados aquáticos. **Revista Brasileira Multidisciplinar**, v. 14, n. 1, p. 17-29, 2011.

SCHÄFER, R. B.; CAQUET, T.; SIIMES, K.; MUELLER, R.; LAGADIC, L.; LIESS, M. Effects of pesticides on community structure and ecosystem functions in agricultural streams of three biogeographical regions in Europe. **Science of the Total Environment**, v. 382, n. 2, p. 272-285, 2007.

SCHULER, L. J.; TRIMBLE, A. J.; BELDEN, J. B.; LYDY, M. J. Joint toxicity of triazine herbicides and organophosphate insecticides to the midge *Chironomus tentans*. **Archives of Environmental Contamination and Toxicology**, v. 49, n. 2, p. 173-177, 2005.

SCHULTHEIS, A. S.; SANCHEZ, M.; HENDRICKS, A. C. Structural and functional responses of stream insects to copper pollution. **Hydrobiologia**, v. 346, n. 1-3, p.85-93, 1997.

SCHULZ, R.; LIESS, M. A field study of the effects of agriculturally derived insecticide input on stream macroinvertebrate dynamics. **Aquatic Toxicology**, v. 46, n. 3-4, p. 155-176, 1999.

SCHULZ, R.; LIESS, M. Acute and chronic effects of particle-associated fenvalerate on stream macroinvertebrates: a runoff simulation study using outdoor microcosms. **Archives of environmental contamination and toxicology**, v. 40, n. 4, p. 481-488, 2001.

SHAHID, N.; BECKER, J. M.; KRAUSS, M.; BRACK, W.; LIESS, M. Adaptation of *Gammarus pulex* to agricultural insecticide contamination in streams. **Science of the Total Environment**, v. 621, p. 479-485, 2018.

SIBLEY, P. K.; BENOIT, D. A.; ANKLEY, G. T. The significance of growth in *Chironomus tentans* sediment toxicity tests: relationship to reproduction and demographic endpoints. **Environmental Toxicology and Chemistry: An International Journal**, v. 16, n. 2, p. 336-345, 1997.

SILVA, C. M. M. S.; FAY, E. F.; VIEIRA, R. F. Efeito dos fungicidas metalaxil e fenarimol na microbiota do solo. Pesticidas. **Revista de Ecotoxicologia e Meio Ambiente**, v. 15, p. 93-104, 2005.

SILVA, J.; JUCKSCH, I.; FERES, C. I. M. A.; TAVARES, R. de C. J. Fauna do solo em sistemas de manejo com café. **Journal of Biotechnology and Biodiversity**, v.3, n. 2, p. 59-71, 2012.

SILVEIRA, M.; QUEIROZ, J. F.; RIBACINKO, D.; FERRAZ, J.; CARVALHO, M.; MARIGO, A.; SITTON, M.; ZAMBON, G.; SILVA, J. R. Avaliação biológica da qualidade da água em duas microbacias do rio Mogi Guaçu (SP) e sua relação com os impactos agrícolas. In: Embrapa Meio Ambiente-Artigo em anais de congresso (ALICE). **In: Reunião Anual Do Instituto Biológico**, São Paulo, SP. O Biológico, v. 68, sup. 2, 2006. p. 1-10., 2006.

SILVEIRA, M. P. Aplicação do biomonitoramento para avaliação da qualidade da água em rios. Embrapa Meio Ambiente, **Documentos 36**, 68p, 2004.

SINDICATO NACIONAL DA INDÚSTRIA DE PRODUTOS PARA DEFESA VEGETAL (SINDIVEG). **O que você precisa saber sobre defensivos agrícolas**. 2018. Disponível em: <<http://sindiveg.org.br/wp-435content/uploads/2018/08/oquevoceprecisasabersobredefensivosagricolas.pdf>>.

SOLIS, M.; BONETTO, C.; MARROCHI, N.; PARACAMPO, A.; MUGNI, H. Aquatic macroinvertebrate assemblages are affected by insecticide applications on the Argentine Pampas. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 148, p. 11-16, 2018.

SONODA, K.; MONTELES, J.; FERREIRA, A.; GERHARD, P. **Chironomidae da Amazonia Oriental: resposta da funcionalidade alimentar aos diferentes usos/cobertura do solo**. Embrapa Meio Ambiente-Comunicado Técnico (INFOTECA-E), 2018.

SOUTO, R. M. G.; CORBI, J. J.; JACOBUCCI, G. B. Aquatic insects as bioindicators of heavy metals in sediments in Cerrado streams. **Limnetica**, v. 38, n. 2, p. 575-586, 2019.

SOUTO, R. M. G.; FACURE, K. G.; JACOBUCCI, G. B. Do tropical riparian forests in the Cerrado Biome act as a buffer against the impacts of agriculture and livestock on benthic macroinvertebrate communities? **Limnetica**, v. 40, n. 2, p. 329-342, 2020.

SPADOTTO, C. A. Abordagem interdisciplinar na avaliação ambiental de agrotóxicos. **Revista Núcleo de Pesquisa Interdisciplinar**, p. 1-9, 2006.

STANKOVIĆ, J.; MILOŠEVIĆ, D.; SAVIĆ-ZDRAKOVIĆ, D.; YALÇIN, G.; YILDIZ, D.; BEKLIOĞLU, M.; JOVANOVIĆ, B. Exposure to a microplastic mixture is altering the life traits and is causing deformities in the non-biting midge *Chironomus riparius* Meigen (1804). **Environmental Pollution**, v. 262, p. 114248, 2020.

STEDUTO, P.; HSIAO, T. C.; FERERES, E.; RAES, D. **Crop yield response to water**. Irrigation and Drainage Paper No. 66, FAO; Rome, 503p. 2012.

STRIXINO, G.; TRIVINHO-STRIXINO, S. A temperatura e o desenvolvimento larval de *Chironomus sancticaroli* (Diptera: Chironomidae). **Revista Brasileira de Zoologia**, v. 3, n. 4, p. 177-180, 1985.

STRIXINO, S. T.; STRIXINO, G. Nova espécie do gênero *Chironomus* Meigen do sul do Brasil (Diptera: Chironomidae). **Revista Brasileira de Entomologia**, v. 25, p. 333-340, 1981.

SUEDEL, B. C.; RODGERS, J. H. Responses of *Hyaella azteca* and *Chironomus tentans* to particle-size distribution and organic matter content of formulated and natural freshwater sediments. **Environmental Toxicology and Chemistry: An International Journal**, v. 13, n. 10, p. 1639-1648, 1994.

SUN, B. Q.; WANG, F.; LI, H. Z.; YOU, J. Occurrence and toxicity of sediment-associated contaminants in Guangzhou College City and its adjacent areas: the relationship to urbanization. **Archives of Environmental Contamination and Toxicology**, v. 68, n. 1, p. 124-131, 2015.

SURIANO, M. T. **Macroinvertebrados em córregos de baixa ordem sob diferentes usos do solo no estado de São Paulo: subsídios para o biomonitoramento**. Tese (Doutorado). Universidade Federal de São Carlos, 2008.

SURIANO, M. T.; FONSECA-GESSNER, A. A. Structure of benthic macroinvertebrate assemblages on a gradient of environmental integrity in Neotropical streams. **Acta Limnológica Brasiliensia**, v. 25, n. 4, p. 418-428, 2013.

SVENSSON, O.; BELLAMY, A. S.; VAN DEN BRINK, P. J.; TEDENGREN, M.; GUNNARSSON, J. S. Assessing the ecological impact of banana farms on water quality using aquatic macroinvertebrate community composition. **Environmental Science and Pollution Research**, v. 25, n. 14, p. 13373-13381, 2018.

TADEI, R.; DOMINGUES, C. E.; MALAQUIAS, J. B.; CAMILO, E. V.; MALASPINA, O.; SILVA-ZACARIN, E. C. Late effect of larval co-exposure to the insecticide clothianidin and

fungicide pyraclostrobin in Africanized *Apis mellifera*. **Scientific Reports**, v. 9, n. 1, p. 3277, 2019.

TASSOU, K. T.; SCHULZ, R. Two-generation effects of the chitin synthesis inhibitor, teflubenzuron, on the aquatic midge *Chironomus riparius*. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 74, n. 5, p. 1203-1209, 2011.

TREVISAN, A.; HEPP, L.U. Dinâmica de componentes químicos vegetais e fauna associada ao processo de decomposição de espécies arbóreas em um riacho do norte do Rio Grande do Sul, Brasil. **Neotropical Biology and Conservation**, v. 2, n.1, p.55-60, 2007.

TRIVINHO-STRIXINO, S. **Estudos sobre a fecundidade de *Chironomus sancarlensis* sp. (Diptera: Chironomidae)**. 182p. Tese (Doutorado). Instituto de Biociências, Universidade de São Paulo. 1980.

TRIVINHO-STRIXINO, S.; STRIXINO, G. Ciclo de vida de *Chironomus sancticaroli*. **Revista Brasileira de Entomologia**, v. 26, p. 183-189, 1982.

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

TOWNSEND, K. R.; PETTIGROVE, V. J.; HOFFMANN, A. A. Food limitation in *Chironomus tepperi*: Effects on survival, sex ratios and development across two generations. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 84, p. 1-8, 2012.

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

UNIÃO DAS INDÚSTRIAS DE CANA-DE-AÇÚCAR – UNICA. **Produção**. 2018. Disponível em: < <http://www.unicadata.com.br> >. Acesso em: 27 fev. 2021.

VANNOTE, R. L.; MINSHALL, G. W.; CUMMINS, K. W.; SEDELL, J. R.; CUSHING, C. E. The River Continuum Concept. **Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences**, v. 37, n.1, p130-137, 1980.

VAROL, M.; ŞEN, B. Assessment of nutrient and heavy metal contamination in surface water and sediments of the upper Tigris River, Turkey. **Catena**, v. 92, p. 1-10, 2012.

VEDAMANIKAM, V. J. Formation of resistance in the *Chironomus plumosus* to four pesticides over 45 generations. **Toxicological and Environmental Chemistry**, v. 91, n. 1, p. 187-194, 2009.

VERRHIEST, G. J.; CORTES, S.; CLÉMENT, B.; MONTUELLE, B. Chemical and bacterial changes during laboratory conditioning of formulated and natural sediments. **Chemosphere**, v. 46, n. 7, p. 961-974, 2002.

VOGT, C.; NOWAK, C.; DIOGO, J. B.; OETKEN, M.; SCHWENK, K.; OEHLMANN, J. Multi-generation studies with *Chironomus riparius*—effects of low tributyltin concentrations on life history parameters and genetic diversity. **Chemosphere**, v. 67, n. 11, p. 2192-2200, 2007.

VON SPERLING, M. **Estudos de modelagem da qualidade da água de rios**. Belo Horizonte: UFMG, v. 7, 452 p., 2007.

WAISSI, G. C.; VÄÄNÄNEN, K.; NYBOM, I.; PAKARINEN, K.; AKKANEN, J.; LEPPÄNEN, M. T.; KUKKONEN, J. V. K. The chronic effects of fullereneC60-associated sediments in the midge *Chironomus riparius*: Responses in the first and the second generation. **Environmental Pollution**, v. 229, p. 423-430, 2017.

WANDSCHEER, A. C. D. **Macroinvertebrados bentônicos em lavoura de arroz irrigado sob efeito de fungicidas e inseticidas**. 2016. 100f. Tese (Doutorado). Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, 2016.

WANG, Y.S.; WEN, C.Y.; CHIU, T.C.; YEN, J.H. Effect of fungicide iprodione on soil bacterial community. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, n. 59, p. 127- 132., 2004.

WARREN L. A; ZIMMERMAN A. P. Suspended particulate oxides and organic matter interactions in trace metal sorption reactions in a small urban river. **Biogeochemistry**, v. 23, p. 21-34, 1994.

WATTS, M. M.; PASCOE, D.; CARROLL, K. Chronic exposure to 17 α -ethinylestradiol and bisphenol A-effects on development and reproduction in the freshwater invertebrate *Chironomus riparius* (Diptera: Chironomidae). **Aquatic Toxicology**, v. 55, n. 1-2, p. 113-124, 2001.

WELTJE, L.; BRUNS, E. **The chironomid full life-cycle test** - Validation report. First draft (OECD). 2009.

WENTSEL, R.; MCINTOSH, A.; ATCHISON, U. G. Sublethal effects of heavy metal contaminated sediment on midge larvae (*Chironomus tentans*). **Hydrobiologia**, v. 56, n. 2, p. 153-156, 1977.

WENTSEL, R.; MCINTOSH, A.; ATCHISON, G. Evidence of resistance to metals in larvae of the midge *Chironomus tentans* in a metal contaminated lake. **Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology**, v. 20, n. 1, p. 451-455, 1978.

WILLIAMS, D. D.; FELTMATE, B. W. **Aquatic insects**. Wallingford: CAB International, 358 p., 1992.

WOOSTER, D. E.; DEBANO, S. J. Effect of woody riparian patches in croplands on stream macroinvertebrates. **Archiv für Hydrobiologie**, v. 165, n. 2, p. 241-268, 2006.

WRUBLESWSKI, J.; REICHERT, F. W.; GALON, L.; HARTMANN, P. A.; HARTMANN, M. T. Acute and chronic toxicity of pesticides on tadpoles of *Physalaemus cuvieri* (Anura, Leptodactylidae). **Ecotoxicology**, v. 27, p. 360 - 368, 2018.

YOKOYAMA, A. Assessing impacts of insecticides on different embryonic stages of the nontarget aquatic insect *Cheumatopsyche brevilineata* (Trichoptera: Hydropsychidae). **Environmental Toxicology and Chemistry**, v. 38, n. 7, p. 1434-1445, 2019.

ZAGATTO, P. A.; BERTOLETTI, E. **Ecotoxicologia Aquática: princípios e conceitos**. Editora Rima, São Carlos, 2008.