

UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO

Escola de Engenharia de São Carlos

Efeitos do manejo do solo em áreas de pastagem e cultivo de cana-de-açúcar sobre ecossistemas aquáticos continentais tropicais: uma abordagem realística em mesocosmos

ISABELE BAIMA FERREIRA FREITAS

UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
ESCOLA DE ENGENHARIA DE SÃO CARLOS

ISABELE BAIMA FERREIRA FREITAS

Efeitos do manejo do solo em áreas de pastagem e cultivo de cana-de-açúcar sobre ecossistemas
aquáticos continentais tropicais: uma abordagem realística em mesocosmos

São Carlos

2023

ISABELE BAIMA FERREIRA FREITAS

Efeitos do manejo do solo em áreas de pastagem e cultivo de cana-de-açúcar sobre ecossistemas aquáticos continentais tropicais: uma abordagem realística em mesocosmos

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

Orientador: Prof. Tit. Evaldo Luiz Gaeta Espíndola

VERSÃO CORRIGIDA

São Carlos

2023

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.

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

B862 Baima Ferreira Freitas, Isabele
Efeitos do manejo do solo em áreas de pastagem e
cultivo de cana-de-açúcar sobre ecossistemas aquáticos
continentais tropicais: uma abordagem realística em
mesocosmos / Isabele Baima Ferreira Freitas;
orientador Evaldo Luiz Gaeta Espindola. São Carlos,
2023.

Tese (Doutorado) - Programa de Pós-Graduação e
Área de Concentração em Ciências da Engenharia
Ambiental -- Escola de Engenharia de São Carlos da
Universidade de São Paulo, 2023.

1. 2,4-D. 2. Fipronil. 3. Vinhaça. 4.
Fertilizantes. 5. Avaliação de risco ecológico. 6.
Serviços ecossistêmicos. I. Título.

FOLHA DE JULGAMENTO

Candidata: Bacharela **ISABELE BAIMA FERREIRA FREITAS**.

Título da tese: "Efeitos do manejo do solo em áreas de pastagem e cultivo de cana-de-açúcar sobre ecossistemas aquáticos continentais tropicais: uma abordagem realística em mesocosmos".

Data da defesa: 28/09/2023.

Comissão Julgadora

Resultado

Prof. Titular Evaldo Luiz Gaeta Espindola
(Orientador)
(Escola de Engenharia de São Carlos/EESC-USP)

Aprovada

Profa. Dra. Eneida Maria Eskinazi Sant'Anna
(Universidade Federal de Ouro Preto/UFOP)

Aprovada

Profa. Dra. Maria Stela Maioli Castilho Noll
(Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho"/UNESP - São José do Rio Preto)

Aprovada

Dr. André Luís Sanchez
(AECOM)

Aprovada

Dr. Lucas Bueno Mendes
(Bayer S/A)

Aprovada

Coordenador do Programa de Pós-Graduação em Ciências da Engenharia Ambiental:
Prof. Tit. **Marcelo Zaiat**

Presidente da Comissão de Pós-Graduação:
Prof. Titular **Carlos De Marqui Junior**

DEDICATÓRIA

*Dedico esta tese à minha mãe, Cláudia,
e à minha avó, Vera,
meus maiores exemplos de amor,
força, persistência e perdão.*

AGRADECIMENTOS

A Deus, por cuidar de cada detalhe.

À minha mãe, Cláudia, pelo amor e apoio incondicional durante todos os momentos. Nada disso seria possível sem o seu exemplo.

À minha avó, Velina, por me ensinar que o amor, apesar de tudo, resiste.

Aos meus queridos irmãos Paulinho, Dudu e Daniel, e irmãs, Manu e Daniele, por serem os melhores que eu poderia ter.

Aos meus sobrinhos, Heitor e João Henrique, e sobrinha, Beatriz, por me apresentarem o amor em sua forma mais pura.

Ao meu amor e companheiro de vida, Caio, por segurar a minha mão em todos os obstáculos do caminho.

À Marta, Rud e Raíssa, por serem carinho em forma de gente e por me darem uma segunda família.

Aos meus amigos de alma, Adson e Lorrana, por serem os melhores que eu poderia ter escolhido para trilhar a vida comigo.

Às minhas amigas preciosas, Camila, Andressa, Naiza e Marina. Camila, minha pessoa e conselheira particular. Andressa, minha sensatez. Naiza, que torna tudo mais especial e animado. Marina, minha generosidade e companheira de perrengues europeus. Obrigada por serem ouvido e alento e por deixarem qualquer fardo mais leve.

À Fernanda, por ter se tornado muito mais que uma professora de inglês. Uma amiga para toda a vida.

À Maria Paula, minha companheira de coletas, por ter sido suporte emocional em tantos momentos.

À Lais Lopes, obrigada pela lealdade, amizade e partilha de todos os perrengues estatísticos.

À Ellen, por compartilhar *insights* e muitas aventuras internacionais e por ter sido a melhor companheira de intercâmbio possível.

À minha psicóloga, Karina, por me fazer enxergar, tantas vezes, a luz no fim do túnel e por me ajudar a curar tantas feridas.

Ao meu orientador, Evaldo, obrigada por acreditar e confiar em mim desde o primeiro dia, por me inspirar tanto pessoal quanto profissionalmente e por me mostrar possível a construção de uma relação horizontal e respeitosa entre orientador-aluno.

Aos colegas de laboratório, Lívia, Lais Sorigotto, Lais Lopes, Lais Silva, Lais Giroto, Thandy, Maria Paula, Allan, David, Lucas, Marina, Danilo, Raquel e Juliane, por todos os momentos de descontração e ajuda com os experimentos.

À minha primeira filha científica, Lais Sorigotto, pelo carinho, amizade e por ter me dado a oportunidade de aprender muito mais do que ensinar.

À Bianca, Cassiana, Janaína e Gabrielle, pelas contribuições nas quantificações de metais e agrotóxicos.

Ao professor Paulo e à Mickaelle, pela disponibilidade, paciência e parceria durante as análises estatísticas.

À Universidade de Wageningen e ao meu querido supervisor, Paul van den Brink, pelas contribuições valiosas e orientação durante o período de doutorado sanduíche desenvolvido na Holanda e por fazer dessa experiência incrível, acolhedora e humana.

Aos colegas do *Stress Ecology Group*, Ayesha, Elien, Pieri, Anna, Dailing, Anika, Judith, Yujun, Li, Britt e Markus, por me acolherem tão bem e por me fazerem sentir em casa. Em especial, à Pieri e Ayesha, pela doçura, força e abraços em todos os dias.

À Susana Garcia, por ter me dado um lar cheio de amor na Holanda.

Aos técnicos Amândio e Marcelo, pela disponibilidade e ajuda durante todo o período experimental.

A todos os integrantes da APTA-Brotas. Em especial à Erika, por todo o apoio no período de coletas.

A todos os integrantes do projeto temático (Processo FAPESP nº 2015/18790-3), por todos os ensinamentos.

Aos integrantes das bancas de qualificação e de defesa desta tese, pelas contribuições preciosas para esta pesquisa.

À Universidade de São Paulo, por ser um ambiente de conhecimento crítico, construção e trocas. O agradecimento à USP se estende também às universidades públicas que, apesar de tantos percalços, são fundamentais para o fomento da cidadania, da democracia e da resistência.

À Capes, CNPq e FAPESP, pelo financiamento desta pesquisa. À Capes, obrigada pelo apoio financeiro durante o período de doutorado sanduíche. O investimento público na ciência brasileira é essencial para a construção da autonomia do país.

A todos que fizeram este caminho mais leve e bonito, muito obrigada.

EPÍGRAFE

*“Essa é a receita da vida, minha mãe disse,
me abraçando enquanto eu chorava: pense nas flores que você planta;
a cada ano no jardim, elas nos ensinam que as pessoas
também murcham, caem
criam raiz, crescem
para florescer no final”.*

O que o sol faz com as flores, Rupi Kaur

RESUMO

FREITAS, I. B. F. (2023). **Efeitos do manejo do solo em áreas de pastagem e cultivo de cana-de-açúcar sobre ecossistemas aquáticos continentais tropicais: uma abordagem realística em mesocosmos.** 2023. 280 p. Tese (Doutorado) - Escola de Engenharia de São Carlos, Universidade de São Paulo, São Carlos, 2023.

A expansão de áreas de pastagens e cana-de-açúcar no Brasil segue um modelo de produção agrícola que tem uma forte dependência de insumos agroquímicos, como fertilizantes e agrotóxicos, que ameaçam constantemente a qualidade dos ecossistemas aquáticos. Nesta pesquisa, os efeitos do manejo do solo em pastagens extensivas (PE), pastagens intensivas (PI) e culturas de cana-de-açúcar (C) foram avaliados em um estudo de campo em escala realista a partir do monitoramento de treze mesocosmos aquáticos inseridos nos tratamentos PE, PI e C durante 392 dias. O manejo recomendado para cada uma das áreas foi simulado, como preparação do solo, aplicação de fertilizantes, agrotóxicos (2,4-D, fipronil) e vinhaça, bem como a pastagem do gado. Os impactos do manejo do solo dos três tratamentos na água foram avaliados considerando três dimensões: 1) efeitos do manejo do solo na disponibilização de nutrientes e metais para os ecossistemas aquáticos; 2) efeitos ecotoxicológicos do manejo do solo, utilizando o cladóceros *Ceriodaphnia dubia* como bioindicador aquático, a dicotiledônea *Eruca sativa* como bioindicador de fitotoxicidade na água, e o díptero *Chironomus sancti-caroli* como bioindicador do sedimento; 3) Avaliação do risco ecológico e perda de serviços ecossistêmicos associadas a essas áreas. Os resultados obtidos demonstraram que o manejo do solo em PI e C acarretaram deterioração da qualidade da água, com redução do pH e do oxigênio dissolvido ao longo do tempo e aumento das concentrações de fósforo, nitrogênio, potássio, alumínio e manganês, especialmente após a aplicação de fertilizantes e vinhaça da cana-de-açúcar. A presença de 2,4-D ($< 97 \mu\text{g L}^{-1}$) e fipronil ($< 0,21 \mu\text{g L}^{-1}$) na água foram capazes de alterar a fecundidade, a sobrevivência das fêmeas e a taxa intrínseca de aumento da população de *C. silvestrii* nos tratamentos PI e C; e a germinação e o crescimento da parte aérea da dicotiledônea *E. sativa*. Para *C. sancti-caroli*, não foram observadas mudanças significativas na mortalidade, comprimento do corpo, biomassa fresca e peso seco livre de cinzas, bem como deformidades no mentum. O risco ecológico foi maior nos tratamentos C e PI, nessa ordem, em comparação com o tratamento PE, associado ao aumento da concentração de alumínio e pelo

agrotóxico 2,4-D no tratamento PI, e aos metais alumínio, potássio, manganês e os agrotóxicos 2,4-D e fipronil no tratamento C. Esses resultados demonstraram efeitos potenciais nos serviços ecossistêmicos, como redução da qualidade do solo e da água e perda de biodiversidade. Espera-se, com a conclusão desta pesquisa, auxiliar na identificação dos fatores de risco ecológico associados às práticas de manejo adotadas em áreas de pastagens e de cana-de-açúcar, bem como subsidiar legislação específica para o uso de agrotóxicos em países tropicais.

Palavras-chave: 2,4-D. Fipronil. Vinhaça. Fertilizantes. Avaliação de risco ecológico. Serviços ecossistêmicos.

ABSTRACT

FREITAS, I. B. F. (2023). **Effects of soil management in pastures and sugarcane crops on tropical continental aquatic ecosystems: a realistic mesocosm approach.** 2023. 280 p. Thesis (PhD) - São Carlos School of Engineering, University of São Paulo, São Carlos, 2023.

The expansion of pasture and sugarcane areas in Brazil follows an agricultural production model that has a strong dependence on agrochemical inputs, such as fertilizers and pesticides, which constantly threaten the quality of aquatic ecosystems. In this research, the effects of soil management in extensive pastures (EP), intensive pastures (IP), and sugarcane crops (C) were evaluated in a realistic scale field study from the monitoring of thirteen aquatic mesocosms inserted in the EP, IP, and C treatments for 392 days. The recommended management for each of the areas was simulated, such as soil preparation, application of fertilizers, pesticides (2,4-D, fipronil), and vinasse, as well as cattle grazing. The impacts of soil management of the three treatments on water were accessed considering three dimensions: 1) effects of soil management on the availability of nutrients and metals to aquatic ecosystems; 2) ecotoxicological effects of soil management, using the cladoceran *Ceriodaphnia dubia* as an aquatic bioindicator, the dicot *Eruca sativa* as a water phytotoxicity bioindicator, and the dipteran *Chironomus sanctiparoli* as a sediment bioindicator; 3) ecological risk assessment and loss of ecosystem services associated with these areas. The results obtained showed that soil management in IP and C treatments led to the deterioration of water quality, with reduced pH and dissolved oxygen over time and increased concentrations of phosphorus, nitrogen, potassium, aluminum, and manganese, especially after the application of fertilizers and sugarcane vinasse. Low concentrations of 2,4-D ($< 97 \mu\text{g L}^{-1}$) and fipronil ($< 0.21 \mu\text{g L}^{-1}$) in water were able to alter the fecundity, female survival, and intrinsic rate of increase of the *C. dubia* population in treatments IP and C; and the germination and shoot growth of the dicot *E. sativa*. For *C. sanctiparoli*, no significant changes were observed in mortality, altered larvae, body length, fresh biomass, and ash-free dry weight; however, all these endpoints were affected by time. The ecological risk was higher in treatments C and IP, in that order, compared to treatment EE, associated with the increase in aluminum concentration and the pesticide 2,4-D in treatment IP; and the metals aluminum, potassium, manganese and the pesticides 2,4-D and fipronil in treatment C. These results

demonstrated potential effects on ecosystem services, such as reduced soil and water quality and loss of biodiversity. The conclusions of this research are expected to assist in the identification of ecological risk factors associated with management practices adopted in pasture and sugarcane areas, as well as to subsidize specific legislation for the use of pesticides in tropical countries.

Keywords: 2,4-D. Fipronil. Vinasse. Fertilizers. Ecological risk assessment. Ecosystem services.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Esquema simplificado da estrutura da tese	48
Figura 2 – Evolução histórica do registro de agrotóxicos no Brasil (2001 a junho/2023).....	54
Figura 3 – Características de sistemas complexos (florestas) x sistemas simplificados (monoculturas).....	56
Figura 4 - Destino dos agrotóxicos no meio ambiente.....	59
Figura 5 - Ordem de resposta a um contaminante em um sistema biológico.....	60
Figura 6 - Cadeia da causalidade na ecotoxicologia.....	61
Figura 7 - Abordagem ecotoxicológica e suas escalas.....	63
Figura 8 - Etapas da Avaliação de Risco Ecológico de agrotóxicos.....	72
Figura 9 - <i>Nexus</i> entre mudanças de uso da terra, serviços ecossistêmicos e bem-estar humano.	76
Figura 10 - A) Vista aérea da área de estudo: pastagem extensiva (PE) na parte de baixo, em tom de verde mais claro. Pastagem intensiva (PI) e cana-de-açúcar (C) no topo da figura, ambas em tom de verde mais escuro. A diferença de coloração entre os tratamentos evidencia os efeitos da aplicação de fertilizantes químicos nas áreas de PI e C. Os mesocosmos estão localizados no meio de cada parcela; B) Vista aérea do mesocosmo; e C) Representação esquemática do modelo experimental inserido no local de estudo com sobreposição de taludes de terreno.....	80
Figura 11 - Etapas de construção dos mesocosmos na área experimental. A) Reconhecimento da área; B e C) Escavação do terreno com trator; D) Impermeabilização com manta geotêxtil (GF07), seguida de geomembrana lisa de polietileno de alta densidade (PEAD) com espessura de 0,5 mm; E) Deposição de 10 cm de solo local como sedimento; e F) Preenchimento dos mesocosmos com água de poço artesiano local.....	81
Figura 12 - Desenho esquemático dos mesocosmos com representação das escadas de madeira.	82
Figura 13 - Etapa de colonização dos mesocosmos com três espécies de macrófitas aquáticas (<i>Salvinia auriculata</i> , <i>Pistia stratiotes</i> e <i>Eichhornia crassipes</i>).....	83
Figura 14 - Pastagem do gado na área de pasto extensivo (PE)	87
Figura 15 - A) Cercas de proteção no mesocosmo; e B) cercas de proteção separando os tratamentos cana-de-açúcar e pastagem intensiva.	87
Figura 16 – Etapas discutidas no capítulo 2	112

Figura 17 - Mesocosmos cobertos por macrófitas aquáticas (registros fotográficos realizados em junho de 2019): A) Pastagem Extensiva (PE); B) Pastagem Intensiva (PI); e C) Cana-de-açúcar (C). 120

Figura 18 - Componente Principal 1 (CP1) *versus* Componente Principal 2 (CP2) de parâmetros *in-situ* por mesocosmo: A) pastagem extensiva (PE); B) pastagem intensiva (PI); e C) cana-de-açúcar (C). A CP1 está positivamente relacionada à Cla/Clb/Turb, e a CP2 está positivamente relacionada ao pH/OD/Cond. Cada coleta foi conectada em um caminho ao longo do tempo, e os eventos foram destacados de acordo com suas abreviações. Cla = clorofila a; Clb = clorofila b; Turb = turbidez; OD = oxigênio dissolvido; pH = potencial hidrogênio; Cond = condutividade elétrica; a = após fertilizante (PI/C); b = após fipronil (C); c = após 2,4-D (PI/C); d = após pastagem (PE/PI); e = após 2,4-D (PI); f = após fertilizante (PI/C); g = após corte da cana (C); h = após vinhaça (C); i = após fipronil (C); j = após 2,4-D (PI/C); e k = após pastagem (PE/PI). 122

Figura 19 - Componente principal 1 (CP1) *versus* componente principal 2 (CP2) dos nutrientes por mesocosmo: A) pastagem extensiva (PE); B) pastagem intensiva (PI); e C) cana-de-açúcar (C). Componente principal 1 (CP1) *versus* componente principal 3 (CP3) dos nutrientes por mesocosmo: D) pastagem extensiva (EP); E) pastagem intensiva (IP); e F) cana-de-açúcar (C). A CP1 está relacionada ao fósforo total (PT); fósforo total dissolvido (PTD); fósforo inorgânico total (PI), a CP2 está relacionada ao nitrogênio total (NT); íon amônio (NH_4^+); nitrito (NO_2^-); nitrato (NO_3^-) e a CP3 está relacionado ao nitrito (NO_2^-) e silicato (SiO_2). Cada coleta foi conectada em um caminho ao longo do tempo e os eventos foram destacados de acordo com suas abreviações. TP = fósforo total; TDP = fósforo total dissolvido; TIP = fósforo inorgânico total; TN = nitrogênio total; NH_4 = íon amônio; NO_2 = nitrito; NO_3 = nitrato; SiO_2 = silicato; a = após fertilizante (IP/C); b = após fipronil (C); c = após 2,4-D (IP/C); d = após pastagem (EP/IP); e = após 2,4-D (IP); f = após fertilizante (IP/C); g = após cana cortada (C); h = após vinhaça (C); i = após fipronil (C). 128

Figura 20 - Índice de Estado Trófico (IET) dos mesocosmos ao longo do tempo por tratamento: pastagem extensiva (PE), pastagem intensiva (PI) e cana-de-açúcar (C). a = após fertilizante (IP/C); b = após fipronil (C); c = após 2,4-D (IP/C); d = após pastagem (EP/IP); e = após 2,4-D (IP); f = após fertilizante (IP/C); g = após cana cortada (C); h = após vinhaça (C); i = após fipronil (C). 129

Figura 21 - Componente principal 1 (CP1) *versus* componente principal 2 (CP2) dos metais por mesocosmo: A) pastagem extensiva (Pe); B) pastagem intensiva (PI); e C) cana-de-açúcar (C). Componente principal 1 (CP1) *versus* componente principal 3 (CP3) dos nutrientes por mesocosmo: D) pastagem extensiva (EP); E) pastagem intensiva (IP); e F) cana-de-açúcar (C). A CP1 está relacionada positivamente ao Zn, K e Mn e negativamente ao Pb; a CP2 está relacionada positivamente ao Mn, Al e Pb e negativamente ao Ni; e a CP3 está relacionada positivamente ao Cd e Cu. Cada coleta foi conectada em um caminho ao longo do tempo e os eventos foram destacados de acordo com suas abreviações. Mn = manganês; Pb = chumbo; Ni = níquel; Al = alumínio; K = potássio; Cu = cobre; Zn = zinco; Cd = cádmio; Ba = Bário; Co = Cobalto; a = após fertilizante (IP/C); b = após fipronil (C); c = após 2,4-D (IP/C); d = após pastagem (EP/IP); e = após 2,4-D (IP); f = após fertilizante (IP/C); g = após cana cortada (C); h = após vinhaça (C); i = após fipronil (C)..... 135

Figura 22 - Registros fotográficos dos mesocosmos realizados em agosto de 2019 (período seco): A) Pastagem extensiva (PE); B) Pastagem intensiva (PI); e C) Cana-de-açúcar (C). 137

Figura 23 - Precipitação média mensal (barras tracejadas), velocidade do vento (barras sólidas), temperatura do ar (linha tracejada) e temperatura da água (linha contínua) durante o período experimental. a = após fertilizante (IP/C); b = após fipronil (C); c = após 2,4-D (IP/C); d = após pastagem (EP/IP); e = após 2,4-D (IP); f = após fertilizante (IP/C); g = após cana cortada (C); h = após vinhaça (C); i = após fipronil (C)..... 142

Figura 24 – Etapas discutidas no Capítulo 3 166

Figura 25 - A) Imobilidade; B) Número de neonatos por fêmea (fecundidade); C) Sobrevivência das fêmeas; e D) Taxa intrínseca de aumento populacional (r) da espécie *Ceriodaphnia silvestrii* após exposição a diferentes eventos de manejo do solo. PE = pastagem extensiva; PI = pastagem intensiva; C = cana-de-açúcar; a/b = após fertilizante (PI/C) e fipronil (C); c = após 2,4-D (PI/C); d = após pastagem do gado (PE/PI); e = após 2,4-D (PI); f = após corte da cana (PI/C); g = após fertilizante (C); h = após vinhaça (C); i = após fipronil (C); j = após 2,4-D; k = após pastagem do gado (PE/PI). 179

Figura 26 - A) Germinação; B) Crescimento da parte aérea; C) Crescimento da raiz da espécie *Eruca sativa* após exposição a diferentes eventos de manejo do solo. PE = pastagem extensiva; PI = pastagem intensiva; C = cana-de-açúcar; a/b = após fertilizante (PI/C) e fipronil (C); c = após 2,4-D (PI/C); d = após pastagem do gado (PE/PI); e = após 2,4-D (PI); f = após corte da

cana (PI/C); g = após fertilizante (C); h = após vinhaça (C); i = após fipronil (C); j = após 2,4-D; k = após pastagem do gado (PE/PI).	182
Figura 27 - A) Mortalidade; B) Larvas no quarto instar; C) Deformidades do mentum; D) Comprimento do corpo; E) Biomassa fresca; F) Biomassa seca livre de cinzas (BSLC) da espécie <i>Chironomus sancticaroli</i> após exposição a diferentes eventos de manejo do solo. PE = pastagem extensiva; PI = pastagem intensiva; C = cana-de-açúcar; f = após corte da cana (PI/C); g = após fertilizante (C); h = após vinhaça (C); i = após fipronil (C); j = após 2,4-D; k = após pastagem do gado (PE/PI).....	185
Figura 28 – Etapas discutidas no Capítulo 4	208
Figura 29 – Modelo conceitual adotado para a Avaliação de Risco Ecológico, representando as principais fontes de poluição e impactos da era do Antropoceno, com foco nas atividades agropecuárias.	209
Figura 30 – Demonstração da estrutura de uma cadeia lógica de impacto, desde o efeito direto até os impactos em um serviço final do ecossistema, usando como exemplo os possíveis impactos de concentrações elevadas de cobre na produção agrícola.	212
Figura 31 - Avaliação de risco ecológico para as Linhas de Evidência (LE): A) ecológica, B) ecotoxicológica e C) química - D) metais e E) agrotóxicos -, indicando os riscos de baixo a extremamente alto para as datas de amostragem. O risco integrado representa o risco final das três linhas de evidência (ecológica, ecotoxicológica e química) calculadas considerando F) agrotóxicos, G) metais e H) ambos. Coletas 1 e 2 – após fertilizante e fipronil (PI/C); coleta 3 - após 2,4-D (PI/C); coleta 4 – após 2,4-D (PI); coleta 5 – após corte da cana; coleta 6 – após fertilizante (PI/C); coleta 7 – após vinhaça (C); coleta 8 – após fipronil (C); coleta 9 – após 2,4-D (PI/C).....	215
Figura 32 - Cadeia lógica de impactos para os grupos de espécie-chave A) Plantas não-alvo e B) Invertebrados aquáticos, oriundos da exposição a concentrações elevadas de metais (alumínio).	216
Figura 33 - Cadeia lógica de impactos para os grupos de espécie-chave A) Plantas não-alvo e B) Invertebrados aquáticos, oriundos da exposição a concentrações elevadas de agrotóxicos (2,4-D e fipronil).....	217

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Propriedades físico-químicas do 2,4-D.....	64
Tabela 2 – Valores de toxicidade calculados para o 2,4-D	65
Tabela 3 – Propriedades físico-químicas do fipronil	67
Tabela 4 – Valores de toxicidade calculados para o fipronil.....	68
Tabela 5 - Concentrações (volume/volume) de vinhaça da cana-de-açúcar bruta que causaram efeitos tóxicos sobre organismos aquáticos.....	69
Tabela 6 – Caracterização do solo da área de estudo.....	79
Tabela 7 - Concentração de fertilizantes (N, P e K) e agrotóxicos (2,4-D e fipronil) aplicados nos tratamentos pastagem intensiva (PI) e cana-de-açúcar (C) durante os dois ciclos da cana-de-açúcar (o estabelecimento da primeira safra - 1º ciclo; e a rebrota – 2º ciclo). Não foram realizadas aplicações de fertilizantes e agrotóxicos no tratamento pastagem extensiva (PE). “-“ significa sem aplicação. PC = produto comercial.....	85
Tabela 8 - Caracterização físico-química da vinhaça bruta aplicado no tratamento de cana-de-açúcar	86
Tabela 9 - Etapas de manejo do solo realizadas nos tratamentos pastagem extensiva (PE), pastagem intensiva (PI) e cana-de-açúcar (C) durante os dois ciclos da cana-de-açúcar (a implantação da primeira safra – 1º ciclo; e a rebrota da cana-de-açúcar – 2º ciclo).....	88
Tabela 10 - Comprimento de onda da análise de metais e seus limites de detecção (LOD) e de quantificação (LOQ).	113
Tabela 11 – Etapas de manejo do solo realizadas nos tratamentos de pastagem extensiva (PE), pastagem intensiva (PI) e cana-de-açúcar (C) durante os dois ciclos da cana-de-açúcar, que incluem: a data de amostragem; o evento realizado e seu respectivo tratamento; e a abreviação do evento.	116
Tabela 12 – Valores médios dos parâmetros medidos <i>in-situ</i> para o tratamento de pasto extensivo (PE) por coleta. Os valores máximos e mínimos registrados também estão descritos. Os valores de referência são os disponíveis na CONAMA 357 (BRASIL, 2005) para corpos d’água Classe 1. a = após fertilizante (PI/C); b = após fipronil (C); c = após 2,4-D (PI/C); d = após pastagem (PE/PI); e = após 2,4-D (PI); f = após fertilizante (PI/C); g = após corte da cana (C); h = após vinhaça (C); i = após fipronil (C); j = após 2,4-D (PI/C); e k = após pastagem (PE/PI).	117

Tabela 13 - Valores médios dos parâmetros medidos <i>in-situ</i> para o tratamento de pasto intensivo (PI) por coleta. Os valores máximos e mínimos registrados também estão descritos. Os valores de referência são os disponíveis na CONAMA 357 (BRASIL, 2005) para corpos d'água Classe 1. a = após fertilizante (PI/C); b = após fipronil (C); c = após 2,4-D (PI/C); d = após pastagem (PE/PI); e = após 2,4-D (PI); f = após fertilizante (PI/C); g = após corte da cana (C); h = após vinhaça (C); i = após fipronil (C); j = após 2,4-D (PI/C); e k = após pastagem (PE/PI).	118
Tabela 14 - Valores médios dos parâmetros medidos <i>in-situ</i> para o tratamento de cana-de-açúcar (C) por coleta. Os valores máximos e mínimos registrados também estão descritos. Os valores de referência são os disponíveis na CONAMA 357 (BRASIL, 2005) para corpos d'água Classe 1. a = após fertilizante (PI/C); b = após fipronil (C); c = após 2,4-D (PI/C); d = após pastagem (PE/PI); e = após 2,4-D (PI); f = após fertilizante (PI/C); g = após corte da cana (C); h = após vinhaça (C); i = após fipronil (C); j = após 2,4-D (PI/C); e k = após pastagem (PE/PI).	119
Tabela 15 - Resultados do Modelo Misto Linear (LMM) avaliando os efeitos dos tratamentos de pastagem extensiva (PE - intercepto), pastagem intensiva (PI) e cana-de-açúcar (C) na série temporal de experimentos para as variáveis resposta CP1 e CP2 dos parâmetros <i>in-situ</i> . A CP1 está relacionada à clorofila a (Cla), clorofila b (Cib) e turbidez (Turb); a CP2 está relacionada ao oxigênio dissolvido (OD), ao pH e à condutividade elétrica (Cond).....	121
Tabela 16 - Valores médios, máximos e mínimos dos nutrientes para o tratamento de pasto extensivo (PE) por coleta. Os valores de referência são os disponíveis na CONAMA 357 (BRASIL, 2005) para corpos d'água Classe 1. a = após fertilizante (PI/C); b = após fipronil (C); c = após 2,4-D (PI/C); d = após pastagem (PE/PI); e = após 2,4-D (PI); f = após fertilizante (PI/C); g = após corte da cana (C); h = após vinhaça (C); i = após fipronil (C); j = após 2,4-D (PI/C); e k = após pastagem (PE/PI).	123
Tabela 17 - Valores médios, máximos e mínimos dos nutrientes para o tratamento de pasto intensivo (PI) por coleta. Os valores de referência são os disponíveis na CONAMA 357 (BRASIL, 2005) para corpos d'água Classe 1. a = após fertilizante (PI/C); b = após fipronil (C); c = após 2,4-D (PI/C); d = após pastagem (PE/PI); e = após 2,4-D (PI); f = após fertilizante (PI/C); g = após corte da cana (C); h = após vinhaça (C); i = após fipronil (C); j = após 2,4-D (PI/C); e k = após pastagem (PE/PI).	124
Tabela 18 - Valores médios, máximos e mínimos dos nutrientes para o tratamento de cana-de-açúcar (C) por coleta. Os valores de referência são os disponíveis na CONAMA 357 (BRASIL,	

2005) para corpos d'água Classe 1. a = após fertilizante (PI/C); b = após fipronil (C); c = após 2,4-D (PI/C); d = após pastagem (PE/PI); e = após 2,4-D (PI); f = após fertilizante (PI/C); g = após corte da cana (C); h = após vinhaça (C); i = após fipronil (C); j = após 2,4-D (PI/C); e k = após pastagem (PE/PI).125

Tabela 19 - Resultados do Modelo Misto Linear (LMM) avaliando os efeitos dos tratamentos de pastagem extensiva (PE - intercepto), pastagem intensiva (PI) e cana-de-açúcar (C) na série temporal de experimentos para as variáveis resposta CP1, CP2 e CP3 dos nutrientes. A CP1 está relacionada ao fósforo total (PT); fósforo total dissolvido (PTD); fósforo inorgânico total (PI), a CP2 está relacionada ao nitrogênio total (NT); íon amônio (NH_4^+); nitrito (NO_2^-); nitrato (NO_3^-) e a CP3 está relacionado ao nitrito (NO_2^-) e silicato (SiO_2).....127

Tabela 20 - Valores médios, máximos e mínimos dos metais para o tratamento de pasto extensivo (PE) por coleta. Os valores de referência são os disponíveis na CONAMA 357 (BRASIL, 2005) para corpos d'água Classe 1. a = após fertilizante (PI/C); b = após fipronil (C); c = após 2,4-D (PI/C); d = após pastagem (PE/PI); e = após 2,4-D (PI); f = após fertilizante (PI/C); g = após corte da cana (C); h = após vinhaça (C); i = após fipronil (C); j = após 2,4-D (PI/C); e k = após pastagem (PE/PI).130

Tabela 21 - Valores médios, máximos e mínimos dos nutrientes para o tratamento de pasto extensivo (PE) por coleta. Os valores de referência são os disponíveis na CONAMA 357 (BRASIL, 2005) para corpos d'água Classe 1. a = após fertilizante (PI/C); b = após fipronil (C); c = após 2,4-D (PI/C); d = após pastagem (PE/PI); e = após 2,4-D (PI); f = após fertilizante (PI/C); g = após corte da cana (C); h = após vinhaça (C); i = após fipronil (C); j = após 2,4-D (PI/C); e k = após pastagem (PE/PI).131

Tabela 22 - Valores médios, máximos e mínimos dos nutrientes para o tratamento de pasto extensivo (PE) por coleta. Os valores de referência são os disponíveis na CONAMA 357 (BRASIL, 2005) para corpos d'água Classe 1. a = após fertilizante (PI/C); b = após fipronil (C); c = após 2,4-D (PI/C); d = após pastagem (PE/PI); e = após 2,4-D (PI); f = após fertilizante (PI/C); g = após corte da cana (C); h = após vinhaça (C); i = após fipronil (C); j = após 2,4-D (PI/C); e k = após pastagem (PE/PI).132

Tabela 23 - Resultados do Modelo Misto Linear (LMM) avaliando os efeitos dos tratamentos de pastagem extensiva (PE - intercepto), pastagem intensiva (PI) e cana-de-açúcar (C) na série temporal de experimentos para as variáveis resposta CP1, CP2 e CP3 dos metais. A CP1 está

relacionada positivamente ao Zn, K e Mn e negativamente ao Pb; a CP2 está relacionada positivamente ao Mn, Al e Pb e negativamente ao Ni; e a CP3 está relacionada positivamente ao Cd e Cu.....	134
Tabela 24 - Etapas de manejo do solo realizadas nos tratamentos de pastagem extensiva (PE), pastagem intensiva (PI) e cana-de-açúcar (C) durante os dois ciclos da cana-de-açúcar, que incluem: a data de amostragem; o evento realizado e seu respectivo tratamento; a abreviação do evento; coletas de água (A) e coletas de sedimento (S).....	172
Tabela 25 - Resultados do modelo misto linear (LMM) avaliando os efeitos das variáveis explicativas na série temporal de experimentos para a espécie <i>Ceriodaphnia silvestrii</i> . Os valores da estimativa do coeficiente (<i>estimate</i>), do desvio padrão (E.P.) e do p-valor são descritos. O intercepto representa o tratamento PE. *valores de p significativos ($p < 0,05$).	178
Tabela 26 - Resultados do modelo misto linear (LMM) avaliando os efeitos das variáveis explicativas na série temporal de experimentos para a espécie <i>Eruca sativa</i> . Os valores da estimativa do coeficiente (<i>estimate</i>), do desvio padrão (D.P) e do p-valor são descritos. O intercepto representa o tratamento PE. *valores de p significativos ($p < 0,05$).	181
Tabela 27 - Resultados do modelo misto linear (LMM) avaliando os efeitos das variáveis explicativas na série temporal de experimentos para a espécie <i>Chironomus sancticaroli</i> . Os valores da estimativa do coeficiente (<i>estimate</i>), do desvio padrão (E.P.) e do p-valor são descritos. O intercepto representa o tratamento PE. *valores de p significativos ($p < 0,05$)......	184
Tabela 28 - Estrutura de avaliação de risco ambiental baseada na tríade da linha de evidência (LE) química, ecotoxicológica e ecológica. Após cálculos individuais, o risco integrado foi estimado com base no modelo de avaliação de risco de Jensen & Mesman (2006).....	210
Tabela 29 - Coletas consideradas na elaboração da Avaliação de Risco Ecológico e descrição das etapas de manejo do solo nos tratamentos de pastagem extensiva (PE), pastagem intensiva (PI) e cana-de-açúcar (C) durante os dois ciclos da cana-de-açúcar (o primeiro estabelecimento da cultura - 1º; e a rebrota da cana-de-açúcar - 2º).....	211
Tabela 30 - Estrutura de serviços ecossistêmicos baseados em metas de proteção específicas para os grupos de espécies-chave plantas não-alvo e invertebrados aquáticos possivelmente afetados pelo manejo do solo em pastagens extensivas, pastagens intensivas e culturas de cana-de-açúcar. As metas de proteção específicas baseiam-se nos requisitos legais derivados da legislação	

européia e são especificadas em termos de entidade ecológica, atributo, magnitude do impacto e escala espaço-temporal do impacto (EFSA, 2010).218

APÊNDICE A

Apêndice A1 - Análise <i>Parallel</i> da análise de componentes principais (PCA) dos parâmetros <i>in-situ</i> nos mesocosmos durante o experimento. As CPs retidas (1 e 2) estão localizadas acima da linha vermelha.....	235
Apêndice A2 - Contribuições das variáveis (%) para: A) CP1; e B) CP2. As variáveis analisadas foram potencial hidrogeniônico (pH), oxigênio dissolvido (OD), condutividade elétrica (Cond), turbidez (Turb), clorofila a (Cla) e clorofila b (Clb). A linha vermelha de referência corresponde ao valor esperado se a contribuição fosse uniforme.	236
Apêndice A3 - Representação e direção das variáveis para os parâmetros <i>in-situ</i> , considerando CP1 versus CP2. As variáveis analisadas foram potencial hidrogeniônico (pH), oxigênio dissolvido (OD), condutividade elétrica (Cond), turbidez (Turb), clorofila a (Cla) e clorofila b (Clb). As setas representam a magnitude e a direção da contribuição de cada variável.....	237
Apêndice A4 - Representação dos resíduos gerados pelo Modelo Misto Linear (LMM) usando a CP1 dos parâmetros <i>in-situ</i> como variável resposta. A) Representação da probabilidade normal de resíduos; B) Gráfico de resíduos <i>versus</i> valores ajustados.	237
Apêndice A5 - Representação dos resíduos gerados pelo Modelo Misto Linear (LMM) usando a CP2 dos parâmetros <i>in-situ</i> como variável resposta. A) Representação da probabilidade normal de resíduos; B) Gráfico de resíduos <i>versus</i> valores ajustados.	238
Apêndice A6 - Análise <i>Parallel</i> da análise de componentes principais (PCA) dos nutrientes nos mesocosmos durante o experimento. As CPs retidas (1, 2 e 3) estão localizadas acima da linha vermelha.	238
Apêndice A7 - Contribuições das variáveis (%) para: A) CP1; B) CP2; e C) CP3. As variáveis analisadas foram: fósforo total (PT); fósforo total dissolvido (PTD); fósforo inorgânico total (PI); nitrogênio total (NT); íon amônio (NH ₄ ⁺); nitrito (NO ₂ ⁻); nitrato (NO ₃ ⁻); e silicato (SiO ₂).....	239
Apêndice A8 - Representação e direção das variáveis para os nutrientes, considerando A) CP1 <i>versus</i> CP2 e B) CP1 <i>versus</i> CP3. As variáveis analisadas foram: fósforo total (PT); fósforo total dissolvido (PTD); fósforo inorgânico total (PI); nitrogênio total (NT); íon amônio (NH ₄ ⁺); nitrito (NO ₂ ⁻); nitrato (NO ₃ ⁻); e silicato (SiO ₂). As setas representam a magnitude e a direção da contribuição de cada variável.	240

Apêndice A9 - Representação dos resíduos gerados pelo Modelo Misto Linear (LMM) usando a CP1 dos nutrientes como variável resposta. A) Representação da probabilidade normal de resíduos; B) Gráfico de resíduos <i>versus</i> valores ajustados.....	240
Apêndice A10 - Representação dos resíduos gerados pelo Modelo Misto Linear (LMM) usando a CP2 dos nutrientes como variável resposta. A) Representação da probabilidade normal de resíduos; B) Gráfico de resíduos <i>versus</i> valores ajustados.....	241
Apêndice A11 - Representação dos resíduos gerados pelo Modelo Misto Linear (LMM) usando a CP3 dos nutrientes como variável resposta. A) Representação da probabilidade normal de resíduos; B) Gráfico de resíduos <i>versus</i> valores ajustados.....	241
Apêndice A12 - Análise <i>Parallel</i> da análise de componentes principais (PCA) dos nutrientes nos mesocosmos durante o experimento. As CPs retidas (1, 2 e 3) estão localizadas acima da linha vermelha.	242
Apêndice A13 - Contribuições das variáveis (%) para: A) CP1; B) CP2; e C) CP3. As variáveis analisadas foram: alumínio (Al); manganês (Mn); chumbo (Pb); níquel (Ni); potássio (K); cobre (Cu); zinco (Zn); cádmio (Cd); cobalto (Co); e bário (Ba).	243
Apêndice A14 - Representação e direção das variáveis para os metais, considerando A) CP1 <i>versus</i> CP2 e B) CP1 <i>versus</i> CP3. As variáveis analisadas foram: alumínio (Al); manganês (Mn); chumbo (Pb); níquel (Ni); potássio (K); cobre (Cu); zinco (Zn); cádmio (Cd); cobalto (Co); e bário (Ba). As setas representam a magnitude e a direção da contribuição de cada variável.	244
Apêndice A15 - Representação dos resíduos gerados pelo Modelo Misto Linear (LMM) usando a CP1 dos metais como variável resposta. A) Representação da probabilidade normal de resíduos; B) Gráfico de resíduos <i>versus</i> valores ajustados.	244
Apêndice A16 - Representação dos resíduos gerados pelo Modelo Misto Linear (LMM) usando a CP2 dos metais como variável resposta. A) Representação da probabilidade normal de resíduos; B) Gráfico de resíduos <i>versus</i> valores ajustados.	245
Apêndice A17 - Representação dos resíduos gerados pelo Modelo Misto Linear (LMM) usando a CP3 dos metais como variável resposta. A) Representação da probabilidade normal de resíduos; B) Gráfico de resíduos <i>versus</i> valores ajustados.	245

APÊNDICE B

- Apêndice B1 - Análise *Parallel* da análise de componentes principais (PCA) dos parâmetros utilizados nos modelos lineares generalizados mistos (GLMM). As CPs retidas (1,2 e 3) estão localizadas acima da linha vermelha.....246
- Apêndice B2 - Contribuições das variáveis (%) para: A) CP1; B) CP2; C) CP3; e D) CP4. As variáveis analisadas foram potencial hidrogeniônico (pH), oxigênio dissolvido (OD), condutividade elétrica (Cond), turbidez (Turb), clorofila a (Cl_a); fósforo total (PT); fósforo total dissolvido (PTD); fósforo inorgânico total (PI); nitrogênio total (NT); íon amônio (NH₄⁺); nitrito (NO₂⁻); nitrato (NO₃⁻); e silicato (SiO₂). A linha vermelha de referência corresponde ao valor esperado se a contribuição fosse uniforme.247
- Apêndice B3 - Representação e direção das variáveis, considerando A) CP1 *versus* CP2 e B) CP1 *versus* CP3; C) CP1 *versus* CP4. As variáveis analisadas foram potencial hidrogeniônico (pH), oxigênio dissolvido (OD), condutividade elétrica (Cond), turbidez (Turb), clorofila a (Cl_a); fósforo total (PT); fósforo total dissolvido (PTD); fósforo inorgânico total (PI); nitrogênio total (NT); íon amônio (NH₄⁺); nitrito (NO₂⁻); nitrato (NO₃⁻); e silicato (SiO₂). A linha vermelha de referência corresponde ao valor esperado se a contribuição fosse uniforme.248
- Apêndice B4 - Resultados do modelo linear generalizado (GLM) para as variáveis resposta da espécie *Ceriodaphnia silvestrii* (imobilidade, fecundidade, sobrevivência das fêmeas e taxa intrínseca de crescimento populacional - *r*) e cada uma das variáveis explicativas para descobrir a ordem de entrada das variáveis nos modelos lineares generalizados mistos (GLMM) de acordo com a menor *deviance*.....249
- Apêndice B5 - Resultados dos modelos lineares generalizados mistos (GLMM) para a imobilidade da espécie *Ceriodaphnia silvestrii*. Variáveis explicativas: tratamento (Tratamento - pastagem extensiva, pastagem intensiva e cana-de-açúcar); 2,4-D; Fipronil (Fip); parâmetros físico-químicos-biológicos agrupados em componentes principais (CP1, CP2, CP3 e CP4), interação entre tratamento e agrotóxicos (2,4-D e fipronil); interação entre tratamento e componentes principais (CP1, CP2, CP3 e CP4); Efeitos aleatórios: tempo e mesocosmo; (+): fator aplicado no modelo; NA: fator ausente no modelo; *: modelo final; Intercepto: tratamento pastagem extensiva. Hierarquia de remoção das variáveis: efeitos aleatórios, interações entre

tratamento e variáveis, e variáveis principais. As variáveis foram removidas de acordo com a ordem estabelecida no Apêndice B4.....	250
Apêndice B6 - Resultados do Modelo Linear Misto Generalizado para imobilidade de <i>Ceriodaphnia silvestrii</i> . AIC: Critério de Informação de Akaike; $\Delta AICc$: diferença entre cada modelo e o modelo de melhor ajuste; df: graus de liberdade. *: modelo final.....	251
Apêndice B7 - Representação dos resíduos gerados para o modelo final m4 para a imobilidade de <i>Ceriodaphnia silvestrii</i> . A) Representação da probabilidade normal de resíduos; B) Gráfico de resíduos <i>versus</i> valores ajustados.....	251
Apêndice B8 - Resultados dos modelos lineares generalizados mistos (GLMM) para a fecundidade da espécie <i>Ceriodaphnia silvestrii</i> . Variáveis explicativas: tratamento (Tratamento - pastagem extensiva, pastagem intensiva e cana-de-açúcar); 2,4-D; Fipronil (Fip); parâmetros físico-químicos-biológicos agrupados em componentes principais (CP1, CP2, CP3 e CP4), interação entre tratamento e agrotóxicos (2,4-D e fipronil); interação entre tratamento e componentes principais (CP1, CP2, CP3 e CP4); Efeitos aleatórios: tempo e mesocosmo; (+): fator aplicado no modelo; NA: fator ausente no modelo; *: modelo final; Intercepto: tratamento pastagem extensiva. Hierarquia de remoção das variáveis: efeitos aleatórios, interações entre tratamento e variáveis, e variáveis principais. As variáveis foram removidas de acordo com a ordem estabelecida no Apêndice B4.....	252
Apêndice B9 - Resultados do Modelo Linear Misto Generalizado para a fecundidade de <i>Ceriodaphnia silvestrii</i> . AIC: Critério de Informação de Akaike; $\Delta AICc$: diferença entre cada modelo e o modelo de melhor ajuste; df: graus de liberdade. *: modelo final.....	253
Apêndice B10 - Representação dos resíduos gerados para o modelo m9 para a fecundidade de <i>Ceriodaphnia silvestrii</i> . A) Representação da probabilidade normal de resíduos; B) Gráfico de resíduos <i>versus</i> valores ajustados.....	253
Apêndice B11 - Resultados dos modelos lineares generalizados mistos (GLMM) para a sobrevivência das fêmeas da espécie <i>Ceriodaphnia silvestrii</i> . Variáveis explicativas: tratamento (Tratamento - pastagem extensiva, pastagem intensiva e cana-de-açúcar); 2,4-D; Fipronil (Fip); parâmetros físico-químicos-biológicos agrupados em componentes principais (CP1, CP2, CP3 e CP4), interação entre tratamento e agrotóxicos (2,4-D e fipronil); interação entre tratamento e componentes principais (CP1, CP2, CP3 e CP4); Efeitos aleatórios: tempo e mesocosmo; (+): fator aplicado no modelo; NA: fator ausente no modelo; *: modelo final; Intercepto: tratamento	

pastagem extensiva. As variáveis que o modelo não conseguiu convergir (-) foram removidas do modelo e adicionadas no final para análise de sua significância. Hierarquia de remoção das variáveis: efeitos aleatórios, interações entre tratamento e variáveis, e variáveis principais. As variáveis foram removidas de acordo com a ordem estabelecida no Apêndice B4.....254

Apêndice B12 - Resultados do Modelo Linear Misto Generalizado para sobrevivência das fêmeas de *Ceriodaphnia silvestrii*. AIC: Critério de Informação de Akaike; $\Delta AICc$: diferença entre cada modelo e o modelo de melhor ajuste; df: graus de liberdade. *: modelo final.255

Apêndice B13 - Representação dos resíduos gerados para o modelo m11 para a sobrevivência das fêmeas de *Ceriodaphnia silvestrii*. A) Representação da probabilidade normal de resíduos; B) Gráfico de resíduos *versus* valores ajustados.255

Apêndice B14 - Resultados dos modelos lineares generalizados mistos (GLMM) para a taxa intrínseca de crescimento populacional (r) da espécie *Ceriodaphnia silvestrii*. Variáveis explicativas: tratamento (Tratamento - pastagem extensiva, pastagem intensiva e cana-de-açúcar); 2,4-D; Fipronil (Fip); parâmetros físico-químicos-biológicos agrupados em componentes principais (CP1, CP2, CP3 e CP4), interação entre tratamento e agrotóxicos (2,4-D e fipronil); interação entre tratamento e componentes principais (CP1, CP2, CP3 e CP4); Efeitos aleatórios: tempo e mesocosmo; (+): fator aplicado no modelo; NA: fator ausente no modelo; *: modelo final; Intercepto: tratamento pastagem extensiva. Hierarquia de remoção das variáveis: efeitos aleatórios, interações entre tratamento e variáveis, e variáveis principais. As variáveis foram removidas de acordo com a ordem estabelecida no Apêndice B4.....256

Apêndice B15 - Resultados do Modelo Linear Misto Generalizado para a taxa intrínseca de crescimento populacional (r) de *Ceriodaphnia silvestrii*. AIC: Critério de Informação de Akaike; $\Delta AICc$: diferença entre cada modelo e o modelo de melhor ajuste; df: graus de liberdade. *: modelo final.....257

Apêndice B16 - Representação dos resíduos gerados para o modelo m12 para a taxa intrínseca de crescimento populacional (r) de *Ceriodaphnia silvestrii*. A) Representação da probabilidade normal de resíduos; B) Gráfico de resíduos *versus* valores ajustados.257

Apêndice B17 - Resultados do modelo linear generalizado (GLM) entre as variáveis resposta da espécie *Eruca sativa* (germinação, comprimento da parte aérea e comprimento da raiz) e cada uma das variáveis explicativas para descobrir a ordem de entrada das variáveis nos modelos lineares generalizados mistos (GLMM) de acordo com a menor *deviance*.258

Apêndice B18 - Resultados dos modelos lineares generalizados mistos (GLMM) para a germinação da espécie <i>Eruca sativa</i> . Variáveis explicativas: tratamento (Tratamento - pastagem extensiva, pastagem intensiva e cana-de-açúcar); 2,4-D; Fipronil (Fip); parâmetros físico-químicos-biológicos agrupados em componentes principais (CP1, CP2, CP3 e CP4), interação entre tratamento e agrotóxicos (2,4-D e fipronil); interação entre tratamento e componentes principais (CP1, CP2, CP3 e CP4); Efeitos aleatórios: tempo e mesocosmo; (+): fator aplicado no modelo; NA: fator ausente no modelo; *: modelo final; Intercepto: tratamento pastagem extensiva. Hierarquia de remoção das variáveis: efeitos aleatórios, interações entre tratamento e variáveis, e variáveis principais. As variáveis foram removidas de acordo com a ordem estabelecida no Apêndice B17.....	259
Apêndice B19 - Resultados do Modelo Linear Misto Generalizado para a germinação de <i>Eruca sativa</i> . AIC: Critério de Informação de Akaike; $\Delta AICc$: diferença entre cada modelo e o modelo de melhor ajuste; df: graus de liberdade. *: modelo final	260
Apêndice B20 - Representação dos resíduos gerados para o modelo m9 para a germinação de <i>Eruca sativa</i> . A) Representação da probabilidade normal de resíduos; B) Gráfico de resíduos <i>versus</i> valores ajustados.	261
Apêndice B21 - Resultados dos modelos lineares generalizados mistos (GLMM) para o comprimento da parte aérea da espécie <i>Eruca sativa</i> . Variáveis explicativas: tratamento (Tratamento - pastagem extensiva, pastagem intensiva e cana-de-açúcar); 2,4-D; Fipronil (Fip); parâmetros físico-químicos-biológicos agrupados em componentes principais (CP1, CP2, CP3 e CP4), interação entre tratamento e agrotóxicos (2,4-D e fipronil); interação entre tratamento e componentes principais (CP1, CP2, CP3 e CP4); Efeitos aleatórios: tempo e mesocosmo; (+): fator aplicado no modelo; NA: fator ausente no modelo; *: modelo final; Intercepto: tratamento pastagem extensiva. Hierarquia de remoção das variáveis: efeitos aleatórios, interações entre tratamento e variáveis, e variáveis principais. As variáveis foram removidas de acordo com a ordem estabelecida no Apêndice B17.	262
Apêndice B22 - Resultados dos Modelos Lineares Mistos Generalizados para o comprimento da parte aérea de <i>Eruca sativa</i> . AIC: Critério de Informação de Akaike; $\Delta AICc$: diferença entre cada modelo e o modelo de melhor ajuste; df: graus de liberdade. *: modelo final.....	263

Apêndice B23 - Representação dos resíduos gerados para o modelo m14 para o comprimento da parte aérea de <i>Eruca sativa</i> . A) Representação da probabilidade normal de resíduos; B) Gráfico de resíduos versus valores ajustados.	263
Apêndice B24 - Resultados dos modelos lineares generalizados mistos (GLMM) para o comprimento da raiz da espécie <i>Eruca sativa</i> . Variáveis explicativas: tratamento (Tratamento - pastagem extensiva, pastagem intensiva e cana-de-açúcar); 2,4-D; Fipronil (Fip); parâmetros físico-químicos-biológicos agrupados em componentes principais (CP1, CP2, CP3 e CP4), interação entre tratamento e agrotóxicos (2,4-D e fipronil); interação entre tratamento e componentes principais (CP1, CP2, CP3 e CP4); Efeitos aleatórios: tempo e mesocosmo; (+): fator aplicado no modelo; NA: fator ausente no modelo; *: modelo final; Intercepto: tratamento pastagem extensiva. Hierarquia de remoção das variáveis: efeitos aleatórios, interações entre tratamento e variáveis, e variáveis principais. As variáveis foram removidas de acordo com a ordem estabelecida no Apêndice B17.	264
Apêndice B25 - Resultados do Modelos Lineares Mistos Generalizados para o comprimento da raiz de <i>Eruca sativa</i> . AIC: Critério de Informação de Akaike; Δ AICc: diferença entre cada modelo e o modelo de melhor ajuste; df: graus de liberdade. *: modelo final.....	265
Apêndice B26 - Representação dos resíduos gerados para o modelo m11 para o comprimento da raiz de <i>E. sativa</i> . A) Representação da probabilidade normal de resíduos; B) Gráfico de resíduos versus valores ajustados.	266
Apêndice B27 - Resultados do modelo linear generalizado (GLM) entre as variáveis resposta da espécie <i>Chironomus sancticaroli</i> (mortalidade, comprimento do corpo, biomassa fresca, biomassa seca livre de cinzas - BSLC, deformidades do mentum e larvas no quarto instar) e cada uma das variáveis explicativas para descobrir a ordem de entrada das variáveis nos modelos lineares generalizados mistos (GLMM) de acordo com a menor <i>deviance</i>	267
Apêndice B28 - Resultados dos modelos lineares generalizados mistos (GLMM) para a mortalidade da espécie <i>Chironomus sancticaroli</i> . Variáveis explicativas: tratamento (Trat - pastagem extensiva, pastagem intensiva e cana-de-açúcar); Fipronil (Fip); Fipronil sulfeto (F-ide); Fipronil sulfona (F-ona); interação entre tratamento e Fipronil (Fip*Trat); interação entre tratamento e Fipronil sulfeto (F-ide*Trat); interação entre tratamento e Fipronil sulfona (F-ona*Trat). Efeitos aleatórios: tempo e mesocosmo; (+): fator aplicado no modelo; NA: fator ausente no modelo; *: modelo final. Hierarquia de remoção das variáveis: efeitos aleatórios,	

interações entre tratamento e variáveis, e variáveis principais. As variáveis foram removidas dos modelos de acordo com a ordem estabelecida no Apêndice B27.....	268
Apêndice B29 - Resultados do Modelo Linear Misto Generalizado para a mortalidade de <i>Chironomus sancticaroli</i> . AIC: Critério de Informação de Akaike; Δ AICc: diferença entre cada modelo e o modelo de melhor ajuste; df: graus de liberdade. *: modelo final.....	268
Apêndice B30 - Representação dos resíduos gerados para o modelo m9 para mortalidade de <i>C. sancticaroli</i> . A) Representação da probabilidade normal de resíduos; B) Gráfico de resíduos versus valores ajustados.	269
Apêndice B31 - Resultados dos modelos lineares generalizados mistos (GLMM) para o comprimento do corpo da espécie <i>Chironomus sancticaroli</i> . Variáveis explicativas: tratamento (Trat - pastagem extensiva, pastagem intensiva e cana-de-açúcar); Fipronil (Fip); Fipronil sulfeto (F-ide); Fipronil sulfona (F-ona); interação entre tratamento e Fipronil (Fip*Trat); interação entre tratamento e Fipronil sulfeto (F-ide*Trat); interação entre tratamento e Fipronil sulfona (F-ona*Trat). Efeitos aleatórios: tempo e mesocosmo; (+): fator aplicado no modelo; NA: fator ausente no modelo; *: modelo final. Hierarquia de remoção das variáveis: efeitos aleatórios, interações entre tratamento e variáveis, e variáveis principais. As variáveis foram removidas dos modelos de acordo com a ordem estabelecida no Apêndice B27.....	270
Apêndice B32 - Resultados do Modelo Linear Misto Generalizado para o comprimento do corpo de <i>Chironomus sancticaroli</i> . AIC: Critério de Informação de Akaike; Δ AICc: diferença entre cada modelo e o modelo de melhor ajuste; df: graus de liberdade.	270
Apêndice B33 - Representação dos resíduos gerados para o modelo m9 usando GLMM para o comprimento do corpo de <i>C. sancticaroli</i> . A) Representação da probabilidade normal de resíduos; B) Gráfico de resíduos versus valores ajustados.....	271
Apêndice B34 - Resultados dos modelos lineares generalizados mistos (GLMM) para a biomassa fresca da espécie <i>Chironomus sancticaroli</i> . Variáveis explicativas: tratamento (Trat - pastagem extensiva, pastagem intensiva e cana-de-açúcar); Fipronil (Fip); Fipronil sulfeto (F-ide); Fipronil sulfona (F-ona); interação entre tratamento e Fipronil (Fip*Trat); interação entre tratamento e Fipronil sulfeto (F-ide*Trat); interação entre tratamento e Fipronil sulfona (F-ona*Trat). Efeitos aleatórios: tempo e mesocosmo; (+): fator aplicado no modelo; NA: fator ausente no modelo; *: modelo final. Hierarquia de remoção das variáveis: efeitos aleatórios, interações entre tratamento	

e variáveis, e variáveis principais. As variáveis foram removidas dos modelos de acordo com a ordem estabelecida no Apêndice B27.	272
Apêndice B35 - Resultados do Modelo Linear Misto Generalizado para a biomassa fresca de <i>Chironomus sancticaroli</i> . AIC: Critério de Informação de Akaike; Δ AICc: diferença entre cada modelo e o modelo de melhor ajuste; df: graus de liberdade. *: modelo final.	272
Apêndice B36 - Representação dos resíduos gerados para o modelo m9 para a biomassa fresca de <i>C. sancticaroli</i> . A) Representação da probabilidade normal de resíduos; B) Gráfico de resíduos versus valores ajustados.	273
Apêndice B37 - Resultados dos modelos lineares generalizados mistos (GLMM) para a biomassa seca livre de cinzas (BSLC) da espécie <i>Chironomus sancticaroli</i> . Variáveis explicativas: tratamento (Trat - pastagem extensiva, pastagem intensiva e cana-de-açúcar); Fipronil (Fip); Fipronil sulfeto (F-ide); Fipronil sulfona (F-ona); interação entre tratamento e Fipronil (Fip*Trat); interação entre tratamento e Fipronil sulfeto (F-ide*Trat); interação entre tratamento e Fipronil sulfona (F-ona*Trat). Efeitos aleatórios: tempo e mesocosmo; (+): fator aplicado no modelo; NA: fator ausente no modelo; *: modelo final. Hierarquia de remoção das variáveis: efeitos aleatórios, interações entre tratamento e variáveis, e variáveis principais. As variáveis foram removidas dos modelos de acordo com a ordem estabelecida no Apêndice B27.	274
Apêndice B38 - Resultados do Modelo Linear Misto Generalizado para a biomassa seca livre de cinzas (BSLC) de <i>Chironomus sancticaroli</i> . AIC: Critério de Informação de Akaike; Δ AICc: diferença entre cada modelo e o modelo de melhor ajuste; df: graus de liberdade. *: modelo final.	274
Apêndice B39 - Representação dos resíduos gerados para o modelo m9 para a biomassa seca livre de cinzas (BSLC) de <i>Chironomus sancticaroli</i> . A) Representação da probabilidade normal de resíduos; B) Gráfico de resíduos versus valores ajustados.	275
Apêndice B40 - Resultados dos modelos lineares generalizados mistos (GLMM) para as deformidades do mentum (%) da espécie <i>Chironomus sancticaroli</i> . Variáveis explicativas: tratamento (Trat - pastagem extensiva, pastagem intensiva e cana-de-açúcar); Fipronil (Fip); Fipronil sulfeto (F-ide); Fipronil sulfona (F-ona); interação entre tratamento e Fipronil (Fip*Trat); interação entre tratamento e Fipronil sulfeto (F-ide*Trat); interação entre tratamento e Fipronil sulfona (F-ona*Trat). Efeitos aleatórios: tempo e mesocosmo; (+): fator aplicado no modelo; NA: fator ausente no modelo; *: modelo final. Hierarquia de remoção das variáveis:	

efeitos aleatórios, interações entre tratamento e variáveis, e variáveis principais. As variáveis foram removidas dos modelos de acordo com a ordem estabelecida no Apêndice B27.	276
Apêndice B41 - Resultados do Modelo Linear Misto Generalizado para deformidades do mentum de <i>Chironomus sancticaroli</i> . AIC: Critério de Informação de Akaike; Δ AICc: diferença entre cada modelo e o modelo de melhor ajuste; df: graus de liberdade.	276
Apêndice B42 - Representação dos resíduos gerados para o modelo m9 para deformidades do mentum de <i>C. sancticaroli</i> . A) Representação da probabilidade normal de resíduos; B) Gráfico de resíduos <i>versus</i> valores ajustados.	277
Apêndice B43 - Resultados dos modelos lineares generalizados mistos (GLMM) para larvas no quarto instar (%) da espécie <i>Chironomus sancticaroli</i> . Variáveis explicativas: tratamento (Trat - pastagem extensiva, pastagem intensiva e cana-de-açúcar); Fipronil (Fip); Fipronil sulfeto (F-ide); Fipronil sulfona (F-ona); interação entre tratamento e Fipronil (Fip*Trat); interação entre tratamento e Fipronil sulfeto (F-ide*Trat); interação entre tratamento e Fipronil sulfona (F-ona*Trat). Efeitos aleatórios: tempo e mesocosmo; (+): fator aplicado no modelo; NA: fator ausente no modelo; *: modelo final. Hierarquia de remoção das variáveis: efeitos aleatórios, interações entre tratamento e variáveis, e variáveis principais. As variáveis foram removidas dos modelos de acordo com a ordem estabelecida no Apêndice B27.	278
Apêndice B44 - Resultados do Modelo Linear Misto Generalizado para larvas no quarto instar de <i>Chironomus sancticaroli</i> . AIC: Critério de Informação de Akaike; Δ AICc: diferença entre cada modelo e o modelo de melhor ajuste; df: graus de liberdade. *: modelo final.	278
Apêndice B45 - Representação dos resíduos gerados para o modelo m9 para larvas no quarto instar de <i>C. sancticaroli</i> . A) Representação da probabilidade normal de resíduos; B) Gráfico de resíduos <i>versus</i> valores ajustados.	279

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ABNT	Associação Brasileira de Normas Técnicas
ARE	Avaliação de risco ecológico
APTA	Agência Paulista de Tecnologia dos Agronegócios
Anvisa	Agência Nacional de Vigilância Sanitária
BSLC	Biomassa seca livre de cinzas
C	Tratamento de cana-de-açúcar
CL ₅₀	Concentração que causa mortalidade em 50% dos organismos-teste
CONAB	Companhia Nacional de Abastecimento
CONAMA	Conselho Nacional do Meio Ambiente
CETESB	Companhia Ambiental do Estado de São Paulo
CRHEA	Centro de Recursos Hídricos e Estudos Ambientais
DBO	Demanda Bioquímica de Oxigênio
EC ₅₀	Concentração efetiva que provoca efeito adverso em 50% dos organismos-teste
EESC	Escola de Engenharia de São Carlos
FAPESP	Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo
GABA	Ácido gama-aminobutírico
IC ₅₀	Concentração média de inibição da reprodução dos organismos-teste
IET	Índice do Estado Trófico
IBAMA	Instituto Brasileiro do Meio Ambiente e dos Recursos Naturais Renováveis
LE	Linha de evidência
LD	Limite de detecção
LQ	Limite de quantificação
NBR	Norma Brasileira
NEEA	Núcleo de Ecotoxicologia e Ecologia Aplicada
NT	Nitrogênio total
NO ₂ ⁻	Nitrito
NO ₃ ⁻	Nitrato
NH ₄ ⁺	Íon amônio
OD	Oxigênio dissolvido

CPA	Análise de Componentes Principais
CP1	Primeira componente principal
CP2	Segunda componente principal
CP3	Terceira componente principal
CP4	Quarta componente principal
PE	Tratamento de pasto extensivo
pH	Potencial hidrogeniônico
PI	Tratamento de pasto intensivo
PI	Fosfato inorgânico
PT	Fósforo total
PTD	Fósforo total dissolvido
SiO ₂	Silicato
US-EPA	United State Environmental Protection Agency
2,4-D	Ácido diclorofenoxiacético

SUMÁRIO

APRESENTAÇÃO DA TESE.....	47
---------------------------	----

Capítulo 1

1 INTRODUÇÃO E JUSTIFICATIVA	49
2 REVISÃO DA LITERATURA.....	51
2.1 Contaminantes na era do Antropoceno: o protagonismo dos agroquímicos	52
2.2 Monoculturas e agroquímicos: uma relação insustentável	54
2.3 Intensificação do uso da terra: pastagens e cana-de-açúcar.....	56
2.4 Destino ambiental dos agrotóxicos.....	58
2.5 Ecotoxicologia como ferramenta de monitoramento ambiental	60
2.6 Modelos ecossistêmicos como unidade experimental	61
2.7 Ácido diclorofenoxiacético: 2,4-D	63
2.8 Fipronil	66
2.9 Vinhaça da cana-de-açúcar	68
2.10 Misturas de agrotóxicos	70
2.11 Avaliação de risco ecológico e serviços ecossistêmicos	71
3 HIPÓTESES.....	76
4 OBJETIVOS	77
5 ÁREA DE ESTUDO E DESENHO EXPERIMENTAL.....	78
5.1 Área de estudo.....	78
5.2 Desenho experimental	79
5.2.1 Construção dos mesocosmos	80
5.3 Manejo do solo.....	83
5.3.1 Estabelecimento da primeira safra de cana-de-açúcar.....	83

5.3.2	Rebrota da cana-de-açúcar	84
	REFERÊNCIAS.....	88

Capítulo 2

1	INTRODUÇÃO.....	109
2	MATERIAL E MÉTODOS	111
2.1	Área experimental e manejo do solo	111
2.2	Amostragem e análises químicas	112
2.3	Índice de estado trófico.....	113
2.4	Análises estatísticas	114
3	RESULTADOS	116
3.1	Parâmetros in-situ.....	116
3.2	Nutrientes.....	123
3.2.1	Índice de estado trófico.....	129
3.3	Metais	130
4	DISCUSSÃO.....	136
4.1	Parâmetros in-situ.....	136
4.2	Nutrientes.....	139
4.3	Metais	143
5	CONCLUSÕES.....	146
	REFERÊNCIAS.....	146

Capítulo 3

1	INTRODUÇÃO.....	163
2	MATERIAL E MÉTODOS	166
2.1	Área experimental e manejo do solo	166
2.2	Testes de toxicidade	166

2.2.1	<i>Ceriodaphnia silvestrii</i>	167
2.2.2	<i>Chironomus sancticaroli</i>	168
2.2.3	<i>Eruca sativa</i>	170
3.1	Amostragem e análises químicas	170
4.1	Análises estatísticas	172
3	RESULTADOS	174
3.1	<i>Ceriodaphnia silvestrii</i>	175
3.2	<i>Eruca sativa</i>	180
3.3	<i>Chironomus sancticaroli</i>	183
4	DISCUSSÃO.....	186
5	CONCLUSÕES.....	191
	REFERÊNCIAS.....	191

Capítulo 4

1	INTRODUÇÃO.....	206
2	MATERIAL E MÉTODOS	208
2.1	Área de estudo e uso do solo.....	208
2.2	Avaliação de risco ecológico	208
2.3	Cadeias lógicas e serviços ecossistêmicos.....	211
3	RESULTADOS	213
3.1	Avaliação de risco ecológico	213
3.2	Cadeias lógicas e serviços ecossistêmicos.....	215
4	DISCUSSÃO.....	219
5	CONCLUSÕES.....	223
	REFERÊNCIAS.....	224

Capítulo 5

1	CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	231
---	---------------------------	-----

2 SUGESTÕES PARA TRABALHOS FUTUROS	232
REFERÊNCIAS.....	233
APÊNDICE A.....	235
APÊNDICE B.....	246

APRESENTAÇÃO DA TESE

A presente tese de doutorado foi elaborada de forma a atender as normas estabelecidas para apresentação das dissertações e teses da Escola de Engenharia de São Carlos, Universidade de São Paulo. Esta pesquisa está vinculada ao projeto temático FAPESP “*Environmental effects of the pasture-sugarcane conversion and pasture intensification*” (Processo FAPESP nº 2015/18790-3). Para melhor compreensão e organização, esta tese foi estruturada em capítulos, apresentados a seguir.

CAPÍTULO 1 – *Aspectos gerais*: Neste capítulo, estão descritos os tópicos comuns a todos os capítulos desta tese – **a)** Introdução e justificativa; **b)** Revisão da literatura; **c)** Hipóteses; **d)** Objetivos; e **e)** Caracterização da área de estudo.

CAPÍTULO 2 – *Efeitos do manejo do solo em pastagens extensivas, pastagens intensivas e cultivos de cana-de-açúcar sobre a disponibilidade de metais e nutrientes em água doce: uma abordagem realística em mesocosmos*: Neste capítulo, estão descritos os resultados obtidos na caracterização dos parâmetros físico-químicos-biológicos dos mesocosmos. Os resultados deste capítulo foram publicados na revista *Agriculture, Ecosystems and Environment*. (<https://doi.org/10.1016/j.agee.2023.108473>).

CAPÍTULO 3 – *Efeitos da intensificação de pastagens e do cultivo de cana-de-açúcar em espécies não-alvo: uma avaliação realística em mesocosmos contaminados por agrotóxicos*: Neste capítulo, estão descritos os resultados obtidos nos testes ecotoxicológicos para as três espécies-testes avaliadas – *Eruca sativa*, *Ceriodaphnia silvestrii* e *Chironomus sancti-caroli*.

CAPÍTULO 4 – *Avaliação de risco ecológico para o diagnóstico de impactos ambientais oriundos de pastagens extensivas, pastagens intensivas e plantações de cana-de-açúcar: uma perspectiva sobre a perda de serviços ecossistêmicos*: Neste capítulo, estão descritos os resultados obtidos na etapa de Avaliação de Risco Ecológico e perda de serviços ecossistêmicos.

CAPÍTULO 5 – *Considerações finais e sugestões para trabalhos futuros*: Neste capítulo, estão enumeradas as principais conclusões da pesquisa e as sugestões para trabalhos futuros.

Na Figura 1, apresenta-se um fluxograma simplificado dos capítulos da tese.

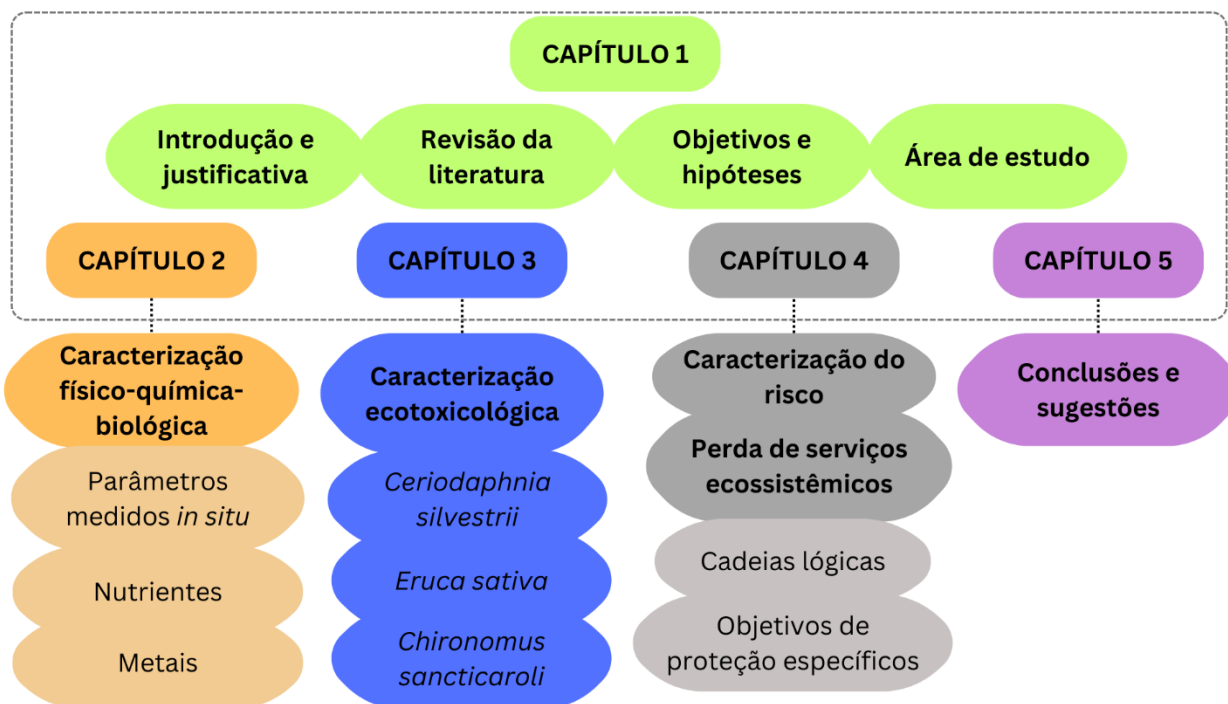


Figura 1 - Esquema simplificado da estrutura da tese

CAPÍTULO 1 – ASPECTOS GERAIS

1 INTRODUÇÃO E JUSTIFICATIVA

A mudança no uso da terra pode ser considerada o elo mais forte entre a sociedade humana e a natureza (Dong et al., 2021). Ao cultivar intensivamente a terra em prol do desenvolvimento socioeconômico, os humanos vêm alterando os ciclos biogeoquímicos e causando impactos negativos na estrutura e no funcionamento dos ecossistemas e, conseqüentemente, no bem-estar humano (Wei et al., 2017). A crescente demanda por commodities agrícolas e por biocombustíveis frente a uma população global em constante crescimento levou à transformação generalizada dos ecossistemas naturais (O'connell et al., 2018) e alterou o uso da terra, antes predominantemente selvagem, para antropogênico nos últimos 300 anos (Ellis et al., 2010).

A partir da década de 60, a agricultura se tornou mais eficiente em produção de commodities devido aos avanços tecnológicos adotados durante a revolução verde, como o uso de fertilizantes e agrotóxicos em larga escala, o melhoramento genético de sementes e o uso de máquinas no campo (Moseley; Colledge; Paul, 2015). As técnicas modernas de cultivo foram aplicadas majoritariamente com o objetivo de aumentar a produtividade em sistemas de monocultura, modo de produção largamente difundido atualmente (Tarigan, 2019). Os sistemas de monocultura estão relacionados a uma simplificação da paisagem, mudanças nas interações bióticas, manejo intensivo (Suarez; Gwozdz, 2023) e diminuição da biodiversidade (Dolezal et al., 2019).

No Brasil, a monocultura de cana-de-açúcar se destaca como um dos principais usos do solo do país, com uma área de cultivo que atinge 8,4 mil hectares e produção de 637,1 milhões de toneladas de cana-de-açúcar (CONAB, 2023), responsáveis por 28% da produção mundial de etanol (Bordonal et al., 2018). A região sudeste do país concentra 63,5% da safra nacional, e mais de 50% da produção de cana-de-açúcar estão nas lavouras do estado de São Paulo (CONAB, 2023). Em São Paulo, a maior expansão dos canaviais ocorreu sobre áreas de pastagem extensiva, decorrentes de abandono ou degradação devido ao manejo inadequado (Dias-Filho, 2014), predominantemente no Oeste e Noroeste do estado, com redução de 53,5% das áreas de pastagem e aumento de 143,8% das áreas de cultivo de cana entre os anos de 1999 e

2019 (Ogura et al., 2022c). Este processo acarreta ainda na intensificação das pastagens remanescentes que também preveem manejo do solo e utilização de agroquímicos para aumento da produtividade (Macdonald et al., 2017).

Neste contexto, observa-se também a onipresença inevitável de agroquímicos em diferentes matrizes ambientais, como solo, ar e água (Tang et al., 2021), bem como nos alimentos (Jardim; Andrade; Queiroz, 2009). Estima-se que apenas uma pequena quantidade dos agrotóxicos aplicados às culturas em todo o mundo atinja seus alvos específicos, deixando grandes quantidades de resíduos tóxicos livres para se deslocarem entre os diferentes compartimentos ambientais (Vryzas, 2018). O Brasil é considerado o maior mercado mundial de agrotóxicos desde 2008 (Rigotto; Vasconcelos; Rocha, 2014) e, dentre os ingredientes ativos mais utilizados na cultura da cana-de-açúcar, estão o herbicida ácido diclorofenólico (2,4-D) e o inseticida fipronil (inseticida) (IBAMA, 2020; CETESB, 2010). Além da aplicação desses agrotóxicos, no estado de São Paulo, a cultura da cana-de-açúcar é fertirrigada com vinhaça, principal subproduto da produção de etanol (Fuess; Garcia, 2014).

Nos ecossistemas aquáticos, os organismos são frequentemente expostos a misturas de contaminantes químicos no ambiente (*cocktail effect*), de modo que a ação conjunta de diferentes moléculas com diferentes modos de ação pode causar um número potencialmente ilimitado de efeitos aditivos, sinérgicos ou antagônicos (Panizzi; Suciú; Trevisan, 2017), associados não somente com a mistura dos contaminantes, mas também com fatores do ambiente. Essas misturas de contaminantes podem alterar diferentes níveis de organização biológica, implicando em perdas de espécies e, conseqüentemente, dos serviços ecossistêmicos prestados por elas (Malaj et al., 2014).

Os efeitos de agentes químicos e físicos sobre a estrutura, função e biodiversidade dos ecossistemas podem ser acessados por meio da ecotoxicologia. O conceito de Ecotoxicologia surgiu na década de 1970, sendo difundido como “a ciência que relaciona os efeitos tóxicos das substâncias químicas e dos agentes físicos sobre os organismos vivos, especialmente em populações e comunidades dentro de um ecossistema definido” (Truhaut, 1977). A abordagem ecotoxicológica, por meio dos testes de toxicidade, utiliza organismos bioindicadores, os quais apresentam alguma alteração – fisiológica, morfológica ou comportamental – frente à exposição a determinados contaminantes (Magalhães; Ferrão Filho, 2008).

O monitoramento ecotoxicológico pode ser realizado em um espectro de maior relevância ecológica a partir do uso de modelos ecossistêmicos (micro e mesocosmos) como unidade experimental. Os “cosmos” permitem a inclusão de múltiplos componentes ecológicos dentro da avaliação ecotoxicológica com o objetivo de simular os processos ecológicos tais como ou muito próximos de como eles ocorrem na natureza, podendo também incluir a influência das condições climáticas e da sazonalidade (Solomon; Hanson, 2014). Nesta abordagem, os efeitos ecológicos são analisados em escalas espaciais maiores e em sistemas de integração, o que permite inferir com maior exatidão e relevância ecológica os efeitos das substâncias no ambiente, auxiliar na Avaliação de Risco Ecológico (ARE) e classificar a perda de serviços ecossistêmicos.

Dado este contexto, a presente pesquisa se justifica dentro de dois cenários: **a)** O uso intensivo da utilização de agrotóxicos no cultivo de cana-de-açúcar; e **b)** Necessidade de utilização de estudos realizados em modelos ecossistêmicos (mesocosmos) dentro da ARE no Brasil. Portanto, esta pesquisa pretende investigar e caracterizar o risco associado às práticas de manejo do solo em áreas de pastagens extensivas (PE), pastagens intensivas (PI) e cana-de-açúcar (C) a partir de estudo desenvolvido em mesocosmos aquáticos inseridos dentro dessas matrizes de uso do solo. A essência do presente trabalho é o fechamento do ciclo de pesquisas de uma das esferas do projeto temático “*Environmental effects of the pasture-sugarcane conversion and pasture intensification*” (Processo FAPESP nº 2015/18790-3). Este tipo de pesquisa é essencial para uma avaliação realística de como o manejo do solo dessas áreas pode afetar os ecossistemas aquáticos.

2 REVISÃO DA LITERATURA

O presente tópico descreve as informações consultadas na literatura de referência consideradas pertinentes à contextualização, hipóteses e objetivos da pesquisa. Os temas julgados relevantes servirão como base para comparação e discussão dos resultados e elaboração das conclusões da pesquisa.

2.1 Contaminantes na era do Antropoceno: o protagonismo dos agroquímicos

Os cientistas da Terra vêm alertando sobre o surgimento de uma nova era geológica, o Antropoceno, marcada por mudanças rápidas e de grande escala nos sistemas ecológicos, em nível global, e que são induzidas pelo homem (Dellasala et al., 2017; Mineau, 2017). A "Grande Aceleração", que teve seu início por volta da década de 1950, com uma explosão das atividades humanas e sua clara influência sobre a estrutura e funcionamento do Sistema Terrestre, tem sido proposta como a data mais apropriada que marca o início do Antropoceno (Steffen et al., 2015). Geologicamente, o Antropoceno se dá a partir da deposição de marcadores da atividade humana nos estratos geológicos, como novos materiais, elementos radioativos, material particulado oriundo da queima de combustíveis fósseis e níveis de carbono e nitrogênio alterados (Hancock, 2020).

O Antropoceno tem sido sinônimo de um mundo baseado em substâncias químicas sintéticas, com fabricação e introdução comercial desses produtos em todas as esferas das atividades humanas (Mineau, 2017). Em 2015, a Sociedade Americana de Química anunciou o alcance de 100 milhões de registros do Serviço de Resumo Químico (CAS, sigla em inglês), sendo esta a melhor estimativa do número de substâncias químicas identificadas no mundo (Mineau, 2017). A taxa de descoberta dos produtos químicos está crescendo exponencialmente: estima-se que três quartos desses 100 milhões de substâncias químicas foram listadas na última década (Mineau, 2017).

Dada a descoberta e a introdução de milhões de produtos químicos sintéticos no mercado nas últimas décadas, não é surpresa salientar que muitas dessas substâncias venham a ser consideradas contaminantes ambientais. Não é um consenso entre os cientistas qual contaminante melhor caracteriza o Antropoceno, mas é indiscutível que os agroquímicos figuram entre os protagonistas desta era. A utilização de agroquímicos no mundo pode ser dividida em dois períodos distintos: o primeiro, anterior à segunda guerra mundial; e o segundo, pós-guerra. Foi durante a segunda grande guerra que se descobriu as propriedades inseticidas do DDT, o primeiro organossintético, e, a partir disso, mudanças bruscas na metodologia do controle de pragas foram estabelecidas (Paschoal, 2019). No Brasil, foi no ano de 1943 que o Instituto Biológico de São Paulo recebeu as primeiras amostras de DDT, dando início a era dos

organossintéticos no país, até então produzidos em baixa escala (Jardim; Andrade; Queiroz, 2009).

A partir da década de 60, dez anos depois do que se considera o início da era do Antropoceno, deu-se início a chamada Revolução Verde. Este termo foi cunhado pelo administrador de Desenvolvimento Internacional da Agência dos Estados Unidos, William Gaud, e abrange fundamentos que alteraram profundamente a composição das culturas e os processos de produção até então em vigor (Phillips; Paul, 2014). Com base essencialmente econômica e imediatista, a modernização dos processos produtivos foi estimulada por um “pacote tecnológico” que incluía: a mecanização da produção agrícola, a modificação genética de sementes e o uso intensivo de fertilizantes e agrotóxicos (Phillips; Paul, 2014).

Entre as décadas de 50 e 70, o Brasil se solidificou como um mercado consumidor de agrotóxicos. Ao adotar o “pacote tecnológico” estabelecido pela Revolução Verde, o Estado se manteve na posição de facilitar o acesso à modernização agrícola, por meio de isenções fiscais e linhas de crédito rural que incentivassem a compra de máquinas, de sementes melhoradas e de agrotóxicos e fertilizantes, facilitando sua ampla adoção no meio rural (Alves; Contini; Gasques, 2007). A partir disso, o uso de agrotóxicos passou a constituir uma das características do padrão tecnológico da produção agrícola, até os dias atuais. A partir dos anos 2000, o Brasil se destacou com a maior taxa de crescimento de importações mundiais de agrotóxicos, sendo responsável por, aproximadamente, 20% de todo agrotóxico comercializado no mundo (Pelaez, 2015).

Nos últimos cinco anos, a quantidade de registros de agrotóxicos aprovados no país aumentou significativamente (Figura 2). Muitos desses produtos já são proibidos em outros países e/ou possuem limites permitidos inseguros. Aproximadamente um terço dos agrotóxicos proibidos na Europa continuam com uso permitido no Brasil (Bombardi, 2017). Além disso, a aprovação do novo marco regulatório para a classificação do risco dos agrotóxicos pela Agência Nacional de Vigilância Sanitária (Anvisa) sugere um cenário perigoso, uma vez que camufla o real perigo que os agrotóxicos oferecem à sociedade (Brochardt, 2020).

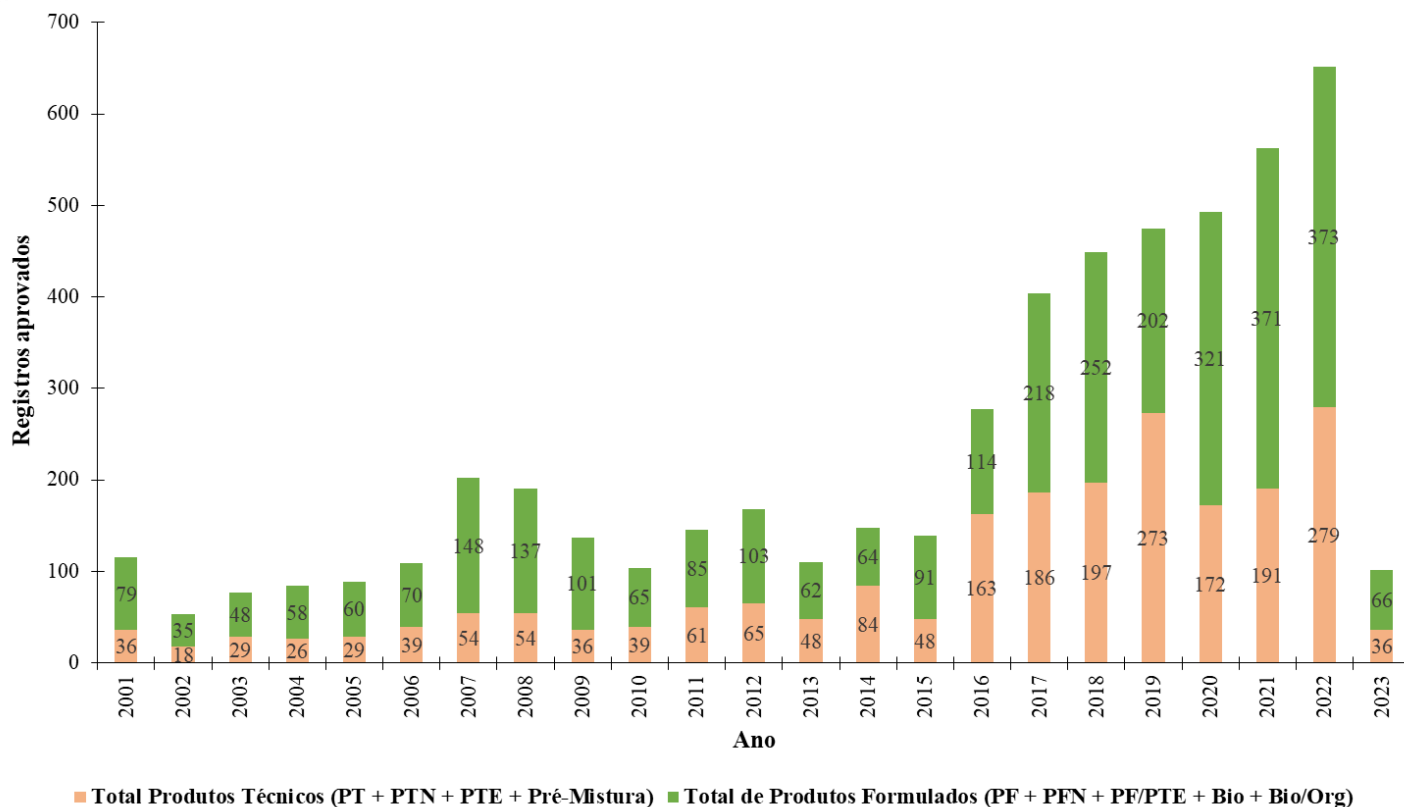


Figura 2 – Evolução histórica do registro de agrotóxicos no Brasil (2001 a junho/2023)

Nota: **PT** (Produto Técnico); **PTN** (Produto Técnico a Base de Ingrediente Ativo Novo); **PTE** (Produto Técnico Equivalente); **Pré-mistura** (Produto pré-mistura); **PF** (Produto Formulado); **PFN** (Produto Formulado a Base de Ingrediente Ativo Novo); **PF/PTE** (Produto Formulado a Base de Produto Técnico Equivalente); **Bio** (Produto Formulado Biológico de Baixo Risco); **Bio/Org** (Produto Formulado Biológico para Agricultura Orgânica).

Fonte: Brasil (2023)

2.2 Monoculturas e agroquímicos: uma relação insustentável

Para aumentar a eficiência no campo e atender a uma demanda crescente de commodities alimentares e biocombustíveis, as monoculturas se consolidaram como principal forma de produção agrícola (Suarez; Gwozdz, 2023). Dessa forma, extensas áreas naturais e empreendimentos agrícolas de menor escala vem sendo transformados em monoculturas de alto rendimento, mas com custos ambientais elevados, tornando essa forma de produção uma das principais ameaças à proteção e à preservação da biodiversidade em todo o mundo (Flynn et al.,

2009). Neste contexto, os ecossistemas dos países do sul global, caracterizados por apresentar elevada biodiversidade, vêm sendo constantemente ameaçados e pressionados devido à crescente demanda de produção agrícola e commodities do norte global (Potapov et al., 2022).

As monoculturas podem ter efeitos ambientais negativos substanciais na qualidade do solo, da água e do ar, e quando combinado com a remoção de plantas nativas não agrícolas, esta forma de produção agrícola está associada a declínios de diversas espécies (Goulson et al., 2015). Ao substituir florestas para implantação de monoculturas, o homem transforma sistemas naturais complexos, multiestruturados, diversificados e estáveis em sistemas artificiais simplificados e instáveis, levando o processo de sucessão ecológica aos estágios iniciais e substituindo espécies estáveis por espécies oportunistas (Dolezal et al., 2019) (Figura 3).

A redução da diversidade nos sistemas agrícolas favorece a reprodução e a sobrevivência de espécies herbívoras com ausência de competidores e inimigos naturais, conduzindo estas espécies, antes inofensivas, à categoria de pragas (Paschoal, 2019). Uma vez estabelecidas, as pragas são eliminadas a partir da aplicação de agrotóxicos, que reduzem ainda mais a complexidade e a estabilidade dos sistemas causada pela morte dos inimigos naturais e propiciam novos surgimentos de pragas, com maior intensidade. Esse ciclo evidencia a máxima da agricultura convencional: a produtividade em detrimento da sustentabilidade.

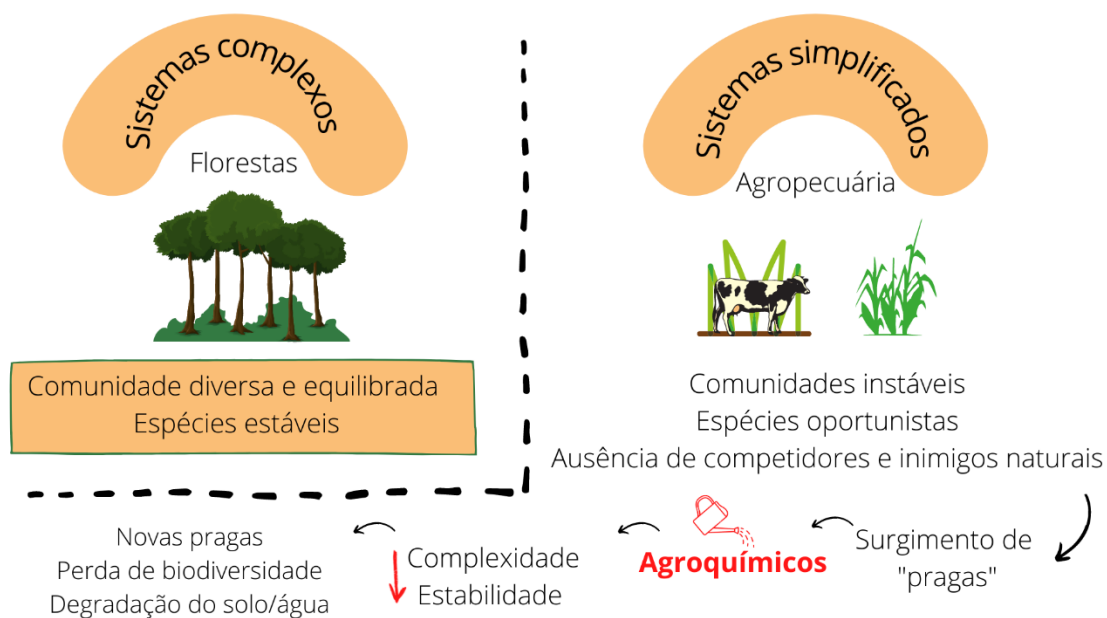


Figura 3 – Características de sistemas complexos (florestas) x sistemas simplificados (monoculturas)

Fonte: Autoria própria (2023)

2.3 Intensificação do uso da terra: pastagens e cana-de-açúcar

No Brasil, duas matrizes de uso do solo são reconhecidas como umas das principais bases econômicas do país: as áreas de pastagens de gado e o cultivo de cana-de-açúcar. De acordo com o Censo Agropecuário Brasileiro, a área total coberta com pastagens (naturais e plantadas) no Brasil é de, aproximadamente, 160 milhões de hectares, cerca de 2,6 vezes maior que a área dedicada ao cultivo em terras aráveis (62 milhões de hectares) (Mapbiomas, 2021; IBGE, 2017).

Nesta área, o país abriga o segundo maior rebanho bovino comercial do mundo, com aproximadamente 200 milhões de cabeça, sendo o maior exportador mundial de carne bovina (Cardoso, 2016). No Brasil, as pastagens são cultivadas com gramíneas exóticas tropicais do gênero *Brachiaria* spp. (Gracindo et al., 2014) e, devido às poucas práticas de conservação do solo e ao pastoreio excessivo, encontram-se em sua maioria em processo de degradação (De Oliveira Silva et al., 2017; Dias-Filho, 2014).

O Brasil é também o maior produtor mundial de etanol e açúcar, produzidos a partir da cana-de-açúcar (OECD-FAO, 2018), com produção estimada para a safra de 2023/24 de 637,1 milhões de toneladas de cana, 38,77 milhões de toneladas de açúcar e 27,53 bilhões de litros de etanol, em uma área de 8410,3 mil hectares (CONAB, 2023). Esta produção é concentrada na região Sudeste, que é responsável por aproximadamente 60% da produção do país, sendo o estado de São Paulo o maior produtor nacional, com mais de 50% da produção brasileira (CONAB, 2023).

Nos últimos anos, devido à crescente demanda por biocombustíveis, extensas áreas de pastagens degradadas estão sendo convertidas em lavouras de cana-de-açúcar com o objetivo de minimizar a supressão de vegetação nativa, uma das premissas de sustentabilidade da produção de etanol (Bento et al., 2018; Martinelli; Filoso, 2008). De acordo com Filoso et al. (2015), aproximadamente 90% da expansão da cultura da cana-de-açúcar ocorrerá em direção às áreas degradadas.

Se por um lado a expansão de lavouras de cana-de-açúcar sob áreas de pastagens degradadas é vista positivamente por reduzir o desmatamento de novas áreas, por outro lado, a perda de áreas de pastagens deve ser contrabalanceada pelo aumento de sua produtividade. Neste contexto, incentivos direcionados à intensificação de pastagens no Brasil surgiram nas últimas décadas, como um dos objetivos do Plano de Agricultura de Baixo Carbono (Plano ABC), promulgado no plano de Ações de Mitigação Nacionalmente Apropriadas (NAMAs) (Godde et al., 2018).

A transição de um sistema de produção animal em pastagens extensivas para pastagens intensificadas implica no aumento do número de animais por hectare (Macdonald et al., 2017). No entanto, para atingir uma taxa de lotação mais alta, diversas práticas devem ser implementadas no gerenciamento do pasto, como o uso de alimentação suplementar, produção de maior quantidade de forragem, reformas no solo e utilização de fertilizantes e agrotóxicos (Macdonald et al., 2017).

Tanto a intensificação de pastagens quanto o plantio de cana-de-açúcar podem acarretar impactos ambientais negativos, como a degradação do solo, perda de biodiversidade, utilização não sustentável de água para irrigação, aumento das emissões de GEE e lixiviação de agroquímicos aos ecossistemas aquáticos (Frimpong et al., 2018). Neste cenário, tem-se como principais impulsionadores do aumento da produtividade em pastagens intensivas e cana-de-

açúcar o uso de fertilizantes químicos (NPK), de agrotóxicos (especialmente o herbicida 2.4-D e o inseticida fipronil), e, ainda, o uso de fertilizantes orgânicos, como a vinhaça da cana-de-açúcar. Estes motivos tornam necessária e urgente a avaliação e o monitoramento dos efeitos de diferentes contaminantes sobre os ecossistemas, especialmente os aquáticos, que são, na maioria das vezes, o destino dessas substâncias.

2.4 Destino ambiental dos agrotóxicos

O uso generalizado de agrotóxicos na agricultura moderna aumenta o risco de transporte dessas substâncias para os corpos d'água (Abdi et al., 2021). Os agrotóxicos podem atingir os corpos d'água superficiais e subterrâneos a partir de fontes de poluição difusa e pontual. A contaminação difusa por agrotóxicos é responsável pela detecção generalizada de baixas concentrações desses contaminantes, enquanto fontes pontuais resultam na detecção de concentrações mais altas (Vryzas, 2018). Ao atingir as águas superficiais, o comportamento dos agrotóxicos depende de processos de retenção (sorção, absorção), transformação (hidrólise, fotólise, complexação e biodegradação), transporte (deriva, volatilização, lixiviação e escoamento superficial) e acumulação ao longo da cadeia trófica (Spadotto, 2006).

Além desses processos e da interação entre eles, as propriedades físico-químicas dos agrotóxicos são consideradas parâmetros-chave para avaliar o destino e o comportamento dessas substâncias no meio aquático (Von Mérey et al., 2016). Estas propriedades incluem os coeficientes de partição ambiental, como o coeficiente de partição octanol-água (K_{ow}) e o coeficiente de partição do solo-carbono orgânico (K_{oc}), bem como a pressão de vapor, a solubilidade e o tempo de detenção (DT_{50}), expresso como a quantidade de tempo que leva para 50% do composto original se dissipar por transformação no solo, água ou ar (Von Mérey et al., 2016).

Agrotóxicos altamente solúveis tendem a se dissolver e se mover na água, enquanto agrotóxicos com altos coeficientes de sorção são mais propensos a se mover em uma fase particulada ou suspensa (Abdi et al., 2021). Os processos de sorção dependem das propriedades dos agrotóxicos composto e da composição orgânica/inorgânica do solo (Yen; Lin; Wang, 2000). O destino dessas substâncias tem influência, ainda, da quantidade e da frequência de aplicação, métodos de aplicação, características bióticas e abióticas do ambiente, tipo de solo, topografia,

características hidrogeológicas e condições meteorológicas (SPADOTTO, 2006). A Figura 4 resume o destino dos agrotóxicos no meio ambiente.

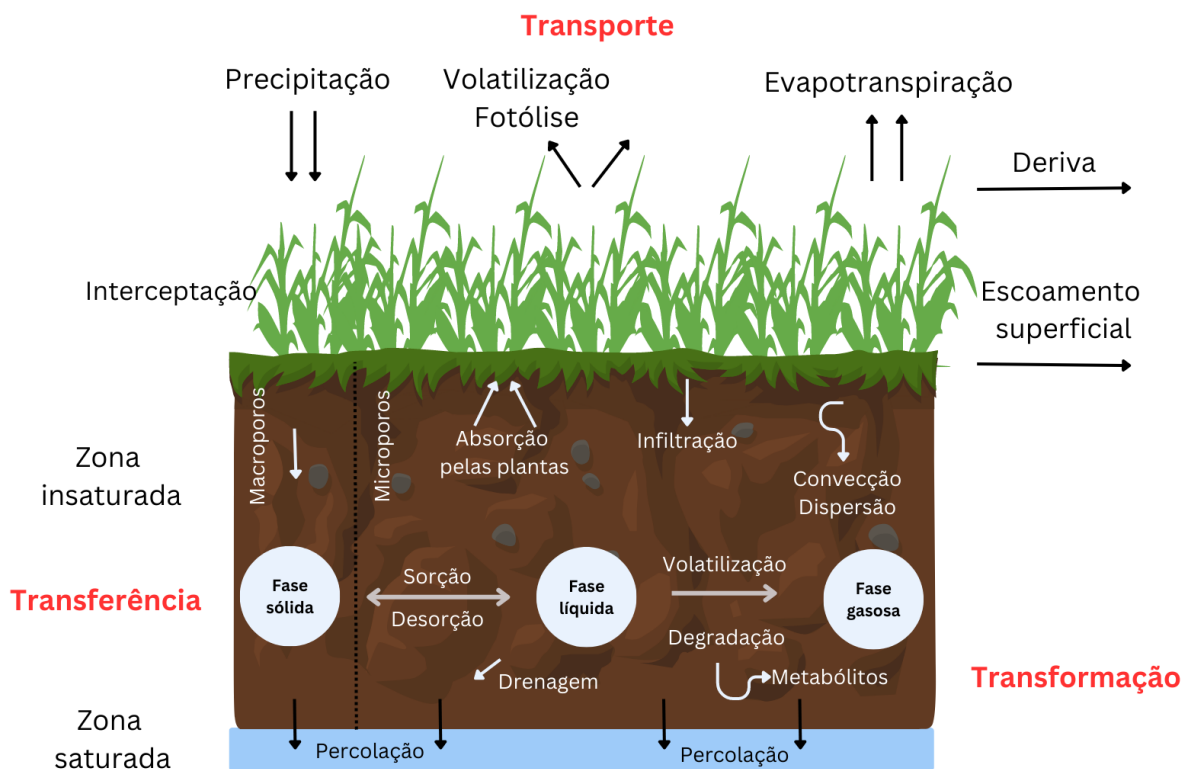


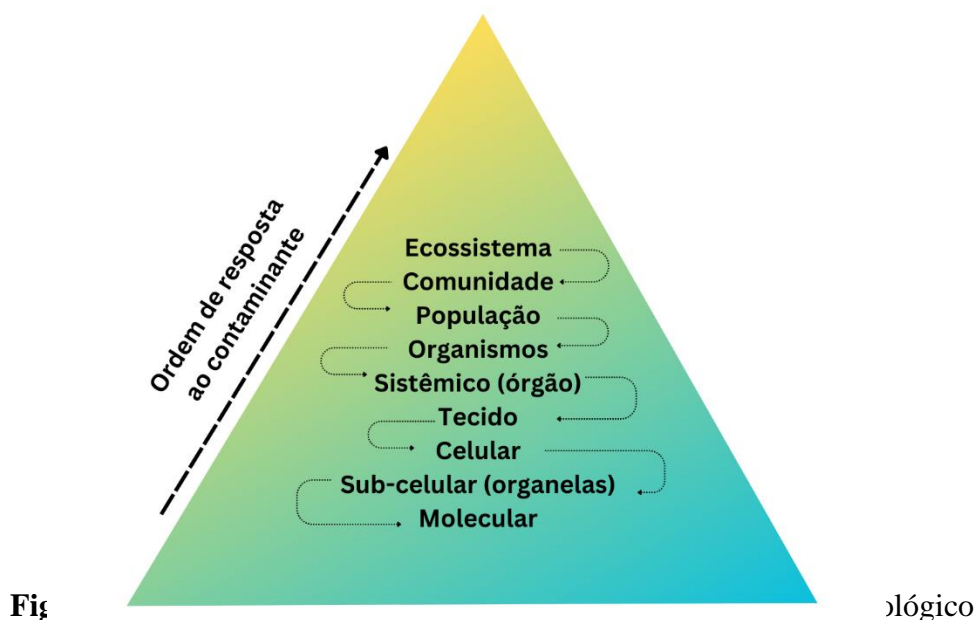
Figura 4 - Destino dos agrotóxicos no meio ambiente

Fonte: Adaptado de Rico-Martínez (2022)

Uma vez na coluna d'água, a concentração dos agrotóxicos varia temporalmente de acordo com o fluxo da água, com as interações entre o ambiente e outros contaminantes e com as interferências antrópicas (Abdi et al., 2021). No sedimento, a concentração dos agrotóxicos pode ser superior à da água dependendo das propriedades físico-químicas da substância e decai lentamente ao longo do tempo (Gama, 2018). Adicionalmente, os agrotóxicos podem conter outros elementos poluidores em sua composição além do princípio ativo, como metais pesados, surfactantes e emulsificantes (Arias et al., 2007).

A biota dos ecossistemas aquáticos responde aos fatores de perturbação e são indicadoras da biodisponibilidade dos contaminantes (Magalhães; Ferrão Filho, 2008). Essas respostas são maiores nos níveis mais baixos de organização biológica, pois ocorrem mais rapidamente e por

estarem diretamente ligadas à exposição (Arias et al., 2007). Quanto maior a toxicidade e o tempo de exposição à essas substâncias, maiores as chances de os efeitos serem observados nos níveis superiores de organização biológica (Arias et al., 2007), conforme a Figura 5.



Fonte: Adaptado de Arias et al. (2007)

2.5 Ecotoxicologia como ferramenta de monitoramento ambiental

A ecotoxicologia é uma ferramenta importante no auxílio da previsão dos efeitos tóxicos dos agrotóxicos no meio ambiente. Rachel Carson, em seu livro “Primavera Silenciosa” (1962), marcou a separação da toxicologia ambiental da toxicologia clássica. O livro alertou, a nível mundial, sobre os perigos da persistência e da toxicidade dos agrotóxicos no meio ambiente. O elemento revolucionário no trabalho desta autora foi sua extrapolação dos efeitos tóxicos observados em um único organismo para efeitos observados em todo o ecossistema e no equilíbrio da natureza. A publicação de “Primavera Silenciosa” marcou o surgimento do movimento ambientalista e influenciou a criação da Agência de Proteção Ambiental (EPA, sigla em inglês) dos Estados Unidos. Mais tarde, em 1964, Robert Rudd, em seu livro “*Pesticides and the living landscape*”, alertou sobre o desenvolvimento de resistência das “pragas” aos agrotóxicos, a eliminação de espécies não-alvo, a biomagnificação e os perigos à saúde humana.

Na década de 70, o conceito de ecotoxicologia se consolidou a partir da fusão de dois campos da ciência: a Toxicologia e a Ecologia. Desde então, a ecotoxicologia vem sendo difundida como “a ciência que relaciona os efeitos tóxicos das substâncias químicas e dos agentes físicos sobre os organismos vivos em diferentes escalas, que vão desde a biomolécula, célula, órgão, sistema, organismo, população, comunidade, ecossistema e níveis da biosfera (Truhaut, 1977). A ecotoxicologia se dedica ao estudo, exclusivamente, dos efeitos de agentes físicos e químicos sobre diferentes níveis de organização biológica, que vão desde indivíduos até ecossistemas. A ecotoxicologia compreende o estudo de uma sequência de etapas, denominada cadeia de causalidade (Figura 6).

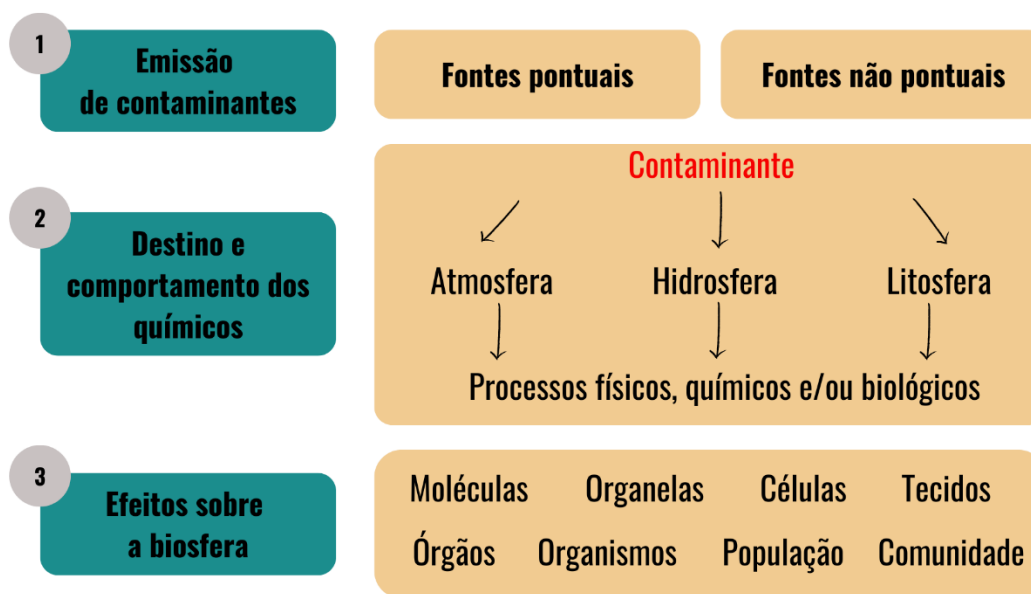


Figura 6 - Cadeia da causalidade na ecotoxicologia

Fonte: Adaptado de Costa et al. (2008)

2.6 Modelos ecossistêmicos como unidade experimental

O monitoramento ecotoxicológico compreende bioensaios que podem ser realizados em condições mais controladas, em laboratório, ou em condições de semi-campo e campo, em que se pode avaliar os efeitos de outras variáveis além do contaminante principal. Os bioensaios realizados em laboratório são amplamente utilizados e relativamente fáceis de padronizar, em

que é possível analisar efeitos agudos, como a imobilidade e mortalidade dos organismos; e crônicos, como crescimento, desenvolvimento e reprodução dos organismos, bem como respostas fisiológicas e comportamentais (Magalhães; Ferrão Filho, 2008).

Apesar de serem cruciais na avaliação da toxicidade dos contaminantes e facilmente replicáveis, os testes de toxicidade em laboratório são limitados quanto à sua representatividade ecológica (Van Den Brink *et al.*, 2005). Essa limitação advém principalmente do fato de os organismos-teste serem expostos aos contaminantes na ausência de outros fatores de estresse, os quais estão comumente presentes nos ecossistemas naturais. Em ambientes naturais, por exemplo, os aspectos bióticos (presença de outras comunidades biológicas e suas interações) e os aspectos abióticos (temperatura, pH, turbidez, oxigênio dissolvido, nutrientes e presença de outras contaminantes) são fundamentais e influenciam, substancialmente, as respostas dos organismos, e o comportamento, biodisponibilidade e distribuição dos contaminantes no meio (Daam; Van Den Brink; Nogueira, 2008).

A utilização de microcosmos ou mesocosmos pode preencher essa lacuna de conhecimento, gerando resultados mais realistas. De acordo com Odum (1983), os mesocosmos são unidades de tamanho médio, situadas entre os microcosmos de laboratório e os macrocosmos do mundo real. Nesses sistemas, é possível analisar respostas estruturais, funcionais e comportamentais da comunidade, a fim de conhecer o efeito de um contaminante em condições mais próximas ao do ambiente natural (Van Den Brink *et al.*, 2005). Os estudos em mesocosmos podem ser projetados para aproximar regimes realistas de exposição aos contaminantes com seus padrões de destino, pois há possibilidade de incorporar fatores importantes na determinação da exposição, como o particionamento, a degradação e a dissipação dos contaminantes, bem como a presença de sedimentos, animais e plantas (Solomon; Hanson, 2014). Esses fatores raramente são contabilizados em estudos de toxicidade de laboratório, mas podem influenciar a magnitude da resposta ecológica ao agente estressor (Solomon; Hanson, 2014). A Figura 7 aponta de forma resumida as diferentes escalas dos estudos em ecotoxicologia.

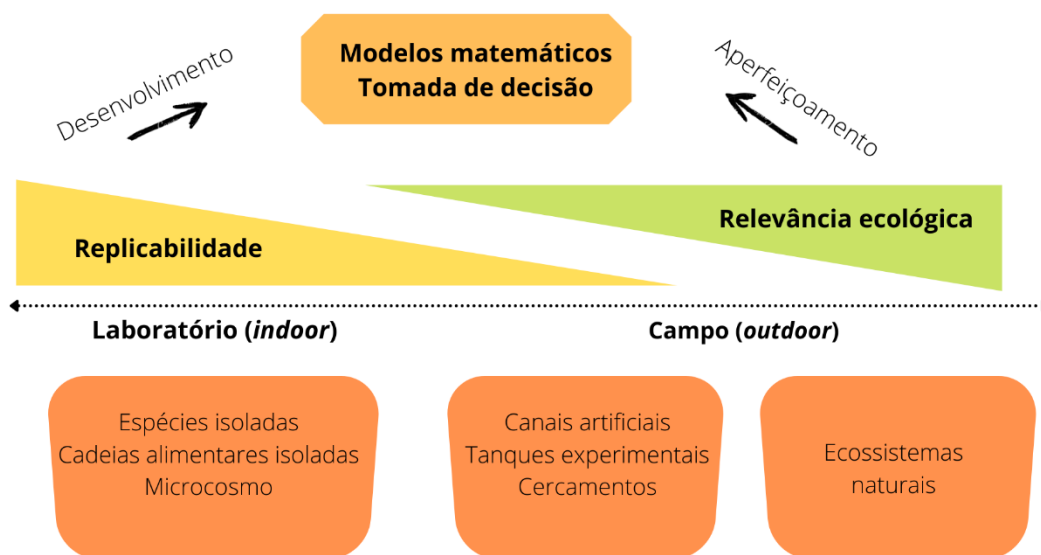


Figura 7 - Abordagem ecotoxicológica e suas escalas

Fonte: Adaptado de Caquet et al. (2000)

2.7 Ácido diclorofenoxiacético: 2,4-D

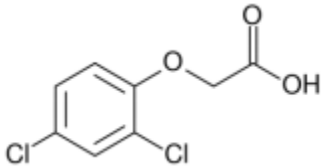
O herbicida 2,4-D (CAS 94-75-7) foi sintetizado durante a Segunda Guerra Mundial e introduzido no mercado na década de 1940 (Islam et al., 2018). Historicamente, o composto Agente Laranja, amplamente utilizado pelos Estados Unidos na Guerra do Vietnã, tinha cerca de 50% de 2,4-D (Benli et al., 2007). Este agrotóxico é um herbicida sistêmico pré/pós-emergente que pertence a uma classe de herbicidas conhecidos como ácidos fenoxiacéticos e é amplamente utilizado para controle de ervas daninhas de folhas largas e outros tipos de vegetações em pastagens, gramados, jardins, campos de golfe, florestas, estradas, parques e plantas aquáticas invasivas (Aquino et al., 2007; Charles et al., 1999).

Este herbicida apresenta mecanismo de ação sistêmica, pois penetra nas folhas, em seus vasos condutores e se espalha pelas plantas para promover crescimento excessivo e desordenado, o que, por sua vez, leva ao atrofiamento de folhas e caules e, conseqüentemente, à morte da planta (Benli et al., 2007). Devido à sua eficiência, baixo custo, seletividade e amplo espectro no controle de pragas, tornou-se um herbicida amplamente utilizado em áreas agrícolas e urbanas do mundo (Dehnert et al., 2018). Atualmente, é o terceiro herbicida mais utilizado em escala

mundial, ficando atrás apenas do glifosato e inibidores da síntese de acetolactato (Todd et al., 2020).

No meio ambiente, a degradação do 2,4-D ocorre, principalmente, via oxidação, redução, fotólise e hidrólise, resultando na formação de diversos produtos de transformação, como o 1,2,4-benzenetriol, 4-clorofenol e 2,4-diclorofenol (Montgomery, 2007). Na maioria das condições ambientais, o 2,4-D se torna um composto aniônico, o que aumenta sua dispersão devido à maior mobilidade no solo e na água (USEPA, 2004). De acordo com Islam et al. (2018), o 2,4-D é altamente solúvel e persistente, encontrado em águas superficiais em concentrações ambientais entre 4 e 24 $\mu\text{g L}^{-1}$, enquanto em campos agrícolas sua concentração pode chegar a 4000 $\mu\text{g L}^{-1}$ dependendo do regime de aplicação na lavoura (Atamaniuk et al., 2013). Estima-se que cerca de 91,7% de 2,4-D irá eventualmente acabar na água (Mountassif et al., 2008). O tempo de meia-vida estimado para o 2,4-D em estudo realizado em mesocosmos e em condições tropicais foi de 9,4 dias (Goulart, 2023). As principais propriedades físico-químicas do 2,4-D estão descritas na Tabela 1.

Tabela 1 – Propriedades físico-químicas do 2,4-D

Estrutura molecular	Parâmetro	Unidade	Valor
	Pv	mPa	0,009
	S	mg L ⁻¹	24300
	log K _{ow}	-	-0,82
	K _H	Pa m ³ mol ⁻¹	4,0 x 10 ⁻⁶
	K _{oc}	mL g ⁻¹	31 – 275
	DT50 (solo)	Dias (d)	7d – 28d
	DT50 (água)	Horas (h) a Dias (d)	10h – 50d

Nota: S = solubilidade a 25°C e pH neutro; Pv = pressão de vapor; K_{ow} = coeficiente de partição octanol-água; K_H = constante de Henry; K_{oc} = constante de sorção; DT₅₀ = tempo de dissipação.

Fonte: PPDB (2021b)

Embora o 2,4-D venha sendo amplamente utilizado em todo o mundo, muitos estudos têm demonstrado que este herbicida induz alterações em organismos não-alvo, como efeitos citotóxicos, genotóxicos e mutagênicos em plantas, bem como alterações histológicas, fisiológicas e comportamentais em animais (Marcato; Souza; Fontanetti, 2017). Além disso, este composto também é relatado como desregulador endócrino, afetando processos de

desenvolvimento animal mesmo em baixas concentrações (Pattanasupong et al., 2004). Em artigo de revisão, Da Silva et al. (2022) observaram um aumento significativo na taxa de mortalidade registrada para animais expostos a concentrações ambientais de 2,4-D, indicando que peixes e aves apresentaram maiores taxas de mortalidade após a exposição.

Estudos recentes têm demonstrado alterações em níveis letais e subletais em organismos não alvo pertencentes a diferentes níveis de organização biológica; entre elas, destaca-se a inibição de crescimento e biomassa nas macrófitas aquáticas *Eichhornia crassipes*, *Glyceria maxima*, *Landoltia punctata*, *Myriophyllum aquaticum*, *Myriophyllum spicatum* (Yoshii, 2022); a inibição de crescimento na espécie vegetal *E. sativa* (Freitas et al., 2022; Ogura et al., 2022b); a diminuição da reprodução do cladóceros *C. silvestrii* (Silva et al., 2021, 2020); a redução da reprodução e alterações no comportamento do anfípodo *Hyalella meinerti* (Pinto et al., 2021a, 2022); alterações no ciclo de vida no díptero *C. sancticaroli* (Pinto et al., 2021c); danos morfológicos no copépodo *Notodiptomus iheringi* (Lopes et al., 2023); alteração nas respostas antioxidantes, de biotransformação, e do conteúdo lipídico, bem como indução de neurotoxicidade nos girinos *Leptodactylus fuscus* e *Lithobates catesbeianus* (Freitas et al., 2022); e alterações na distribuição espacial (evitação) do peixe *Danio rerio* (Moreira et al., 2022).

Os valores de toxicidade do 2,4-D calculados para organismos aquáticos testados no âmbito do projeto temático desta pesquisa estão descritos na Tabela 2.

Tabela 2 – Valores de toxicidade calculados para o 2,4-D

Teste	Organismo-teste	Concentração (mg L⁻¹)	Referência
CL _{50-48h}	<i>Notodiptomus iheringi</i>	478.24	(Lopes et al., 2023)
CE _{50-48h} (imobilidade)	<i>Ceriodaphnia silvestrii</i>	169	(Silva, 2022)
CE _{50-48h} (reprodução)	<i>Ceriodaphnia silvestrii</i>	55	(Silva, 2022)
CL _{50-96h}	<i>Danio rerio</i>	483	(Silva, 2022)

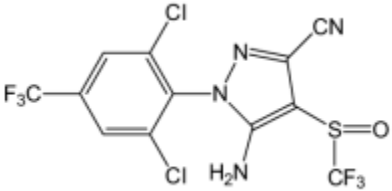
2.8 Fipronil

O fipronil (CAS 120068-37-3) é um inseticida sistêmico, pertencente ao grupo químico fenilpirazol (Gunasekara et al., 2007). Comparado com o 2,4 D, esta molécula é relativamente nova, sintetizada pela primeira vez em 1987 pela Rhône Poulenc Ag Company (hoje, Bayer CropScience) e introduzida no mercado em 1993 (Tingle et al., 2003). O fipronil controla um amplo espectro de insetos com baixas taxas de aplicação no campo e seu principal modo de ação é a interrupção do receptor do ácido gama aminobutírico (GABA) nos neurônios do sistema nervoso central de insetos, causando hiperexcitação, convulsão, paralisia e mortalidade dos organismos (Das et al., 2006; Ozoe et al., 2015). É considerado um inseticida de “nova geração” porque seu modo de ação difere dos inseticidas clássicos, como organofosforados e carbamatos, aos quais alguns insetos desenvolveram resistência (Gunasekara et al., 2007).

No ambiente, este composto pode ser degradado sob diversos mecanismos, sendo os principais a redução, a oxidação, a hidrólise e a fotólise, formando os metabólitos fipronil sulfeto, fipronil sulfona, fipronil amida e fipronil desulfenil, respectivamente (Singh et al., 2021), sendo este último mais tóxico que o composto original (Ramasubramanian; Paramasivam, 2017). O fipronil e seus metabólitos adsorvem fortemente às partículas do solo, sendo altamente persistente neste compartimento (Raveton et al., 2007), com meia-vida variando de 122 a 128 dias em condições de laboratório e de 3 a 7,3 meses em condições de campo (Bonmatin et al., 2015).

Na água, o fipronil desulfenil é o principal metabólito de degradação do fipronil quando há presença de luz solar, com concentrações baixas de fipronil sulfona, fipronil sulfeto e fipronil amida (Gunasekara et al., 2007). O fipronil é muito estável em água com pH ácido ou neutro, com meia-vida de aproximadamente 1390 dias (Singh et al., 2021). Em estudo realizado em mesocosmos em condições tropicais, o tempo de meia vida estimado para o fipronil foi de 35 dias (Goulart, 2023). As principais propriedades físico-químicas do fipronil estão descritas na Tabela 33.

Tabela 3 – Propriedades físico-químicas do fipronil

Estrutura molecular	Parâmetro	Unidade	Valor
	Pv	mPa	0,002
	S	mg L ⁻¹	3,78
	log K _{ow}	-	3,75
	K _H	Pa m ³ mol ⁻¹	2,3 x 10 ⁻⁴
	K _{oc}	mL g ⁻¹	427 – 1248
	DT ₅₀ (solo)	Dias (d)	30 – 128d
	DT ₅₀ (água)	Horas (h) a Dias (d)	9h – 220d

Nota: S = solubilidade a 25°C; Pv = pressão de vapor; K_{ow} = coeficiente de partição octanol-água; K_H = constante de Henry; K_{oc} = constante de sorção; DT₅₀ = tempo de dissipação.

Fonte: PPDB (2021a)

Com uma meia-vida tão variável (Tabela 3), o fipronil é um dos inseticidas mais persistentes e tóxicos registrados para uso desde a proibição da maioria dos inseticidas organoclorados (Tingle et al., 2003). De acordo com Gunasekara et al. (2007), o fipronil causa efeitos tóxicos agudos em invertebrados aquáticos e peixes, enquanto são tão tóxicos quanto o composto original, e, por isso, a contaminação do meio aquático por fipronil deve ser considerada preocupante.

Pesquisas recentes indicaram que o fipronil tem alta toxicidade para organismos aquáticos, apresentando efeitos na densidade celular e na taxa de crescimento específico da alga *Raphidocelis subcapitata* (Moreira et al., 2020); aumento de deformidades na espécie *C. sancticaroli* (Pinto et al., 2021c); efeitos agudos no anfípodo *H. meinerti* (Pinto et al., 2021a), no copépode *N. iheringi* (Lopes et al., 2023) e no cladóceros *C. silvestrii* (Silva et al., 2021); efeitos negativos nos parâmetros de sobrevivência, comprimento do corpo materno e fecundidade do cladóceros *D. magna* (Moreira et al., 2023); e bioacumulação na bactéria *Escherichia coli* (Bhatti et al., 2019) e no peixe *Oncorhynchus mykiss* (Konwick et al., 2006).

Os valores de toxicidade do fipronil calculados para organismos aquáticos testados no âmbito do projeto temático desta pesquisa estão descritos na Tabela 4.

Tabela 4 – Valores de toxicidade calculados para o fipronil

Teste	Organismo-teste	Concentração ($\mu\text{g L}^{-1}$)	Referência
CL _{50-48h}	<i>Notodiaptomus iheringi</i>	4.97	(Lopes et al., 2023)
CE ₅₀	<i>Chironomus sancticaroli</i>	3.70	(Pinto et al., 2021c)
CE _{50-48h} (imobilidade)	<i>Ceriodaphnia silvestrii</i>	3,9	(Silva, 2022)
CE ₅₀ (reprodução)	<i>Ceriodaphnia silvestrii</i>	1,6	(Silva, 2022)
CL _{50-96h}	<i>Danio rerio</i>	172	(Silva, 2022)

2.9 Vinhaça da cana-de-açúcar

A vinhaça (ou vinhoto) é um composto químico líquido oriundo do processo industrial que transforma o caldo da cana-de-açúcar em etanol. Durante a etapa de destilação, o etanol é obtido como produto e a vinhaça é removida como produto de fundo em altas temperaturas (90 – 100 °C), na proporção de 10 – 15 L para cada litro de etanol produzido (Moraes; Zaiat; Bonomi, 2015). Este efluente é caracterizado por uma suspensão aquosa ácida com odor desagradável e cor marrom escura causada pela presença de melanoidinas (Silva et al., 2023). Este composto apresenta elevada carga orgânica, de nutrientes, principalmente nitrogênio, potássio e fósforo, e altas concentrações de sulfato devido à adição de ácido sulfúrico nas cubas de fermentação (Hoarau et al., 2018).

A partir da análise da composição da vinhaça, fica claro que a disposição desta água residuária no solo e nos corpos hídricos sem tratamento pode causar inúmeros problemas, como emissão de gases de efeito estufa (Nakashima; Oliveira Junior, 2020), aumento da condutividade elétrica do solo, contaminação de águas superficiais e subterrâneas, eutrofização e presença de agentes corrosivos na matéria orgânica (Parsae et al., 2019). No entanto, a partir da década de 1970, a vinhaça passou a ser destinada para fins de fertirrigação da cultura da cana-de-açúcar no Brasil.

Em curto prazo, a fertirrigação com vinhaça apresenta diversos benefícios, como a redução do montante de água fresca e adubos minerais utilizados. No entanto, em longo prazo, a aplicação de vinhaça em terras agrícolas pode constituir um problema, uma vez que este composto pode comprometer química e ecologicamente a qualidade do solo, dos corpos d'água e

da água subterrânea (Fuess; Garcia, 2014). Apesar do gerenciamento da vinhaça ter melhorado nas três últimas décadas, as políticas e regulamentos consideram somente o teor de potássio como determinante para a aplicação de vinhaça no solo (CETESB, 2015), desprezando os outros contaminantes presentes nesta água residuária (Moraes; Zaiat; Bonomi, 2015).

Nos últimos anos, alguns estudos vêm alertando sobre a toxicidade da vinhaça em diferentes espécies, como inibição no crescimento da bactéria *Vibrio fischeri* (Rodrigues et al., 2017); efeitos letais nos cladóceros *C. silvestrii* (Silva et al., 2021), *Daphnia similis* (Campos et al., 2014), *Ceriodaphnia dubia* e *D. magna* (Botelho et al., 2012); diminuição da reprodução do anfípodo *H. meinerti* (Pinto et al., 2021b); efeitos na sobrevivência das larvas de *C. sancticaroli* (Pinto et al., 2023); alterações significativas na integridade citoplasmática, desorganização tecidual no fígado (Marinho et al., 2014) e alterações histopatológicas (Coelho et al., 2018) no peixe *Oreochromis niloticus*; e aumento das taxas de mortalidade no peixe *D. rerio* (Botelho et al., 2012).

Alguns valores de toxicidade para vinhaça sobre vários organismos aquáticos estão descritos apresentado na Tabela 5.

Tabela 5 - Concentrações (volume/volume) de vinhaça da cana-de-açúcar bruta que causaram efeitos tóxicos sobre organismos aquáticos

Composto	Organismo-teste	Concentração (Volume/Volume)	Referência
	<i>Daphnia similis</i>	2,26%	(Campos et al., 2014)
	<i>Daphnia magna</i>	0,80%	(Botelho et al., 2012)
	<i>Ceriodaphnia dubia</i>	0,67%	(Botelho et al., 2012)
	<i>Ceriodaphnia silvestrii</i>	1.30%	(Silva et al., 2021)
	<i>Hyaella meinerti</i>	1.30%	(Pinto et al., 2021b)
Vinhaça bruta	<i>Chironomus sancticaroli</i>	1.30%	(Pinto et al., 2023)
	<i>Oreochromis niloticus</i>	2,5%	(Coelho et al., 2018)
	<i>Oreochromis niloticus</i>	2,50% e 5,00%	(Marinho et al., 2014)
	<i>Leptodactylus fuscus</i>		
	<i>Lithobates catesbeianus</i>	1,30%	(Freitas et al., 2022)
	<i>Danio rerio</i>	2.62%	(Botelho et al., 2012)

De acordo com Lourencetti; De Marchi e Ribeiro (2012), a vinhaça da cana-de-açúcar pode influenciar na persistência, sorção e potencial de lixiviação dos agrotóxicos. Neste estudo, foi avaliada a influência da presença de vinhaça no comportamento de três agrotóxicos (diuron, hexazinona e tebuthiuron), em solos arenosos e argilosos de uma área tropical do Brasil. O tratamento da vinhaça da cana-de-açúcar influenciou a persistência e sorção dos herbicidas nos solos, principalmente na forma de maior degradação do diuron. A classificação do potencial de lixiviação (GUS) para o diuron mudou de transitória para não lixiviada no solo argiloso tratado com vinhaça de cana-de-açúcar. Os resultados deste estudo ressaltam que, além dos efeitos tóxicos da vinhaça a organismos não-alvo, este resíduo pode estar associado também à capacidade de retenção dos agroquímicos no solo e ao potencial de contaminação de águas subterrâneas.

2.10 Misturas de agrotóxicos

Muitos estudos têm demonstrado o potencial impacto ambiental de agrotóxicos individuais e isolados; no entanto, eles geralmente são encontrados como uma mistura nos ecossistemas aquáticos (Brovini et al., 2023). Por exemplo, 22 agrotóxicos foram encontrados em diferentes amostras de águas superficiais do Brasil (Brovini et al., 2023; Caldas et al., 2019), 12 em água superficiais de um rio na Argentina (Loughlin; Peluso; Marino, 2022) e 25 em córregos do meio-oeste dos Estados Unidos (Nowell et al., 2018). Os agrotóxicos interagem entre si e podem produzir diferentes tipos de efeitos, como aditivos, antagônicos e sinérgicos, que depende do princípio ativo, das concentrações e condições ambientais (Hernández; Gil; Lacasaña, 2017).

Pesquisas recentes avaliaram a mistura entre os agrotóxicos 2,4-D e fipronil, demonstrando efeitos fisiológicos, morfológicos, bioquímicos e alterações na atividade fotossintética da alga *Raphidocelis subcapitata* (Moreira et al., 2020); efeitos antagônicos em baixas doses e sinérgicos em altas doses na imobilidade do cladóceros *C. silvestrii* (Silva et al., 2020); evitação do cladóceros *D. magna* a ambientes com mistura dos agrotóxicos, podendo causar extinção local da população (Moreira et al., 2023); diminuição das taxas de amplexo e reprodução, apontando sinergismo para a mistura dos agrotóxicos no anfípodo *H. meinerti* (Pinto et al., 2021a); aumento de deformidades na espécie *C. sancticaroli* (Pinto et al., 2021c); e

alterações no conteúdo lipídico dos girinos *Leptodactylus fuscus* e *Lithobates catesbeianus* (Freitas et al., 2022);

O aumento da produção e variedade de produtos químicos sintéticos nas últimas quatro décadas, incluindo agrotóxicos, somadas a outras formas de ameaças globais, como poluição por nutrientes, gases de efeito estufa e perda de biodiversidade torna imprescindível que avaliações de risco ambiental considerem misturas de contaminantes (Brovini et al., 2023). Este pode ser um passo importante para uma melhor compreensão do impacto dos agrotóxicos no meio ambiente, demonstrando a necessidade de um melhor manejo do uso de agrotóxicos no Brasil e no mundo.

2.11 Avaliação de risco ecológico e serviços ecossistêmicos

Nas últimas décadas, os estudos em ecotoxicologia também têm sido direcionados dentro de uma nova abordagem conceitual denominada Avaliação do Risco Ecológico (ARE). Dentro desta perspectiva, são avaliados não somente efeitos expositivos a um determinado contaminante, mas também a caracterização efetiva do risco ecológico, por meio do cálculo da probabilidade de ocorrência de efeitos adversos dentro de um dado sistema (Daam et al., 2019). As informações obtidas na ARE são, portanto, capazes de produzir informações robustas no conhecimento de padrões ecológicos em áreas sob influência antrópica (Beyer et al., 2014), podendo subsidiar os órgãos de fiscalização e de controle ambiental na tomada de decisão.

Apesar da utilização crescente de agroquímicos em países tropicais como o Brasil, os esforços para o desenvolvimento de pesquisas e legislação específica para a avaliação do risco ecológico desses contaminantes ainda é incipiente (Daam et al., 2019). Em contrapartida, nas organizações ambientais da América do Norte, Europa e outros países, como Japão e Austrália, a ARE é uma etapa essencial para o registro de novos agrotóxicos. Nestes países, existe uma estrutura legal bem estabelecida para utilização da ARE devido aos diversos estudos na área desenvolvidos ao longo dos anos. Entretanto, a maioria desses estudos concentram-se em ambientes de clima temperado (Daam et al., 2019).

A ARE teve suas primeiras diretrizes publicadas em 1992, pela Agência de Proteção Ambiental dos Estados Unidos (USEPA), definindo-a como a estimativa da probabilidade de ocorrência de um efeito adverso esperado decorrente da exposição ambiental a um ou mais fatores de estresse. No entanto, somente em 1998, no documento "*Guidelines for Ecological Risk*

Assessment” são apresentadas todas as etapas consideradas essenciais para a realização da ARE e todos os produtos obtidos em cada uma delas (Figura 8). No contexto brasileiro, o Centro de Tecnologia Mineral (CETEM) publicou, em 2011, um documento que caracteriza a ARE e apresenta diferentes métodos para a sua implementação, seguindo as recomendações da USEPA. Apesar da elaboração deste documento, a ARE não é regulamentada por nenhuma norma específica no Brasil e geralmente são seguidas as diretrizes publicadas pela USEPA.



Figura 8 - Etapas da Avaliação de Risco Ecológico de agrotóxicos

Fonte: Adaptado de USEPA (1998)

Geralmente, as avaliações de risco ecológico de agrotóxicos são realizadas em nível de indivíduos, por meio de quocientes de risco ou taxas de exposição à toxicidade (Forbes; Calow; Sibly, 2008). No entanto, na maioria dos casos, a meta de proteção é a população e o ecossistema, não o indivíduo (Streiss, 2010). Logo, abordagens que permitem extrapolações em nível de ecossistema, como a utilização de modelos ecológicos, são urgentemente necessárias. Neste sentido, a análise da tríade, proposta inicialmente por Long e Chapman (1985) para avaliar a qualidade de sedimentos contaminados, pode ser uma alternativa. Em uma análise aprofundada

da ARE a partir da tríade, Jensen e Mesman (2006) definem-na como um processo de coleta, organização e análise de dados ambientais que tem como objetivo estimar o risco de contaminação dos ecossistemas, levando em consideração diversas variáveis (Jensen; Mesman, 2006).

As avaliações de risco baseadas na tríade consistem na análise de três linhas de evidência, sendo elas: 1) Linha de evidência química (caracterização química dos contaminantes, compreendendo também os dados de toxicidade disponíveis na literatura); 2) Linha de evidência ecotoxicológica (realização de bioensaios, em laboratório ou em campo, para determinação da toxicidade dos contaminantes); 3) Linha de evidência ecológica (caracterização da comunidade biológica que está exposta à contaminação). A análise integrada dessas três linhas de evidência estima o risco de exposição, mais detalhadamente, a que está sujeita a comunidade biológica e gera informações substanciais que podem auxiliar no processo de tomada de decisão pelos gestores ambientais. A utilização de modelos matemáticos nesta etapa permite o cálculo da concentração ambiental prevista dos contaminantes (PEC) e a inferência do seu risco ecológico.

Algumas pesquisas vêm sendo desenvolvidas no Brasil e utilizam a ARE como objeto de estudo em ecossistemas terrestres e aquáticos. Niemeyer et al. (2010), realizaram uma ARE utilizando a abordagem da tríade em solos contaminados por metais na cidade de Santo Amaro, estado da Bahia. Os resultados sugeriram elevado risco ecológico decorrente do efeito tóxico dos metais, o qual impediu o estabelecimento da vegetação, o que levou à simplificação da estrutura do habitat, diminuição dos conteúdos de matéria orgânica, e conseqüentemente causou impactos negativos na atividade microbiana e dos organismos do solo, afetando os serviços ecossistêmicos e outros processos realizados por estes organismos.

Tallini et al. (2012) avaliaram o risco ecológico de um trecho do Rio Jacuí, município de São Jerônimo – RS, com base na tríade (química, ecotoxicológica e ecológica), a partir de dados provenientes de programas de monitoramento ambiental. As evidências químicas foram decorrentes da presença de Hg, Pb e Zn; e as evidências ecotoxicológicas de ensaios de toxicidade com *Ceriodaphnia dubia* para água superficial e *Hyalella azteca* para sedimento. Considerou-se como variável-resposta as evidências biológicas compostas pelos dados de riqueza, índice de Shannon-Weaver, equitatividade e densidade numérica das espécies das comunidades zooplactônica e bentônica. Os resultados permitiram considerar que é possível o

uso de programas de monitoramento ambiental para ARE, caso os dados de monitoramento da biota residente também sejam considerados.

Em uma perspectiva mais ampla, Sanchez (2012) avaliou a qualidade dos ecossistemas aquáticos na bacia hidrográfica do Lobo (Itirapina/Brotas, estado de São Paulo) utilizando a ARE com base na tríade. Foram realizadas coletas em quatro períodos distintos (chuvoso, seco e intermediários), em 14 estações de amostragem (tributários e reservatório), com determinação de variáveis bióticas e abióticas. Os resultados indicaram que as alterações identificadas estão relacionadas com os diferentes usos da bacia hidrográfica, incluindo a emissão de efluentes domésticos da cidade de Itirapina (SP) e as fontes difusas decorrentes do aporte de sedimentos e agroquímicos utilizados nas atividades agrícolas. A integração das linhas de evidência evidenciou uma diferença sazonal em relação aos períodos seco e chuvoso, com valores de risco mais elevados no período seco.

Sanchez (2016) realizou uma ARE em cenários de contaminação por agrotóxicos em relação aos compartimentos terrestres e aquáticos, identificando também as perdas de serviços ecossistêmicos associados. Foram avaliados efeitos diretos e indiretos sobre as respostas individuais para espécies de diferentes níveis tróficos e, para as interações multitróficas, foram realizados experimentos em modelos ecossistêmicos. A ARE holística demonstrou os impactos e efeitos adversos sobre os organismos terrestres e aquáticos, ecossistemas e processos nos diferentes cenários de simulação.

Pagliarini; Oliveira; Espíndola, (2019) realizaram ARE a partir da abordagem da tríade para a valoração da probabilidade de ocorrência de efeitos negativos em águas de abastecimento de Bom Repouso (MG). Neste trabalho, foram avaliados cinco pontos de amostragem, em três períodos, com base nas linhas de evidência química, físico-química e ecotoxicológica. Os resultados indicaram grau elevado de degradação das nascentes do município de Bom Repouso.

Os resultados nos diferentes trabalhos descritos demonstram a importância do uso da ARE como um instrumento na tomada de decisões sobre a gestão do ambiente terrestre e aquático. AREs tendo como base experimentos em escalas mais próximas do real também precisam ser desenvolvidas para que este método seja mais assertivo. Neste sentido, os estudos em mesocosmos podem ser utilizados como uma análise complementar para a avaliação de risco, uma vez que sua representatividade ecológica é maior se comparada com estudos em laboratório. De acordo com Relyea (2009), concentrações de contaminantes consideradas seguras em

laboratório podem não ser seguras na natureza, porque até mesmo baixas concentrações podem interagir sinergicamente com outros estressores.

Aliada à ARE, é possível classificar também as perdas de serviços ecossistêmicos em determinado cenário. O conceito de serviços ecossistêmicos é resultado de complexas interações entre os compartimentos bióticos e abióticos de um ecossistema e constitui um eficiente meio de comunicação entre os diferentes grupos tomadores de decisão e avaliadores de risco (Hayes et al., 2018). Os serviços ecossistêmicos são divididos em quatro categorias: serviços de provisionamento (produção de bens), como alimentos e água; serviços reguladores (processos de suporte à vida), como a regulação da qualidade do clima e da água; serviços culturais (condições que satisfazem a vida), como valores estéticos e de recreação; e serviços de sustentação (processos de suporte à vida), como o processo de formação do solo, fotossíntese e ciclagem de nutrientes (Millennium Ecosystem Assessment, 2005). A partir desses conceitos, a ARE pode traduzir uma abordagem mais realística devido à elevada complexidade ecológica abordada, podendo integrar e traduzir com mais facilidade as interações existentes entre o uso da terra, os serviços ecossistêmicos e, conseqüentemente, o bem-estar humano (Figura 9) (Wang et al., 2017).

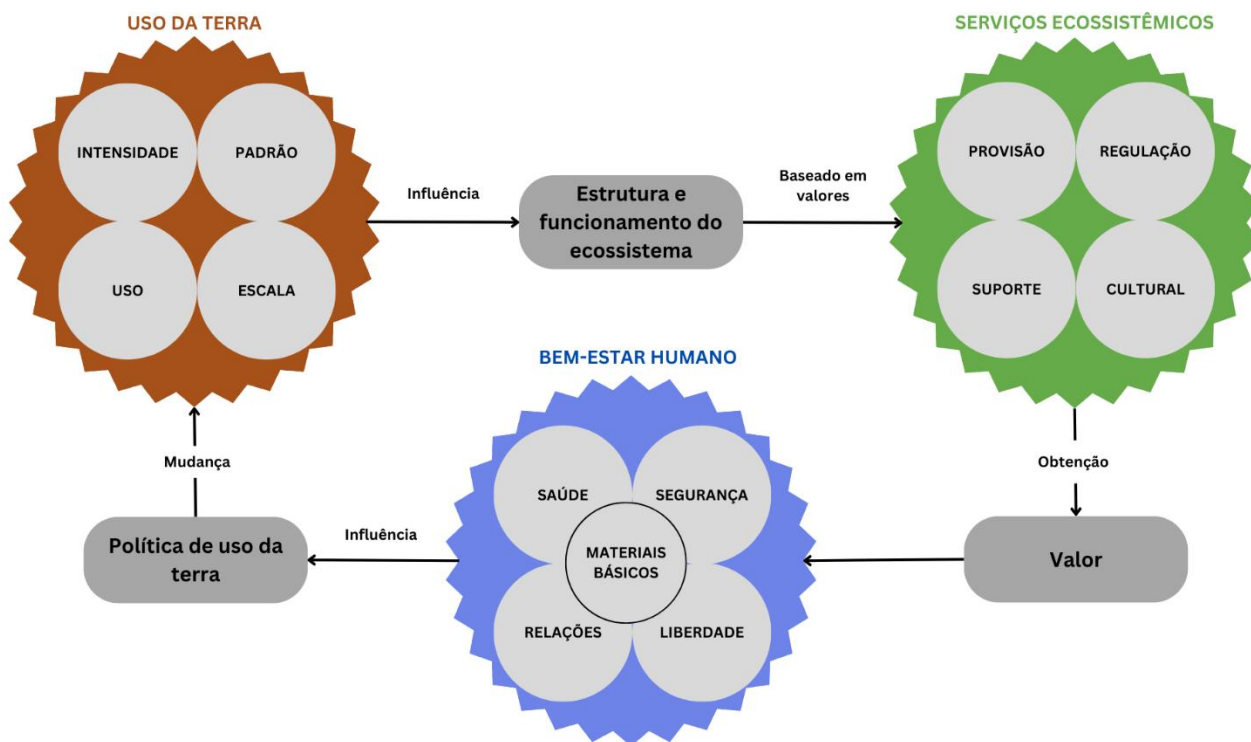


Figura 9 - *Nexus* entre mudanças de uso da terra, serviços ecossistêmicos e bem-estar humano.

Fonte: Adaptado de Wang et al. (2017)

3 HIPÓTESES

A hipótese principal desta pesquisa delimita que as práticas de manejo do solo em pastagens extensivas, pastagens intensivas, e cultivo de cana-de-açúcar resultam em deterioração da qualidade da água, efeitos tóxicos na comunidade aquática, aumento do risco ecológico, bem como alteração dos serviços ecossistêmicos fornecidos pelos ecossistemas aquáticos.

- i. As práticas de manejo do solo em pastagens extensivas, pastagens intensivas, e cultivo de cana-de-açúcar causam deterioração da qualidade da água, alterando suas características físico-química-biológicas ao longo do tempo;
- ii. O manejo do solo em pastagens extensivas, pastagens intensivas, e cultivo de cana-de-açúcar implicará em efeitos ecotoxicológicos em espécies não alvo;

- iii. O manejo do solo em pastagens extensivas, pastagens intensivas, e cultivo de cana-de-açúcar aumentam o risco ecológico a que os ecossistemas aquáticos estão submetidos, sendo este risco maior no cultivo de cana-de-açúcar;
- iv. O manejo do solo em pastagens extensivas, pastagens intensivas, e cultivo de cana-de-açúcar resulta em perda de serviços ecossistêmicos prestados pelos ecossistemas aquáticos.

4 OBJETIVOS

O objetivo geral desta pesquisa é avaliar os efeitos das práticas de manejo do solo em pastagens extensivas, pastagens intensivas, e cultivo de cana-de-açúcar nos ecossistemas aquáticos, a partir de experimentos em mesocosmos.

Para cada uma das hipóteses propostas no tópico anterior, os seguintes objetivos específicos foram formulados.

- i. Monitorar as características físico-químico-biológicas dos mesocosmos nos tratamentos de pastagens extensivas, pastagens intensivas, e cultivo de cana-de-açúcar, por meio da análise de parâmetros medidos *in-situ*, nutrientes e metais;
- ii. Analisar os efeitos ecotoxicológicos decorrentes do manejo do solo em pastagens extensivas, pastagens intensivas, e cultivo de cana-de-açúcar, utilizando *Ceriodaphnia silvestrii*, *Eruca sativa* e *Chironomus sancticaroli* como espécies bioindicadoras;
- iii. Elaborar uma Avaliação de Risco Ecológico para os tratamentos avaliados (pastagens extensivas, pastagens intensivas, e cultivo de cana-de-açúcar), a partir da análise das linhas de evidência química, ecológica e ecotoxicológica (método da tríade), a fim de avaliar qual tratamento pressupõe maior risco ecológico;
- iv. Identificar a perda de serviços ecossistêmicos decorrentes do manejo solo em pastagens extensivas, pastagens intensivas, e cultivo de cana-de-açúcar, a partir da elaboração de cadeias lógicas; e desenvolver objetivos de proteção específicos para os grupos de espécies-chave baseados nas proposições da legislação da União Europeia, a fim de adequar a Avaliação de Risco Ecológico e tornar seus resultados mais robustos.

5 ÁREA DE ESTUDO E DESENHO EXPERIMENTAL

Este tópico é comum a todos os capítulos da tese, em que foi descrito, detalhadamente, a área de estudo e todos os processos de manejo do solo conduzidos nos tratamentos PE, PI e C.

5.1 Área de estudo

Esta pesquisa foi conduzida na Unidade de Pesquisa e Desenvolvimento de Brotas, da Agência Paulista de Tecnologia dos Agronegócios (APTA), localizada na região central do Estado de São Paulo (22°17'12''S e 48°07'35''W), a 60 km da cidade de São Carlos. Esta área de estudo foi escolhida devido a sua semelhança com as áreas de cultivo de cana-de-açúcar no Brasil, como as condições do solo, declividade, presença de pasto e possibilidade de uso contínuo durante dois ciclos de cana-de-açúcar. As áreas adjacentes consistem em uma mata nativa (Cerrado) em processo avançado de regeneração, localizada ao lado; e uma lavoura de cana-de-açúcar à montante.

A classificação climática Köppen-Geiger para a região indica um clima subtropical úmido (Cwa) com chuvas de verão, com variação para clima tropical e inverno seco. A precipitação média anual na região é de, aproximadamente, 1300 - 1400 mm, a temperatura média é de 20,5 °C (Wendland; Barreto; Gomes, 2007), a altitude média é de 650 m acima do nível do mar, e a declividade média é 4%. A vegetação da região se divide em extensões interioranas de mata atlântica nas escarpas da cuesta, cerrados e cerradões no reverso da cuesta e matas galerias que seguem os cursos d'água. Atualmente, a vegetação se encontra degradada devido à intensa exploração agropecuária.

Geologicamente, o município de Brotas está localizado na Bacia Sedimentar da Província do Paraná, com relevo constituído de planaltos tubulares e cuestas basálticas concêntricas, que drenam suas águas para os rios Paraná e Uruguai. Segundo a classificação Brasileira de Solos, o solo da área de estudo é do tipo Latossolo Vermelho-Amarelo. Este tipo de solo geralmente é bem drenado, profundo e uniforme em características de cor, textura, estrutura e profundidade (Embrapa, 1999). A caracterização do solo da área de estudo está descrita na Tabela 6.

Tabela 6 – Caracterização do solo da área de estudo

Parâmetro	Unidade	Valores
pH	-	4,3
Matéria orgânica	g dm ⁻³	25
Fósforo (P)	mg dm ⁻³	4,2
Potássio (K)	mmolc dm ⁻³	1,3
Cálcio (Ca)	mmolc dm ⁻³	11,7
Magnésio (Mg)	mmolc dm ⁻³	4,3
Alumínio (Al)	mmolc dm ⁻³	3,3
Enxofre (S)	mg dm ⁻³	2,2
Boro (B)	mg dm ⁻³	0,2
Cobre (Cu)	mg dm ⁻³	0,6
Ferro (Fe)	mg dm ⁻³	69,0
Manganês (Mn)	mg dm ⁻³	1,5
Zinco (Zn)	mg dm ⁻³	0,8

5.2 Desenho experimental

O modelo experimental estabelecido para a realização da pesquisa abrangeu três matrizes de uso do solo: pastagem extensiva, pastagem intensiva e cana-de-açúcar. Para cada uso da terra, foram construídas cinco parcelas de 0,25 ha (50 × 50 m), totalizando 15 unidades experimentais, com um mesocosmo inserido no centro de cada unidade. Para a demarcação dos tratamentos e delimitação das parcelas, um mapa base de declividade do terreno foi confeccionado com o objetivo de que o manejo do solo em cada tratamento exercesse o mínimo de influência um no outro. Dessa forma, os tratamentos foram alocados seguindo a inclinação da área de estudo (4%). O tratamento PE foi alocado na parte mais alta área de estudo, o tratamento PI ao meio e o tratamento C na parte inferior.

O delineamento experimental permitiu que os processos de escoamento superficial e lixiviação dos tratamentos com maior aplicação de agroquímicos (C e PI, respectivamente) não afetassem o tratamento PE. Aqui, definimos como pastagens extensivas aquelas em que não há adição de fertilizantes minerais ou orgânicos, manejo do solo e que prevalecem no Brasil

(BENTO et al., 2021b). A alocação das parcelas considerou também a proximidade de pelo menos uma parcela de cada tratamento com a área de Cerrado adjacente. Para garantir o isolamento e a locomoção entre os tratamentos, foi construída uma estrada entre eles. O delineamento da área experimental está representado na Figura 10.

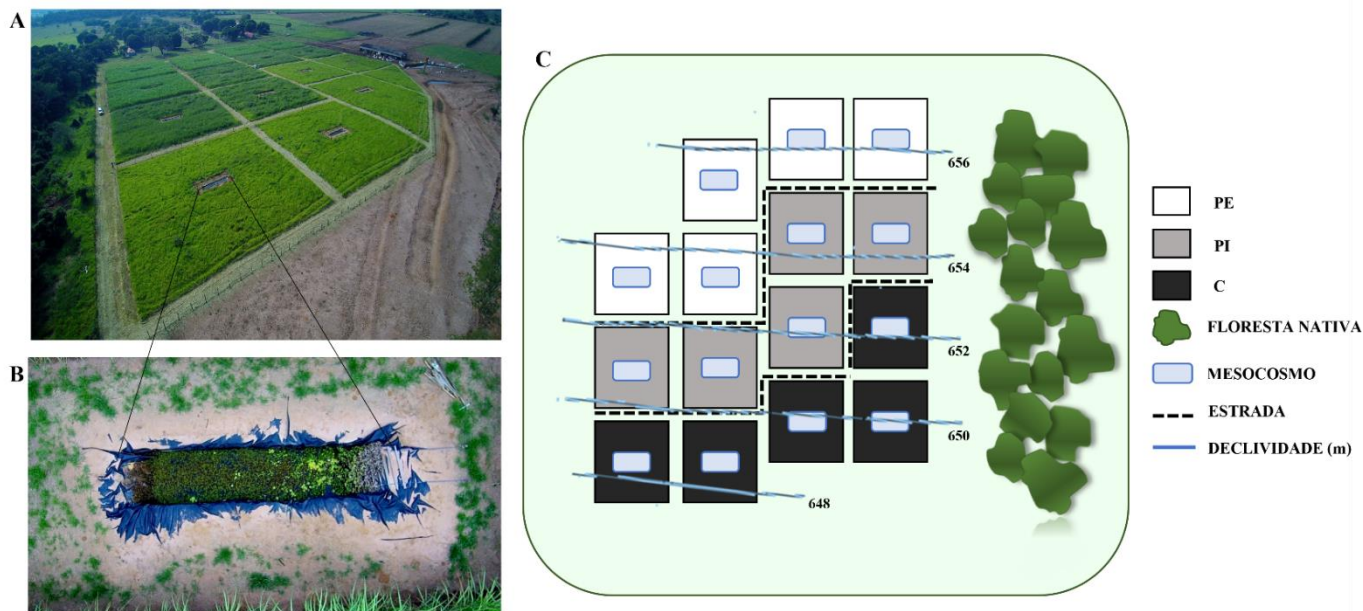


Figura 10 - A) Vista aérea da área de estudo: pastagem extensiva (PE) na parte de baixo, em tom de verde mais claro. Pastagem intensiva (PI) e cana-de-açúcar (C) no topo da figura, ambas em tom de verde mais escuro. A diferença de coloração entre os tratamentos evidencia os efeitos da aplicação de fertilizantes químicos nas áreas de PI e C. Os mesocosmos estão localizados no meio de cada parcela; **B)** Vista aérea do mesocosmo; e **C)** Representação esquemática do modelo experimental inserido no local de estudo com sobreposição de taludes de terreno.

Fonte: A) e B) Edmar Mazzi (2019); C) Autoria própria (2023).

5.2.1 Construção dos mesocosmos

Os mesocosmos foram construídos com 8,0 m de comprimento, 1,0 m de profundidade e 1,5 m de largura (Figuras 11 e 12). A escavação do terreno foi realizada com o auxílio de um trator. Posteriormente, os mesocosmos foram impermeabilizados com uma manta geotêxtil (GF07), seguida de uma geomembrana de polietileno de alta densidade (PEAD) lisa, com espessura de 0,5 mm. Foram adicionados 10 cm de solo local ao fundo da estrutura para exercer a função de sedimento. Em seguida, os mesocosmos foram preenchidos com água de poço

artesiano local, com volume aproximado de 9 m³. Para evitar que espécies terrestres caíssem e não conseguissem sair dos mesocosmos, duas laterais foram recortadas (formando um ângulo de 45°), e escadas de madeira e cordas foram colocadas nas extremidades (Figura 12).



Figura 11 - Etapas de construção dos mesocosmos na área experimental. **A)** Reconhecimento da área; **B e C)** Escavação do terreno com trator; **D)** Impermeabilização com manta geotêxtil (GF07), seguida de geomembrana lisa de polietileno de alta densidade (PEAD) com espessura de 0,5 mm; **E)** Deposição de 10 cm de solo local como sedimento; e **F)** Preenchimento dos mesocosmos com água de poço artesiano local.

Fonte: Evaldo Espíndola (2018)

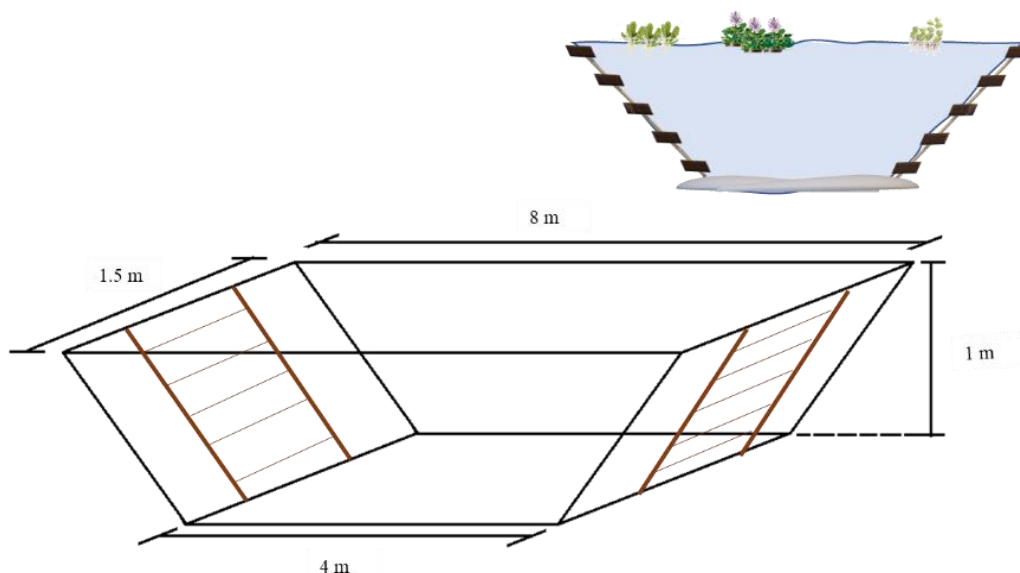


Figura 12 - Desenho esquemático dos mesocosmos com representação das escadas de madeira.

Fonte: Autoria própria (2023)

Nos mesocosmos foram incluídas três espécies de macrófitas (*Salvinia auriculata*, *Pistia stratiotes* e *Eichhornia crassipes*) (Figura 13), que foram previamente lavadas em água corrente para retirada da fauna associada (esta etapa foi parte de outro projeto de pesquisa em andamento). Nenhuma outra comunidade biológica foi inserida no mesocosmos, que foram naturalmente colonizados após a fase de enchimento. Todos os mesocosmos tiveram um período de estabilização de quatro meses (junho de 2018 a outubro de 2018) antes do início das práticas de manejo do solo. Esses sistemas construídos de água doce representam sistemas lênticos inseridos em sistemas agrícolas (pastagens e cana-de-açúcar) e são essencialmente análogos às muitas lagoas encontradas nas paisagens rurais brasileiras.



Figura 13 - Etapa de colonização dos mesocosmos com três espécies de macrófitas aquáticas (*Salvinia auriculata*, *Pistia stratiotes* e *Eichhornia crassipes*).

Fonte: Evaldo Espíndola (2018)

5.3 Manejo do solo

O manejo do solo conduzido nos tratamentos seguiu as recomendações das normas brasileiras para plantio de cana-de-açúcar. O período experimental compreendeu dois ciclos da cana-de-açúcar: 1) o estabelecimento da primeira safra da cana -de-açúcar; e 2) a rebrota da cana-de-açúcar, descritos abaixo.

5.3.1 Estabelecimento da primeira safra de cana-de-açúcar

Uma vez estabelecidas as unidades experimentais, deu-se início aos processos de manejo do solo nas áreas de PI e C, referentes ao primeiro ciclo de cana de açúcar. A pastagem já estabelecida na área experimental (*Brachiaria decumbens*) foi mantida no tratamento PE, uma vez que não foi realizado manejo do solo neste tratamento, considerado como controle. Nos tratamentos PI e C, foram realizadas as etapas convencionais de preparo do solo – gradagem,

calagem (calcário com 70% de Poder Relativo Neutralizante Total - 2 mg ha⁻¹) e aragem (do tipo Aiveca). Após o preparo do solo, plantou-se o pasto (*Brachiaria brizantha* cv *marandu*) no tratamento PI e a cana-de-açúcar (variedade IAC SP 97-4039) no tratamento C. A espécie *Brachiaria brizantha* cv *marandu* foi escolhida por ser amplamente utilizada nas pastagens brasileiras e apresentar melhor produtividade e qualidade nutricional (Cezário et al., 2015; Euclides et al., 2014).

Em seguida, foi simulada a aplicação de fertilizante (NPK) nos tratamentos PI e C, seguida da aplicação do inseticida Regent® 800 W G (a.s. fipronil, BASF S.A.) no tratamento C, e do herbicida DMA® 806 BR (a.s. 2,4-D, Dow AgroSciences Industrial Ltda.) nos tratamentos PI e C (Tabela 7). Ambos os agrotóxicos foram aplicados por aspersão nos sulcos do plantio. Esses agrotóxicos foram escolhidos por estarem entre os principais utilizados na cultura da cana-de-açúcar no Brasil (AGROFIT, 2023). Os fertilizantes utilizados foram: nitrogênio (N) na forma de ureia - CH₄N₂O (45% de N), fosfato (P) na forma de superfosfato simples (18% de P₂O₅) e potássio (K) na forma de cloreto de potássio KCl (60% de K₂O) (Tabela 7). Os valores de agrotóxicos e fertilizantes foram calculados de acordo com as recomendações dos fabricantes para o plantio da cana-de-açúcar.

5.3.2 Rebrota da cana-de-açúcar

Após a conclusão do primeiro ciclo, o novo ciclo foi cultivado a partir de rebrota de cana-de-açúcar, sem necessidade de preparo do solo. Neste ciclo, houve reaplicação de fertilizantes (NPK) nos tratamentos PI e C; seguido de fertirrigação com vinhaça de cana-de-açúcar no tratamento C (parcelas C4 e C5); a aplicação de inseticida Regent® 800 W G (como fipronil, BASF S.A.) no tratamento C; e a aplicação do herbicida DMA® 806 BR (a.s. 2,4-D, Dow AgroSciences Industrial Ltda.) nos tratamentos PI e C. Os fertilizantes utilizados foram os mesmos do primeiro ciclo, com exceção do nitrogênio (N) que foi aplicado na forma de nitrato de amônio (33% de N) (Tabela 7).

A aplicação de vinhaça de cana-de-açúcar (Tabela S2) foi simulada neste ciclo, uma vez que esta água residuária é comumente utilizada para fertirrigação da cana-de-açúcar no estado de São Paulo (CETESB, 2006). Nesta etapa, as parcelas C1 e C2 receberam potássio na forma de fertilizante químico, enquanto as parcelas C3, C4 e C5 foram fertirrigadas com vinhaça de cana-

de-açúcar (Tabela 8). A vinhaça também foi aplicada dentro dos mesocosmos C3, C4 e C5, a fim de simular a chegada deste produto nos ecossistemas aquáticos. A concentração de vinhaça aplicada ao solo, bem como nos mesocosmos C3, C4 e C5, foi calculada a partir da dosagem de potássio necessária para a cana-de-açúcar ($100 \text{ kg K}_2\text{O ha}^{-1}$ - 0,4 L de vinhaça por metro linear de cana) (CETESB, 2006).

Tabela 7 - Concentração de fertilizantes (N, P e K) e agrotóxicos (2,4-D e fipronil) aplicados nos tratamentos pastagem intensiva (PI) e cana-de-açúcar (C) durante os dois ciclos da cana-de-açúcar (o estabelecimento da primeira safra - 1º ciclo; e a rebrota - 2º ciclo). Não foram realizadas aplicações de fertilizantes e agrotóxicos no tratamento pastagem extensiva (PE). “-“ significa sem aplicação. PC = produto comercial.

Químico	Unidade	1º ciclo			2º ciclo		
		PE	PI	C	PE	PI	C
N		-	40	60	-	103	155
P	kg ha^{-1}	-	26	65	-	32	18
K		-	25	100	-	67	71
Vinhaça	L m^{-1}	-	-	-	-	-	0,4
DMA® 806 BR	L PC ha^{-1}	-	1,5	1,5	-	1,5	1,5
Regent® 800 W G	g PC ha^{-1}	-	-	500	-	-	500

Tabela 8 - Caracterização físico-química da vinhaça bruta aplicado no tratamento de cana-de-açúcar

Parâmetro	Unidade	Valores
pH	-	4.0
Densidade	g mL ⁻¹	1.0
Carbono total	g L ⁻¹	35.6
Sólido voláteis	g L ⁻¹	22.8
Sólidos totais	g L ⁻¹	23.6
Sólidos fixos	g L ⁻¹	0.8
Nitrogênio total	g L ⁻¹	1.4
Fósforo total	g L ⁻¹	0.2
Potássio (K)	g L ⁻¹	8.5
Cálcio (Ca)	g L ⁻¹	2.0
Magnésio (Mg)	g L ⁻¹	0.9
Enxofre (SO ₄)	g L ⁻¹	2.3
Cobre (Cu)	mg L ⁻¹	0.8
Zinco (Zn)	mg L ⁻¹	1.5
Manganês (Mn)	mg L ⁻¹	13.3
Ferro (Fe)	mg L ⁻¹	29.8
Sódio (Na)	mg L ⁻¹	73.3

Além disso, a pastagem de gado (raça Nelore) para o consumo da forragem produzida foi simulada nos tratamentos PE e PI em ambos os ciclos da cana-de-açúcar (Figura 14). A capacidade de suporte das pastagens foi estimada considerando a unidade animal (UA) de 450 kg e o consumo diário de 4% do peso vivo para não comprometer a produtividade e resiliência da pastagem (Euclides et al., 2014; Dias-Filho, 2014). Nesta etapa, todos os mesocosmos e os diferentes tratamentos foram cercados com cerca de arame e cerca elétrica para evitar o contato do gado com os mesocosmos e sua transição entre os tratamentos (Figura 15). Após a pastagem do gado no primeiro ciclo, fez-se necessária uma nova aplicação de 2,4-D nas áreas de PI em decorrência do crescimento de ervas daninhas.

Em resumo, as etapas de manejo do solo conduzidas durante os dois ciclos de cana-de-açúcar estão enumeradas na Tabela 9.



Figura 14 - Pastagem do gado na área de pasto extensivo (PE)

Fonte: Evaldo Espíndola (2019)

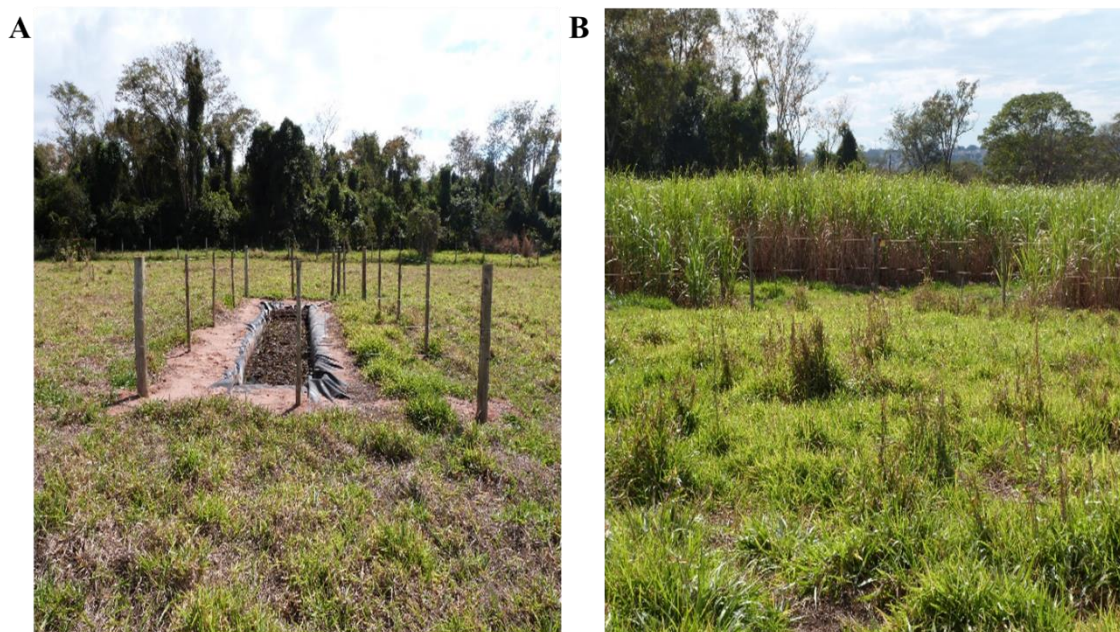


Figura 15 - **A**) Cercas de proteção no mesocosmo; e **B**) cercas de proteção separando os tratamentos cana-de-açúcar e pastagem intensiva.

Fonte: Evaldo Espíndola (2019)

Tabela 9 - Etapas de manejo do solo realizadas nos tratamentos pastagem extensiva (PE), pastagem intensiva (PI) e cana-de-açúcar (C) durante os dois ciclos da cana-de-açúcar (a implantação da primeira safra – 1º ciclo; e a rebrota da cana-de-açúcar – 2º ciclo).

Ciclo	Etapa	Tratamento	Período
1º	Marcação inicial da área experimental	Todos	31/08/17
	Delineamento dos tratamentos e das parcelas	Todos	16/04/18
	Construção dos mesocosmos	Todos	04/06 a 06/06/18
	Gradagem	PI e C	23/10/18
	Calagem (Cálcario 70% PNRT)	PI e C	31/10/18
	Aragem (tipo Aiveca)	PI e C	27/11/18
	Aplicação de NPK	PI e C	29/11/18
	Plantio do pasto e cana	PI e C	04/12/18
	Aplicação do agrotóxico fipronil	C	04/12/18
	Aplicação do agrotóxico 2,4-D	C	26/01/19
	Pastagem do gado	PE e PI	11/04 a 05/04/19
	Aplicação de 2,4-D	PI	01/08/19
	Corte da cana	C	15/10/19
2º	Aplicação de NPK	PI e C	23/10/19
	Fertirrigação com vinhaça	C3, C4 e C5	06/11/19
	Aplicação do agrotóxico fipronil	C	26/11/19
	Aplicação do agrotóxico 2,4-D	C	08/12/19
	Pastagem do gado	PE e PI	16/12/19 a 16/01/20

REFERÊNCIAS

ABDI, D. E.; OWEN, J. S.; WILSON, P. C.; HINZ, F. O.; CREGG, B.; FERNANDEZ, R. T. Reducing pesticide transport in surface and subsurface irrigation return flow in specialty crop production. **Agricultural Water Management**, v. 256, n. July, p. 107124, 2021. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.agwat.2021.107124>>.

AGROFIT. **Sistema de Agrotóxicos Fitossanitários**. Disponível em: <http://agrofit.agricultura.gov.br/agrofit_cons/principal_agrofit_cons>. Acesso em: 02 jul. 2023

ALVES, E. R. A.; CONTINI, E.; GASQUES, J. G. Evolução da produção e produtividade da agricultura brasileira. **Agricultura tropical**, 2007.

AQUINO, A. J. A.; TUNEGA, D.; HABERHAUER, G.; GERZABEK, M. H.; LISCHKA, H. Interaction of the 2,4-dichlorophenoxyacetic acid herbicide with soil organic matter moieties: A theoretical study. **European Journal of Soil Science**, v. 58, n. 4, p. 889–899, 2007.

ARIAS, A. R. L.; BUSS, D. F.; ALBURQUERQUE, C. de; 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 Use of bioindicators for assessing and monitoring pesticides contamination in streams and rivers. **Ciência e saúde coletiva**, p. 61–72, 2007.

ATAMANIUK, T. M.; KUBRAK, O. I.; STOREY, K. B.; LUSHCHAK, V. I. Oxidative stress as a mechanism for toxicity with goldfish gills. p. 1498–1508, 2013.

BENLI, A. Ç. K.; SARIKAYA, R.; SEPICI-DINCEL, A.; SELVI, M.; ŞAHIN, D.; ERKOÇ, F. Investigation of acute toxicity of (2,4-dichlorophenoxy)acetic acid (2,4-D) herbicide on crayfish (*Astacus leptodactylus* Esch. 1823). **Pesticide Biochemistry and Physiology**, v. 88, n. 3, p. 296–299, 2007.

BENTO, C. B.; BRANDANI, C. B.; FILOSO, S.; MARTINELLI, L. A.; CARMO, J. B. do.

Effects of extensive-to-intensive pasture conversion on soil nitrogen availability and CO₂ and N₂O fluxes in a Brazilian oxisol. **Agriculture, Ecosystems and Environment**, v. 321, n. March, p. 107633, 2021. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.agee.2021.107633>>.

BENTO, C. B.; FILOSO, S.; PITOMBO, L. M.; CANTARELLA, H.; ROSSETTO, R.; MARTINELLI, L. A.; DO CARMO, J. B. Impacts of sugarcane agriculture expansion over low-intensity cattle ranch pasture in Brazil on greenhouse gases. **Journal of Environmental Management**, v. 206, p. 980–988, 2018. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.jenvman.2017.11.085>>.

BEYER, J.; PETERSEN, K.; SONG, Y.; RUUS, A.; GRUNG, M.; BAKKE, T.; ERIK, K. Environmental risk assessment of combined effects in aquatic ecotoxicology : A discussion paper. **Marine Environmental Research**, v. 96, p. 81–91, 2014. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.marenvres.2013.10.008>>.

BHATTI, S.; SATYANARAYANA, G. N. V; KUMAR, D.; SATISH, A. Bioaccumulation , biotransformation and toxic effect of fipronil in Escherichia coli. **Chemosphere**, v. 231, p. 207–215, 2019. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2019.05.124>>.

BOMBARDI, L. M. Geografia do Uso de Agrotóxicos no Brasil e Conexões com a União Europeia, 2017.

BONMATIN, J.; GIORIO, C.; GIROLAMI, V.; GOULSON, D.; KREUTZWEISER, D. P. Environmental fate and exposure; neonicotinoids and fipronil. **Environmental Science and Pollution Research**, p. 35–67, 2015.

BORDONAL, R. D. O.; LUÍS, J.; CARVALHO, N.; LAL, R.; FIGUEIREDO, E. B. De. Sustainability of sugarcane production in Brazil . A review. **Agronomy for Sustainable Development**, 2018.

BOTELHO, R. G.; TORNISIELO, V. L.; DE OLINDA, R. A.; MARANHO, L. A.;

MACHADO-NETO, L. Acute toxicity of sugarcane vinasse to aquatic organisms before and after pH adjustment. **Toxicological and Environmental Chemistry**, v. 94, n. 10, p. 2035–2045, 2012.

BRASIL. Ministério da Agricultura e Pecuária. **Informações Técnicas de Registros de Agrotóxicos**. 2023. Disponível em: <https://www.gov.br/agricultura/pt-br/assuntos/insumos-agropecuarios/insumos-agricolas/agrotoxicos/informacoes-tecnicas>

BRINK, P. J. VAN DEN; TARAZONA, J. V.; SOLOMON, K. R.; KNACKER, T.; BRINK, N. W. VAN DEN; BROCK, T. C. M.; HOOGLAND, J. P. H. The use of terrestrial and aquatic microcosms and mesocosms for the ecological risk assessment of veterinary medicinal products. **Veterinary Medicines**, v. 24, n. 4, p. 820–829, 2005.

BROCHARDT, S. V. **Direito à informação sobre agrotóxicos**. Tese (Doutorado) – Faculdade de Comunicação, Universidade de Brasília, Brasília, 2020.

BROVINI, E. M.; QUADRA, G. R.; PARANAÍBA, J. R.; CARVALHO, L.; PEREIRA, R. de O.; AQUINO, S. F. de. Occurrence and environmental risk assessment of 22 pesticides in Brazilian freshwaters. **Aquatic toxicology**, v. 260, n. May, 2023.

CALDAS, S. S.; ARIAS, J. L. O.; ROMBALDI, C.; MELLO, L. L.; CERQUEIRA, M. B. R.; MARTINS, A. F.; PRIMEL, E. G. Occurrence of Pesticides and PPCPs in Surface and Drinking Water in Southern Brazil: Data on 4-Year Monitoring. v. 30, n. 1, p. 71–80, 2019.

CAMPOS, C. R.; MESQUITA, V. A.; SILVA, C. F.; SCHWAN, R. F. Efficiency of physicochemical and biological treatments of vinasse and their influence on indigenous microbiota for disposal into the environment. **Waste Management**, v. 34, n. 11, p. 2036–2046, 2014. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.wasman.2014.06.006>>.

CARDOSO, A. S.; BERNDT, A.; LEYTEM, A.; ALVES, B. J. R.; DE CARVALHO, I. das N. O.; DE BARROS SOARES, L. H.; URQUIAGA, S.; BODDEY, R. M. Impact of the

intensification of beef production in Brazil on greenhouse gas emissions and land use.

Agricultural Systems, v. 143, p. 86–96, 2016. Disponível em:

<<http://dx.doi.org/10.1016/j.agsy.2015.12.007>>.

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

CEZÁRIO, A. S.; RIBEIRO, K. G.; SANTOS, S. A.; VALADARES FILHO, S. de C.; PEREIRA, O. G. Silages of *Brachiaria brizantha* cv. Marandu harvested at two regrowth ages: Microbial inoculant responses in silage fermentation, ruminant digestion and beef cattle performance. **Animal Feed Science and Technology**, v. 208, p. 33–43, 2015. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.anifeedsci.2015.06.025>>.

CHARLES, J. M.; CUNNY, H. C.; WILSON, R. D.; BUS, J. S.; LAWLOR, T. E.; CIFONE, M. A.; FELLOWS, M.; GOLLAPUDI, B. Ames assays and unscheduled DNA synthesis assays on 2,4-dichlorophenoxyacetic acid and its derivatives. **Mutation Research - Genetic Toxicology and Environmental Mutagenesis**, v. 444, n. 1, p. 207–216, 1999.

COELHO, M. P. M.; CORREIA, J. E.; VASQUES, L. I.; MARCATO, A. C. de C.; GUEDES, T. de A.; SOTO, M. A.; BASSO, J. B.; KIANG, C.; FONTANETTI, C. S. Toxicity evaluation of leached of sugarcane vinasse: Histopathology and immunostaining of cellular stress protein. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 165, n. August, p. 367–375, 2018. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2018.08.099>>.

COMPANHIA AMBIENTAL DO ESTADO DE SÃO PAULO (CETESB). **Proposta para derivação de critérios para contaminantes ambientais da agricultura**. São Paulo: CETESB, 2010.

COMPANHIA AMBIENTAL DO ESTADO DE SÃO PAULO (CETESB). **Vinhaça – critérios e procedimentos para aplicação em solos agrícolas**. Norma Técnica P4.231. São Paulo, 2006.

COMPANHIA NACIONAL DE ABASTECIMENTO. **Acompanhamento da Safra Brasileira de cana-de-açúcar**. Brasília: CONAB, 2023. (v.9 – safra 2023/24 n.1 – primeiro levantamento, 2023).

DAAM, M. A.; CHELINHO, S.; NIEMEYER, J. C.; OWOJORI, O. J.; DE SILVA, P. M. C. S.; SOUSA, J. P.; VAN GESTEL, C. A. M.; RÖMBKE, J. Environmental risk assessment of pesticides in tropical terrestrial ecosystems: Test procedures, current status and future perspectives. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 181, n. June, p. 534–547, 2019. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2019.06.038>>.

DAAM, M. A.; VAN DEN BRINK, P. J.; NOGUEIRA, A. J. A. Impact of single and repeated applications of the insecticide chlorpyrifos on tropical freshwater plankton communities. **Ecotoxicology**, v. 17, n. 8, p. 756–771, 2008.

DAS, P. C.; CAO, Y.; CHERRINGTON, N.; HODGSON, E.; ROSE, R. L. Fipronil induces CYP isoforms and cytotoxicity in human hepatocytes. **Chemico-Biological Interactions**, v. 164, n. 3, p. 200–214, 2006.

DEHNERT, G. K.; FREITAS, M. B.; DEQUATTRO, Z. A.; BARRY, T.; KARASOV, W. H. Effects of low, subchronic exposure of 2,4-Dichlorophenoxyacetic acid (2,4-D) and commercial 2,4-D formulations on early life stages of fathead minnows (*Pimephales promelas*). **Environmental Toxicology and Chemistry**, v. 37, n. 10, p. 2550–2559, 2018.

DELLASALA, D. A.; GOLDSTEIN, M. I.; ELIAS, S.; JENNINGS, B.; LACHER, T. E.; MINEAU, P.; PYARE, S. The anthropocene: How the great acceleration is transforming the planet at unprecedented levels. **Encyclopedia of the Anthropocene**, v. 1–5, p. 1–7, 2017.
DIAS-FILHO, M. B. *Diagnóstico das pastagens no Brasil*. **Belém: Embrapa Amazônia Oriental, 2014.**

DOLEZAL, A. G.; ST, A. L.; ZHANG, G.; TOTH, A. L.; NEAL, M. E. O. Native habitat mitigates feast – famine conditions faced by honey bees in an agricultural landscape. v. 116, n.

50, p. 25147–25155, 2019.

DONG, X.; REN, J.; ZHANG, P.; JIN, Y.; LIU, R.; WANG, X. C.; LEE, C. T.; KLEMEŠ, J. J. Entwining ecosystem services, Land Use Change and human well-being by nitrogen flows. **Journal of Cleaner Production**, v. 308, n. March, 2021.

ELLIS, E.C., GOLDEWIJK, K.K., SIEBERT, S., LIGHTMAN, D., RAMANKUTTY, N., 2010. Anthropogenic transformation of the biomes, 1700 to 2000. **Global Ecology and Biogeography**. 19(5), 589–606, 2010.

EMBRAPA. Sistema brasileiro de classificação de solos. Brasília: Embrapa, 1999.

EUCLIDES, V. P. B.; MONTAGNER, D. B.; BARBOSA, R. A.; NANTES, N. N. Pasture and grazing management of *Brachiaria brizantha* (Hochst) Stapf and *Panicum maximum* Jacq. (In Portuguese, with English abstract.). **Revista Ceres**, v. 61, p. 808–818, 2014.

FILOSO, S.; DO CARMO, J. B.; MARDEGAN, S. F.; LINS, S. R. M.; GOMES, T. F.; MARTINELLI, L. A. Reassessing the environmental impacts of sugarcane ethanol production in Brazil to help meet sustainability goals. **Renewable and Sustainable Energy Reviews**, v. 52, p. 1847–1856, 2015.

FLYNN, D. F. B.; GOGOL-PROKURAT, M.; NOGEIRE, T.; MOLINARI, N.; RICHERS, B. T.; LIN, B. B.; SIMPSON, N.; MAYFIELD, M. M.; DECLERCK, F. Loss of functional diversity under land use intensification across multiple taxa. **Ecology Letters**, v. 12, n. 1, p. 22–33, 2009.

FORBES, V. E.; CALOW, P.; SIBLY, R. M. The extrapolation problem and how population modeling can help. **Setac press**, v. 27, n. 10, p. 1987–1994, 2008.

FREITAS, I. B. F.; OGURA, A. P.; CUNHA, D. G. F.; COSSOLIN, A. S.; FERREIRA, M. de S.; GOULART, B. V.; MONTAGNER, C. C.; ESPÍNDOLA, E. L. G. The Longitudinal Profile of a Stream Contaminated With 2,4-D and its Effects on Non-Target Species. **Archives of**

Environmental Contamination and Toxicology, n. Gamble 2009, 2022a. Disponível em: <<https://doi.org/10.1007/s00244-021-00903-6>>.

FREITAS, J. S.; PINTO, T. J. da S.; YOSHII, M. P. C.; SILVA, L. C. M. da; LOPES, L. F. de P.; OGURA, A. P.; GIROTTO, L.; MONTAGNER, C. C.; ALHO, L. de O. G.; GEBARA, R. C.; SCHIESARI, L.; ESPÍNDOLA, E. L. G. Realistic exposure to fipronil, 2,4-D, vinasse and their mixtures impair larval amphibian physiology. **Environmental Pollution**, v. 299, n. September 2021, 2022b.

FUESS, L. T.; GARCIA, M. L. Implications of stillage land disposal : A critical review on the impacts of fertigation. **Journal of Environmental Management**, v. 145, p. 210–229, 2014. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.jenvman.2014.07.003>>.

GAMA, A. F. Avaliação espaço/temporal e influência da composição sedimentar na distribuição dos agrotóxicos mais utilizados na mesorregião do Rio Jaguaribe-Ceará. 2018.

GODDE, C. M.; GARNETT, T.; THORNTON, P. K.; ASH, A. J.; HERRERO, M. Grazing systems expansion and intensification : Drivers , dynamics , and trade-offs. v. 16, n. November 2017, p. 93–105, 2018.

GOULART, B. V. Destino e transporte de fipronil e 2,4-D no ambiente durante o manejo de cana-de-açúcar e pastagens. Campinas, SP, 2023.

GOULSON, D.; NICHOLLS, E.; BOTÍAS, C.; ROTHERAY, E. L. Bee declines driven by combined Stress from parasites, pesticides, and lack of flowers. **Science**, v. 347, n. 6229, 2015.

GRACINDO, C. V.; LOUVANDINI, H.; RIET-CORREA, F.; BARBOSA-FERREIRA, M.; DE CASTRO, M. B. Performance of sheep grazing in pastures of *Brachiaria decumbens*, *Brachiaria brizantha*, *Panicum maximum*, and *Andropogon gayanus* with different protodioscin concentrations. **Tropical Animal Health and Production**, v. 46, n. 5, p. 733–737, 2014.

GUNASEKARA, A. S.; TRUONG, T.; GOH, K. S.; SPURLOCK, F.; TJEERDEMA, R. S. Environmental fate and toxicology of fipronil. **Journal of Pesticide Science**, v. 32, n. 3, p. 189–199, 2007.

HANCOCK, T. Health in the Anthropocene: From the Global to the Local. **International Encyclopedia of Human Geography**, v. 6, p. 323–328, 2020.

HAYES, F.; SPURGEON, D. J.; LOFTS, S.; JONES, L. Evidence-based logic chains demonstrate multiple impacts of trace metals on ecosystem services. **Journal of Environmental Management**, v. 223, n. May, p. 150–164, 2018. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.jenvman.2018.05.053>>.

HERNÁNDEZ, A. F.; GIL, F.; LACASAÑA, M. Toxicological interactions of pesticide mixtures : an update. **Archives of Toxicology**, v. 91, n. 10, p. 3211–3223, 2017.

HOARAU, J.; CARO, Y.; GRONDIN, I.; PETIT, T. Sugarcane vinasse processing : Toward a status shift from waste to valuable resource . A review. **Journal of Water Process Engineering**, v. 24, n. January, p. 11–25, 2018. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.jwpe.2018.05.003>>.

IBAMA - INSTITUTO BRASILEIRO DO MEIO AMBIENTE E DOS RECURSOS NATURAIS RENOVÁVEIS. **Relatório Semestral de Agrotóxicos**. Disponível em: <www.ibama.gov.br/agrotoxicos/relatorios-de-comercializacao-de-agrotoxicos>.

ISLAM, F.; WANG, J.; FAROOQ, M. A.; KHAN, M. S. S.; XU, L.; ZHU, J.; ZHAO, M.; MUÑOS, S.; LI, Q. X.; ZHOU, W. Potential impact of the herbicide 2,4-dichlorophenoxyacetic acid on human and ecosystems. **Environment International**, v. 111, n. September 2017, p. 332–351, 2018. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.envint.2017.10.020>>.

INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA (IBGE). Censo Agropecuário. 2017. Disponível em: <https://censoagro2017.ibge.gov.br/>

JARDIM, I.; ANDRADE, J.; QUEIROZ, S. Resíduos de agrotóxicos em alimentos: uma preocupação ambiental global – um enfoque às maçãs. **Química Nova**, v. 32, n. 4, p. 996–1012, 2009.

JENSEN, J.; MESMAN, M. Ecological Risk Assessment of Contaminated Land—Decision Support for Site Specific Investigations. 2006.

KONWICK, B. J.; GARRISON, A. W.; BLACK, M. C.; AVANTS, J. K. Bioaccumulation, Biotransformation, and Metabolite Formation of Fipronil and Chiral Legacy Pesticides in Rainbow Trout. **Environmental science & technology**, v. 40, n. 9, p. 2930–2936, 2006.

LONG, E. R.; CHAPMAN, P. M. A Sediment Quality Triad: Measures of Sediment Contamination, Toxicity, and Infaunal Community Composition in Puget Sound. **Mantle Pollution Bulletin**. Volume 16. Number 10. pp 405-415. 1985.

LOPES, L. F. de P.; ROCHA, G. S.; MEDEIROS, J. F. de; MONTAGNER, C. C.; ESPÍNDOLA, E. L. G. The acute effects of fipronil and 2, 4 - D , individually and in mixture : a threat to the freshwater Calanoida copepod *Notodiaptomus iheringi*. **Environmental Science and Pollution Research**, n. 0123456789, 2023. Disponível em: <<https://doi.org/10.1007/s11356-023-28066-y>>.

LOUGHLIN, T. M. Mac; PELUSO, M. L.; MARINO, D. J. G. Multiple pesticides occurrence , fate , and environmental risk assessment in a small horticultural stream of Argentina. **Science of the Total Environment**, v. 802, p. 149893, 2022. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2021.149893>>.

LOURENCETTI, C.; DE MARCHI, M. R. R.; RIBEIRO, M. L. Influence of sugar cane vinasse on the sorption and degradation of herbicides in soil under controlled conditions. **Journal of Environmental Science and Health - Part B Pesticides, Food Contaminants, and Agricultural Wastes**, v. 47, n. 10, p. 949–958, 2012.

MACDONALD, K. A.; PENNO, J. W.; LANCASTER, J. A. S.; BRYANT, A. M.; KIDD, J. M.;

ROCHE, J. R. Production and economic responses to intensification of pasture-based dairy production systems. **Journal of Dairy Science**, v. 100, n. 8, p. 6602–6619, 2017. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.3168/jds.2016-12497>>.

MAGALHÃES, D. D. P.; FERRÃO, S. A ecotoxicologia como ferramenta no biomonitoramento de ecossistemas aquáticos. v. 12, n. 3, p. 355–381, 2008.

MALAJ, E.; VON DER OHE, P. C.; GROTE, M.; KÜHNE, R.; MONDY, C. P.; USSEGLIO-POLATERA, P.; BRACK, W.; SCHÄFER, R. B. Organic chemicals jeopardize the health of freshwater ecosystems on the continental scale. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, v. 111, n. 26, p. 9549–9554, 2014.

MAPBIOMAS. 2021. Disponível em: <https://mapbiomas.org/>. Acesso em: 19 jul. 2023.

MARCATO, A. C. de C.; SOUZA, C. P. de; FONTANETTI, C. S. Herbicide 2, 4-D : A Review of Toxicity on Non-Target Organisms. **Water Air Soil Pollut**, 2017.

MARINHO, J. F. U.; CORREIA, J. E.; MARCATO, A. C. de C.; PEDRO-ESCHER, J.; FONTANETTI, C. S. Sugarcane vinasse in water bodies: Impact assessed by liver histopathology in tilapia. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 110, p. 239–245, 2014. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.ecoenv.2014.09.010>>.

MARTINELLI, L. a.; FILOSO, S. Expansion of Sugarcane Ethanol Production. **Ecological Applications**, v. 18, n. 4, p. 885–898, 2008.

MILLENNIUM ECOSYSTEM ASSESSMENT. Ecosystems and human well-being: Biodiversity synthesis. World Resources Institute, 100 p, 2005.

MINEAU, P. Contaminants in the age of the anthropocene. **Elsevier Inc.**, v. 1, p. 51–5, 2017.

MOACYR BERNARDINO DIAS-FILHO. Diagnóstico das Pastagens no Brasil. **Embrapa Amazônia Oriental**, v. Documentos, p. 21–43, 2014. Disponível em:

<www.cpatu.embrapa.br/publicacoes_online>.

MORAES, B. S.; ZAIAT, M.; BONOMI, A. Anaerobic digestion of vinasse from sugarcane ethanol production in Brazil : Challenges and perspectives. **Renewable and Sustainable Energy Reviews**, v. 44, p. 888–903, 2015. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.rser.2015.01.023>>.

MONTGOMERY, J. H. Groundwater Chemicals Desk Reference, 4th Editio. ed. CRC Press, New York, NY, 2007.

MOREIRA, R. A.; CORDERO-DE-CASTRO, A.; POLO-CASTELLANO, C.; PINTO, T. J. S.; DIAS, M. A.; MONTAGNER, C. C.; ESPÍNDOLA, E. L. G.; ARAÚJO, C. V. M.; BLASCO, J. Avoidance responses by Danio rerio reveal interactive effects of warming, pesticides and their mixtures. **Science of the Total Environment**, v. 847, n. July, 2022.

MOREIRA, R. A.; POLO-CASTELLANO, C.; CORDERO-DE-CASTRO, A.; DIAS, M. A.; PINTO, T. J. S.; MONTAGNER, C. C.; ESPÍNDOLA, E. L. G.; BLASCO, J.; ARAÚJO, C. V. M. Short and long-term exposure to the pesticides fipronil and 2,4-D: Effects on behavior and life history of *Daphnia magna*. **Chemosphere**, v. 310, n. July 2022, 2023.

MOREIRA, R.; ROCHA, G. S.; SILVA, L.; GOULART, B. V.; MONTAGNER, C. C.; MELAO, M. da G. G.; ESPINDOLA, E. L. G. Exposure to environmental concentrations of fipronil and 2, 4-D mixtures causes physiological , morphological and biochemical changes in *Raphidocelis subcapitata*. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 206, n. May, 2020.

MOSELEY, W. G.; COLLEGE, M.; PAUL, S. Food Security and ‘ Green Revolution ’. **International Encyclopedia of the Social & Behavioral Sciences**, v. 8, p. 5728–5730, 2015.

MOUNTASSIF, D.; KABINE, M.; MOUNCHID, K.; MOUNAJI, K. Biochemical and histological alterations of cellular metabolism from jerboa (*Jaculus orientalis*) by 2, 4-dichlorophenoxyacetic acid : Effects on D -3-hydroxybutyrate dehydrogenase. **Pesticide Biochemistry and Physiology**, v. 90, p. 87–96, 2008.

NAKASHIMA, R. N.; JUNIOR, S. D. O. Comparative exergy assessment of vinasse disposal alternatives : Concentration , anaerobic digestion and fertirrigation. **Renewable Energy**, v. 147, p. 1969–1978, 2020. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.renene.2019.09.124>>.

NIEMEYER, J. C. et al. Environmental risk assessment of a metal-contaminated area in the Tropics. **Journal Soils Sediments**. p. 1557–1571, 2010.

NOWELL, L.; W, M. P.; S, S. T.; E, N. J.; NAOMI, N.; E, S. M.; J, M. B.; C, V. M. P.; W, S. W.; W, S. M.; L, H. M. Complex mixtures of dissolved pesticides show potential aquatic toxicity in a synoptic study of Midwestern U . S . streams. **Science of the Total Environment**, v. 613–614, p. 1469–1488, 2018. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2017.06.156>>.

O’CONNELL, C. S.; CARLSON, K. M.; CUADRA, S.; FEELEY, K. J.; GERBER, J.; WEST, P. C.; POLASKY, S. Balancing tradeoffs: Reconciling multiple environmental goals when ecosystem services vary regionally. **Environmental Research Letters**, v. 13, n. 6, 2018.

OECD-FAO. SUGAR - OECD-FAO Agricultural Outlook 2017-2026. 2023. Disponível em: <<http://stats.oecd.org/Index.aspx?QueryId=76855>>.

ODUM, H. T. Systems ecology: an introduction. New York: John Wiley, 1983.

OGURA, A. P.; MOREIRA, R. A.; DA SILVA, L. C. M.; NEGRO, G. S.; FREITAS, J. S.; DA SILVA PINTO, T. J.; LOPES, L. F. de P.; YOSHII, M. P. C.; GOULART, B. V.; MONTAGNER, C. C.; ESPÍNDOLA, E. L. G. Irrigation with Water Contaminated by Sugarcane Pesticides and Vinasse Can Inhibit Seed Germination and Crops Initial Growth. **Archives of Environmental Contamination and Toxicology**, v. 82, n. 3, p. 330–340, 2022a. Disponível em: <<https://doi.org/10.1007/s00244-022-00914-x>>.

OGURA, A. P.; SILVA, A. C. da; CASTRO, G. B.; ESPÍNDOLA, E. L. G.; SILVA, A. L. da. An overview of the sugarcane expansion in the state of São Paulo (Brazil) over the last two decades and its environmental impacts. **Sustainable Production and Consumption**, v. 32, p. 66–75, 2022b. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.spc.2022.04.010>>.

OZOE, Y.; OZOE, F.; KITA, T.; RAHMAN, M. M.; LIU, G.; HISANO, K.; TAKASHIMA, M.; NAKATA, Y. Multiple Sites of Insecticidal Action in Ionotropic GABA Receptors. 2015.

PANIZZI, S.; SUCIU, N. A.; TREVISAN, M. Combined ecotoxicological risk assessment in the frame of European authorization of pesticides. **Science of the Total Environment**, v. 580, p. 136–146, 2017. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.scitotenv.2016.10.154>>.

PAGLIARINI, É. C.; OLIVEIRA, V. B. D. E. M. Ecological Risk Assessment (ERA) application for the evaluation of impacts on natural aquatic ecosystems. v. 22, 2019.

PARSAEE, M.; KIANI, M.; KIANI, D.; KARIMI, K. Biomass and Bioenergy A review of biogas production from sugarcane vinasse. **Biomass and Bioenergy**, v. 122, n. January, p. 117–125, 2019. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.biombioe.2019.01.034>>.

PATTANASUPONG, A.; NAGASE, H.; INOUE, M.; HIRATA, K.; TANI, K.; NASU, M.; MIYAMOTO, K.; SCIENCE, E. Ability of a microbial consortium to remove pesticide , carbendazim and 2,4 dichlorophenoxyacetic acid. **World Journal of Microbiology & Biotechnology**, p. 517–522, 2004.

PHILLIPS, R. L.; PAUL, S. Green Revolution : Past , Present , and Future. **Encyclopedia of Agriculture and Food Systems**, v. 3, p. 529–538, 2014.

PINTO, T. J. da S.; FREITAS, J. S.; MOREIRA, R. A.; SILVA, L. C. M. da; YOSHII, M. P. C.; LOPES, L. F. de P.; GOULART, B. V.; VANDERLEI, M. R.; ATHAYDE, D. B.; FRAGA, P. D.; OGURA, A. P.; SCHIESARI, L.; MONTAGNER, C. C.; DAAM, M. A.; ESPINDOLA, E. L. G. Functional responses of *Hyalella meinerti* after exposure to environmentally realistic concentrations of 2,4-D, fipronil, and vinasse (individually and in mixture). **Aquatic Toxicology**, v. 231, n. April 2020, 2021a.

PINTO, T. J. da S.; MOREIRA, R. A.; DA SILVA, L. C. M.; YOSHII, M. P. C.; GOULART, B. V.; FRAGA, P. D.; DA SILVA ROLIM, V. L.; MONTAGNER, C. C.; DAAM, M. A.; ESPINDOLA, E. L. G. Toxicity of fipronil and 2,4-D formulations (alone and in a mixture) to the tropical amphipod *Hyalella meinerti*. **Environmental Science and Pollution Research**, v.

28, n. 28, p. 38308–38321, 2021b.

PINTO, T. J. da S.; MOREIRA, R. A.; FREITAS, J. S. schmidt; DA SILVA, L. C. M.; YOSHII, M. P. C.; DE PALMA LOPES, L. F.; OGURA, A. P.; DE MELLO GABRIEL, G. V.; ROSA, L. M. T.; SCHIESARI, L.; DO CARMO, J. B.; MONTAGNER, C. C.; DAAM, M. A.; ESPINDOLA, E. L. G. Responses of *Chironomus sancticaroli* to the simulation of environmental contamination by sugarcane management practices: Water and sediment toxicity. **Science of the Total Environment**, v. 857, n. July 2022, 2023.

PELAEZ, V. M.; SILVA, L. R.; GUIMARÃES, T. A.; DAL RI, F.; TEODOROVICZ, T. A (des)coordenação de políticas para a indústria de agrotóxicos no Brasil. **Revista Brasileira de Inovação**. p. 153-178, 2015.

PINTO, T. J. da S.; MOREIRA, R. A.; SILVA, L. C. M. da; YOSHII, M. P. C.; GOULART, B. V.; FRAGA, P. D.; MONTAGNER, C. C.; DAAM, M. A.; ESPINDOLA, E. L. G. Impact of 2,4-D and fipronil on the tropical midge *Chironomus sancticaroli* (Diptera: Chironomidae). **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 209, 2021c.

PINTO, T. J. da 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. Chronic environmentally relevant levels of pesticides disrupt energy reserves, feeding rates, and life-cycle responses in the amphipod *Hyalella meinerti*. **Aquatic Toxicology**, v. 245, n. September 2021, 2022.

POTAPOV, P.; TURUBANOVA, S.; HANSEN, M. C.; TYUKAVINA, A.; ZALLES, V.; KHAN, A.; SONG, X.; PICKENS, A.; SHEN, Q.; CORTEZ, J. Global maps of cropland extent and change show accelerated cropland expansion in the twenty-first century. **Nature food**, v. 3, n. January, 2022.

PPDB, 2021a. PPDB: Pesticide Properties DataBase - Fipronil [WWW Document]. URL <http://sitem.herts.ac.uk/aeru/ppdb/en/Reports/316.htm>

PPDB, 2021b. PPDB: Pesticide Properties DataBase - 2,4-D [WWW Document]. URL <http://sitem.herts.ac.uk/aeru/ppdb/en/Reports/4.htm>

RAMASUBRAMANIAN, T.; PARAMASIVAM, M. Determination and dissipation of fipronil and its metabolites in / on sugarcane crop. **International Journal of Environmental Analytical Chemistry**, v. 00, n. 00, p. 1–16, 2017. Disponível em: <https://doi.org/10.1080/03067319.2017.1377519>.

RAVETON, M.; AAJOUND, A.; WILLISON, J.; CHERIFI, M.; TISSUT, M.; RAVANEL, P. Soil distribution of fipronil and its metabolites originating from a seed-coated formulation. v. 69, p. 1124–1129, 2007.

RELYEA, R. A. A cocktail of contaminants: How mixtures of pesticides at low concentrations affect aquatic communities. **Oecologia**, v. 159, n. 2, p. 363–376, 2009.

RICO-MARTINEZ, R.; RIVERA-DA, O. L.; GARZA-LEO, C. V.; SANTOS-MEDRANO, G. E.; ROBLES-VARGAS, D.; CARBAJAL-HERNA, A. L. **Fate and adverse effects of pesticides in the environment**. p. 65–119, 2022.

RIGOTTO, R. M.; VASCONCELOS, D. P. e; ROCHA, M. M. Uso de agrotóxicos no Brasil e problemas para a saúde pública Pesticide use in Brazil and problems for public health Uso de agrotóxicos en Brasil y los problemas para la salud pública. **Ciência e Agrotecnologia**, v. 10, n. 1, p. 101–102, 2014. Disponível em: <https://revista.francomontoro.com.br/intercienciaesociedade/article/view/57/50>.

RODRIGUES, C. S. D.; NETO, A. R.; DUDA, R. M.; OLIVEIRA, R. A. De; BOAVENTURA, R. A. R.; MADEIRA, L. M. Combination of chemical coagulation , photo-Fenton oxidation and biodegradation for the treatment of vinasse from sugar cane ethanol distillery. **Journal of Cleaner Production**, v. 142, p. 3634–3644, 2017. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.jclepro.2016.10.104>.

SANCHEZ, A. L. **Análise de risco ecológico para o diagnóstico de impactos ambientais em ecossistemas aquáticos continentais tropicais.** Dissertação (Mestrado) – Escola de Engenharia de São Carlos, Universidade de São Paulo, São Carlos, 2012.

SANCHEZ, A. L. **Avaliação de risco ecológico em cenários de contaminação por agrotóxicos: respostas de indivíduos a ecossistemas.** Tese (Doutorado) – Escola de Engenharia de São Carlos, Universidade de São Paulo, São Carlos, 2016.

SILVA, A. F. R.; LEBRON, Y. A. R.; MOREIRA, V. R.; RIBEIRO, L. A.; KOCH, K.; AMARAL, M. C. S. High-retention membrane bioreactors for sugarcane vinasse treatment : Opportunities for environmental impact reduction and wastewater valorization. **Journal of Environmental Management**, v. 329, n. September 2022, p. 117001, 2023. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.jenvman.2022.117001>>.

SILVA, A. P. da; MORAIS, E. R.; OLIVEIRA, E. C.; GHISI, N. de C. Does exposure to environmental 2, 4-dichlorophenoxyacetic acid concentrations increase mortality rate in animals? A meta-analytic review. **Environmental Pollution**, v. 303, n. March, 2022.

SILVA, L. C. M.; MOREIRA, R. A.; PINTO, T. J. S.; OGURA, A. P.; YOSHII, M. P. C.; LOPES, L. F. P.; MONTAGNER, C. C.; GOULART, B. V.; DAAM, M. A.; ESPÍNDOLA, E. L. G. Acute and chronic toxicity of 2,4-D and fipronil formulations (individually and in mixture) to the Neotropical cladoceran *Ceriodaphnia silvestrii*. **Ecotoxicology**, v. 29, n. 9, p. 1462–1475, 2020. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1007/s10646-020-02275-4>>.

SILVA, L. C. M.; MOREIRA, R. A.; PINTO, T. J. S.; VANDERLEI, M. R.; ATHAYDE, D. B.; LOPES, L. F. P.; OGURA, A. P.; YOSHII, M. P. C.; FREITAS, J. S.; MONTAGNER, C. C.; GOULART, B. V.; SCHIESARI, L.; DAAM, M. A.; ESPÍNDOLA, E. L. G. Lethal and sublethal toxicity of pesticides and vinasse used in sugarcane cultivation to *Ceriodaphnia silvestrii* (Crustacea: Cladocera). **Aquatic Toxicology**, v. 241, n. June, 2021.

SILVA, R. de O.; BARIONI, L. G.; HALL, J. A. J.; MORETTI, A. C.; FONSECA VELOSO,

R.; ALEXANDER, P.; CRESPOLINI, M.; MORAN, D. Sustainable intensification of Brazilian livestock production through optimized pasture restoration. **Agricultural Systems**, v. 153, p. 201–211, 2017. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.agsy.2017.02.001>>.

SINGH, N. S.; SHARMA, R.; SINGH, S. K.; SINGH, D. K. A comprehensive review of environmental fate and degradation of fipronil and its toxic metabolites. **Environmental Research**, v. 199, n. November 2020, p. 111316, 2021. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.envres.2021.111316>>.

SOLOMON, K. R.; HANSON, M. Mesocosms and Microcosms (Aquatic). **Encyclopedia of Toxicology**, v. 3, p. 223–226, 2014.

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

STEFFEN, W.; BROADGATE, W.; DEUTSCH, L.; GAFFNEY, O.; LUDWIG, C. The trajectory of the Anthropocene: The Great Acceleration. **Encyclopedia of the Anthropocene**, 2015.

STREISSL F. Potential role of population modeling in the regulatory context of pesticide authorization. SETAC, Pensacola, FL, USA, p 97–104, 2010.

SUAREZ, A.; GWOZDZ, W. On the relation between monocultures and ecosystem services in the Global South : A review. **Biological Conservation**, v. 278, n. November 2022, p. 109870, 2023. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.biocon.2022.109870>>.

TALLINI, K.; GUIMARÃES, L. S. P.; FACHEL, J. M. G.; RODRIGUEZ, M. T. R. Estabelecimento de Protocolo de Avaliação de Risco Ecológico em Ambiente Aquático tendo o Programa de Monitoramento do Rio Jacuí, São Jerônimo (RS). **J. Braz. Soc. Ecotoxicol.** v. 7, n 1, 55-63. 2012.

TANG, F. H. M.; LENZEN, M.; MCBRATNEY, A.; MAGGI, F. Risk of pesticide pollution at

the global scale. **Nature Geoscience**, v. 14, n. 4, p. 206–210, 2021. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1038/s41561-021-00712-5>>.

TARIGAN, S. D. Biodiversity-based ecosystem services for the management of monoculture plantation landscape using a transdisciplinary approach : a review Biodiversity-based ecosystem services for the management of monoculture plantation landscape using a transdisciplina. **IOP Conf.Ser.EarthEnviron.Sci.**, 2019.

TINGLE, C. C. D.; ROTHER, J. A.; DEWHURST, C. F.; LAUER, S.; KING, W. J. **Fipronil: Environmental Fate, Ecotoxicology, and Human Health Concerns**. [s.l: s.n.]

TODD, O. E.; FIGUEIREDO, M. R. A.; MORRAN, S.; SONI, N.; PRESTON, C.; KUBE, M. F.; NAPIER, R.; GAINES, T. A. Plant Science Synthetic auxin herbicides : fi nding the lock and key to weed resistance. v. 300, n. May, 2020.

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

UNITED STATES ENVIRONMENTAL PROTECTION AGENCY (USEPA). Guidelines for ecological risk assessment. Washington, 1998.

UNITED STATES ENVIRONMENTAL PROTECTION AGENCY. Environmental date and effects division’s risk assessment for the reregistration eligibility document for 2,4-dichlorophenoxyacetic Acid (2,4-D). Washington, 2004.

VON MÉREY, G.; MANSON, P. S.; MEHRSHEIKH, A.; PETER SUTTON; LEVINE, S. L. GLYPHOSATE AND AMINOMETHYLPHOSPHONIC ACID CHRONIC RISK ASSESSMENT FOR SOIL BIOTA. v. 35, n. 11, p. 2742–2752, 2016.

VRYZAS, Z. Pesticide fate in soil-sediment-water environment in relation to contamination preventing actions. **Current Opinion in Environmental Science & Health**, v. 4, p. 5–9, 2018. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.coesh.2018.03.001>>.

WANG, X.; DONG, X.; LIU, H.; WEI, H.; FAN, W.; LU, N.; XU, Z.; REN, J.; XING, K. Linking land use change , ecosystem services and human well-being : A case study of the Manas River Basin of Xinjiang , China. **Ecosystem Services**, v. 27, p. 113–123, 2017. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.ecoser.2017.08.013>>.

WEI, H.; FAN, W.; WANG, X.; LU, N.; DONG, X.; ZHAO, Y.; YA, X.; ZHAO, Y. Integrating supply and social demand in ecosystem services assessment: A review. **Ecosystem Services**, v. 25, p. 15–27, 2017. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.ecoser.2017.03.017>>.

WENDLAND, E.; BARRETO, C.; GOMES, L. H. Water balance in the Guarani Aquifer outcrop zone based on hydrogeologic monitoring. **Journal of Hydrology**, v. 342, n. 3–4, p. 261–269, 2007.

YEN, J.; LIN, K.; WANG, Y. Potential of the Insecticides Acephate and Methamidophos to Contaminate Groundwater. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 86, p. 79–86, 2000.

YOSHII, M. P. C. Efeitos do herbicida 2,4-D e do inseticida fipronil, isolados e em mistura, em macrófitas aquáticas e fauna associada. São Carlos, SP, 2022.

CAPÍTULO 2

Efeitos do manejo do solo em pastagens extensivas, pastagens intensivas e cultivos de cana-de-açúcar sobre a disponibilidade de metais e nutrientes em água doce: uma abordagem realística em mesocosmos

Isabele Baima Ferreira Freitas*, Paulo José Duarte Neto, Laís Fernanda de Palma Lopes, Maria Paula C. Yoshii, Lais Giroto, Gabriele Verônica de Mello Gabriel, Lais Roberta Sorigotto, Janaina Braga do Carmo, Cassiana Carolina Montagner, Luis Cesar Schiesari, Luiz Antônio Martinelli, Evaldo L. G. Espíndola

RESUMO

As mudanças no uso da terra têm levado a modificações importantes nos ecossistemas aquáticos em todo o mundo. No Brasil, pastagens extensivas estão sendo convertidas em plantações de cana-de-açúcar para evitar o desmatamento, enquanto as pastagens restantes estão sendo intensificadas para compensar a perda de área. Neste capítulo, foi testada a hipótese de que as práticas convencionais de manejo do solo conduzidas em pastagens intensivas e culturas de cana-de-açúcar aumentam a disponibilidade de contaminantes nos corpos d'água. Treze mesocosmos inseridos em sistemas de pastagem extensiva (PE), pastagem intensiva (PI) e culturas de cana-de-açúcar (C) foram monitorados por 392 dias. O monitoramento incluiu a medição de parâmetros *in-situ* (pH, oxigênio dissolvido, condutividade elétrica, turbidez e clorofila), nutrientes (nitrogênio total, nitrito, nitrato, íon amônio, fósforo total, fósforo total dissolvido, fósforo inorgânico e silicato) e metais (alumínio, cádmio, cobre, manganês, níquel, chumbo, potássio e zinco). As práticas de manejo do solo foram conduzidas nos tratamentos PI e C (lavoura, aplicação de fertilizantes, vinhaça e agrotóxicos, e pastagem do gado). Os padrões observados para cada tratamento foram obtidos a partir do desenvolvimento da Análise de Componentes Principais ao longo do tempo. Os mesocosmos no tratamento PE não apresentaram grandes variações na qualidade da água ao longo do tempo, pois não foi realizado nenhum manejo do solo nesse tratamento. No entanto, a aplicação de fertilizantes e vinhaça foi o principal precursor da deterioração da qualidade da água ao longo do tempo nos tratamentos PI e C. Após a primeira

aplicação de fertilizante, foram observadas concentrações oito e 16 vezes mais altas de fósforo total e concentrações sete e 45 vezes mais altas de nitrogênio total nos tratamentos PI e C, respectivamente, em comparação com sua concentração no tratamento PE. A aplicação de vinhaça na cultura da cana-de-açúcar aumentou a condutividade da água e as concentrações de potássio e manganês nos mesocosmos. Os valores de oxigênio dissolvido e pH diminuíram ao longo do tempo em todos os tratamentos. De modo geral, as práticas de manejo do solo resultaram em maior deterioração da qualidade da água no tratamento C do que em PI.

Palavras-chave: Mudanças no uso da terra. Vinhaça. Qualidade da água. Agricultura convencional.

1 INTRODUÇÃO

As mudanças no uso da terra têm sido precursoras da contaminação da água doce em todo o mundo (Buendia et al., 2016; Taniwaki et al., 2017). A deterioração da qualidade da água resulta principalmente do aumento da concentração de contaminantes (por exemplo, nutrientes, agrotóxicos, metais) na água (Gücker; Boëchat; Giani, 2009). Esses contaminantes são transportados de diferentes matrizes de uso da terra para os ecossistemas aquáticos e podem afetar negativamente a estrutura e a função desses ambientes (Gücker; Boëchat; Giani, 2009). A intensificação da agricultura para suprir a crescente demanda mundial por alimentos e por biocombustíveis está entre as principais causas do desmatamento e das mudanças no uso da terra (Defries; Rosenzweig, 2010). Nesse cenário, o Brasil é considerado "o celeiro do mundo", sendo o segundo maior produtor de carne bovina (FAO-STAT, 2021) e o maior produtor de etanol à base de cana-de-açúcar do mundo (Filoso et al., 2015).

As pastagens cobrem uma área de cerca de 165 milhões de hectares no Brasil (Campos; Cerri; La Scala, 2022). Esses sistemas se degradam e diminuem sua capacidade produtiva após o uso prolongado, pois não há manejo do solo (ou seja, pastagens extensivas) (Dias-Filho, 2014). Nos últimos anos, extensas áreas de pastagens degradadas estão sendo convertidas em plantações de cana-de-açúcar para evitar o desmatamento da vegetação nativa para a produção de cana-de-açúcar (Bento et al., 2018; Martinelli; Filoso, 2008). Estima-se que 90% da expansão das lavouras de cana-de-açúcar ocorrerá em áreas de pastagens degradadas (Filoso et al., 2015).

Apesar dessa vantagem, a perda de áreas de pastagem deve ser contrabalançada por um aumento em sua produtividade. Assim, os sistemas de pastagem extensivas (aporte de nutrientes baixo) tornam-se intensivos (aporte de nutrientes alto) à medida que a demanda mundial por carne bovina e biocombustíveis (por exemplo, etanol) aumenta (Cardoso et al., 2016; Silva et al., 2017; Silveira et al., 2020).

A intensificação das pastagens implica em aumento no número de animais por hectare e, para atingir uma taxa de lotação mais alta, várias práticas de manejo de pastagens devem ser implementadas, como o uso de ração suplementar, a produção de maiores quantidades de forragem, o preparo do solo e o uso de fertilizantes e agrotóxicos (Macdonald et al., 2017). Por outro lado, a produção de cana-de-açúcar se baseia em práticas agrícolas convencionais, com o preparo intensivo do solo (por exemplo, aração, gradagem e calagem) e a incorporação de fertilizantes e agrotóxicos (El Chami; Daccache; El Moujabber, 2020). Além disso, as plantações de cana-de-açúcar no Brasil são fertirrigadas com vinhaça de cana-de-açúcar, uma água residual da produção de etanol que contém um alto teor de matéria orgânica, nutrientes e metais traços em sua composição, podendo aumentar a produção primária em ecossistemas aquáticos e promover a eutrofização (Filoso et al., 2015). Como resultado do manejo do solo, diferentes contaminantes podem ser transportados para as águas superficiais, especialmente em ambientes tropicais que são afetados por chuvas fortes (Chrétien et al., 2017; Dores et al., 2016).

A conversão de pastagens em plantações de cana-de-açúcar foi relatada como um risco potencial de deterioração da qualidade da água em pequenos rios tropicais, incluindo o aumento das concentrações de nitrato e sólidos dissolvidos (Taniwaki et al., 2017). No entanto, esses impactos ainda são pouco compreendidos (Bento et al., 2021b), bem como os possíveis riscos causados pela presença de vinhaça em água doce como consequência de seu uso como biofertilizante, seu descarte inadequado e até mesmo acidentes durante seu armazenamento e transporte em fábricas (Fuess; Rodrigues; Garcia, 2017; Martinelli; Filoso, 2008). Considerando o cenário atual e futuro da intensificação das pastagens e da expansão das culturas de cana-de-açúcar no Brasil (Oliveira et al., 2019), é essencial aprimorar o conhecimento atual sobre as consequências ambientais desses dois processos de mudança de uso da terra que ocorrem simultaneamente, a fim de prever melhor os resultados e mitigar os possíveis impactos negativos. Os efeitos de diferentes etapas de manejo do solo na qualidade da água podem ser acessados por meio do monitoramento ao longo do tempo, o que inclui a quantificação de diferentes

contaminantes (por exemplo, nutrientes, metais e agrotóxicos) na água após o manejo do solo (Filoso et al., 2015).

Os experimentos em mesocosmos consideram as interações que podem existir entre os diferentes contaminantes em conjunto com os fatores abióticos e bióticos do ambiente em que estão inseridos (Daam; Van Den Brink; Nogueira, 2008; Sih; Bell; Kerby, 2004). Portanto, estudos desenvolvidos nesse tipo de unidade experimental são essenciais para avaliar o destino e o comportamento dos contaminantes nos ecossistemas e ainda são pouco explorados em escala realista (Beketov; Liess, 2012). Além disso, o desenvolvimento de estudos em condições próximas as de ambientes naturais tem maior relevância ecológica, trazendo resultados mais assertivos para o processo de tomada de decisão e a implementação de melhores práticas agrícolas (Beketov; Liess, 2012). Neste capítulo, avaliamos os efeitos do manejo convencional do solo em três tipos comuns de uso da terra no Brasil (pastagem extensiva, pastagem intensiva e culturas de cana-de-açúcar) sobre a disponibilidade de nutrientes e metais em água doce por meio da implementação de um experimento de campo conduzido em escala realista sob condições tropicais.

2 MATERIAL E MÉTODOS

2.1 Área experimental e manejo do solo

As características da área experimental e o manejo do solo conduzidos nos tratamentos PE, PI e C estão descritos no Capítulo 1/Tópico 5 desta tese. A Figura 16 resume as etapas discutidas no presente capítulo.

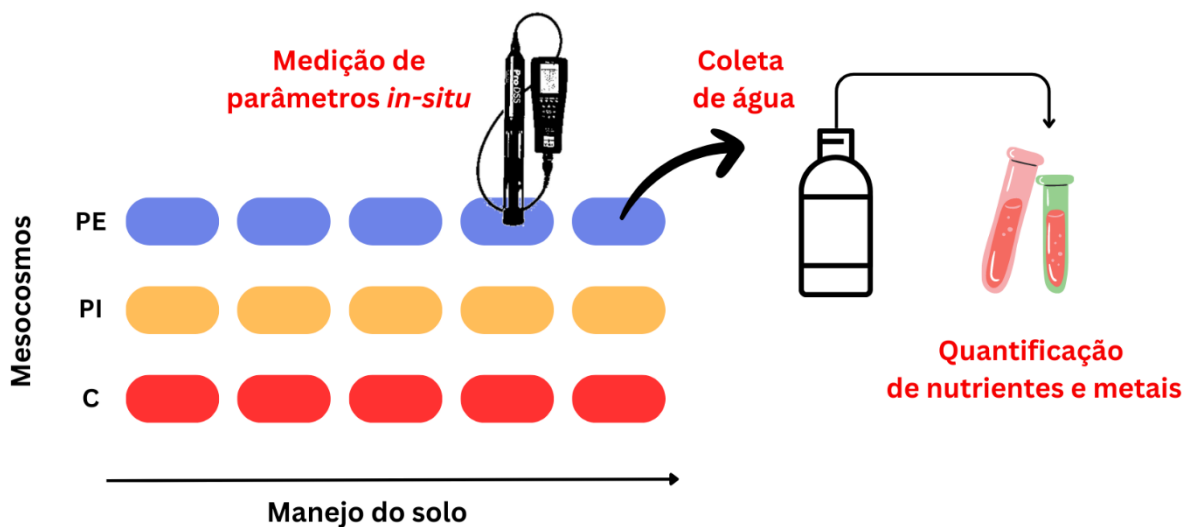


Figura 16 – Etapas discutidas no capítulo 2

2.2 Amostragem e análises químicas

As amostras de água dos mesocosmos foram coletadas e armazenadas em garrafas plásticas não tóxicas para análise de nutrientes e metais. As amostras de nutrientes foram coletadas mensalmente ou após algum tipo de manejo do solo (total de 18 amostragens). Por serem mais estáveis no ambiente (LI et al., 2019), as amostras de metais foram coletadas somente após algum tipo de manejo do solo (total de 13 amostragens). Além disso, os parâmetros *in-situ* - potencial hidrogeniônico (pH), oxigênio dissolvido (OD), condutividade elétrica (Cond) e turbidez (Turb) - foram medidos com uma sonda multiparâmetro (YSI Pro DSS), bem como a clorofila a (Cla) e b (Clb) (AquaFluor® Turner Designs), nos mesmos dias e horários das coletas de amostras de água. As amostras foram coletadas ao longo de 392 dias.

As análises de nutrientes foram realizadas por espectroscopia (Shimadzu UV-2101PC) para quantificação de nitrogênio total Kjeldahl (NT) (Kjeldahl, 1883), fósforo total (PT), fosfato total dissolvido (PTD), fosfato inorgânico total (PI) (APHA, 1995), nitrato (NO_3^-) (Mackereth et al, 1978), íon amônio (NH_4^+) (Koroleff, 1976), nitrito (NO_2^-) e silicato reativo (SiO_2) (Golterman et al., 1978). Com relação às quantificações de metais, as amostras foram submetidas à digestão ácida para a determinação de metais (APHA, 1995). Após a digestão, as concentrações de Al, Cd, Cu, Mn, Ni, Pb, Zn, Co, Ba e K foram quantificadas por espectroscopia de emissão atômica com plasma de micro-ondas (MP-AES 4200, Agilent Technologies). Os comprimentos de onda

(nm) e os limites de detecção (LOD) e quantificação (LOQ) (HAGE; CARR, 2012) estão listados na Tabela 10. O coeficiente de correlação de cada curva de calibração analítica foi maior que 0,995, e o erro máximo de calibração foi de 12%. As calibrações analíticas foram realizadas usando solução padrão multielementar (Agilent Technologies). As análises foram realizadas em quintuplicata. Os resultados analíticos foram controlados pela análise das soluções padrão simultaneamente com a análise da amostra.

Tabela 10 - Comprimento de onda da análise de metais e seus limites de detecção (LOD) e de quantificação (LOQ).

Elemento	Comprimento de onda (nm)	LOD (mg L ⁻¹)	LOQ (mg L ⁻¹)
Alumínio (Al)	396.152	8.2×10^{-7}	2.5×10^{-6}
Cádmio (Cd)	228.802	8.4×10^{-7}	2.5×10^{-6}
Cobre (Cu)	324.754	6.4×10^{-8}	2.0×10^{-7}
Manganês (Mn)	403.076	8.1×10^{-7}	2.5×10^{-6}
Níquel (Ni)	352.454	4.5×10^{-7}	1.4×10^{-6}
Chumbo (Pb)	405.781	1.5×10^{-5}	4.5×10^{-5}
Potássio (K)	766.491	7.4×10^{-7}	22.2×10^{-7}
Cobalto (Co)	340.512	$2,4 \times 10^{-6}$	$7,4 \times 10^{-6}$
Bário (Ba)	455.403	$1,5 \times 10^{-8}$	$4,7 \times 10^{-8}$
Zinco (Zn)	213.857	7.4×10^{-7}	2.3×10^{-6}

2.3 Índice de estado trófico

O índice de estado trófico (IET) dos mesocosmos foi calculado ao longo do tempo usando um modelo calibrado para melhor descrever as condições tropicais e subtropicais (Cunha; Calijuri; Condé, 2013). As Eqs. (1) e (2) foram usadas para calcular o IET final (IET_{str} – Eq. 3) em relação às concentrações de Cla e TP. As diferentes categorias de estado trófico foram identificadas de acordo com os valores do IET_{str}, em que: $\leq 51,1$ (ultraoligotrófico), 51,2-53,1 (oligotrófico), 53,2-55,7 (mesotrófico), 55,8-58,1 (eutrófico), 58,2-59,0 (supereutrófico) e $\geq 59,1$ (hipereutrófico).

$$IET(Cl_a)_{tsr} = 10 \times \left[6 - \left(\frac{-0.2512 \ln Cl_a + 0.842257}{\ln 2} \right) \right] \quad (1)$$

$$IET(TP)_{tsr} = 10 \times \left[6 - \left(\frac{-0.27637 \ln TP + 1.329766}{\ln 2} \right) \right] \quad (2)$$

$$IET_{tsr} = \frac{TSI(Cl_a)_{tsr} + TSI(TP)_{tsr}}{2} \quad (3)$$

em que:

IET (Cl_a)_{tsr}: Índice de estado trófico para reservatórios tropicais/subtropicais em relação às concentrações de Cl_a (μg L⁻¹);

IET (TP)_{tsr}: Índice de estado trófico para reservatórios tropicais/subtropicais em relação às concentrações de TP (μg L⁻¹);

IET_{tsr}: Índice de estado trófico final para reservatórios tropicais/subtropicais.

2.4 Análises estatísticas

As análises estatísticas foram realizadas utilizando o *software* estatístico R versão 4.0.0 (R CORE TEAM, 2022) com a aplicação do Rstudio versão 2022.02.0+443 © 2009-2022. Depois de obter os parâmetros abióticos dos mesocosmos, a estratégia foi rastrear a variabilidade temporal e espacial dos dados a partir de uma perspectiva multidimensional. Para atingir esse objetivo, a análise de componentes principais foi aplicada separadamente aos parâmetros *in-situ*, nutrientes e metais para descrever a variação dos dados com menos dimensões e facilitar sua interpretação.

A análise foi realizada usando o pacote "FactoMineR" (Le; Josse; Husson, 2008). Os componentes significativos para a representação dos dados foram determinados pela Análise *Parallel* usando o pacote "Psyc" (Revelle, 2022). A soma das componentes principais (CP) retidas pela análise paralela foi considerada quando este valor foi maior que 50%. Caso contrário, adicionamos os CPs até que a contribuição atingisse esse valor. Em seguida, os *scores*

de cada fator foram transformados graficamente para visualização usando o pacote "Factoextra" (Kassambara e Mundt, 2020).

Os gráficos de *scores* das CPs para avaliação temporal de cada mesocosmo individualmente e os *scores* médios ao longo do tempo para cada tratamento foram preparados usando o pacote "ggplot2" (Wickham, 2016). Os pontos dos gráficos foram conectados em um caminho temporal e os eventos foram destacados de acordo com suas abreviações (Tabela 11) para observar possíveis tendências de dados. Os mesocosmos PE5 e C3 foram desconsiderados nas análises, pois foram perdidos ao longo do período experimental.

Os Modelos Lineares Mistos Generalizados (GLMM) foram usados para verificar as diferenças estatísticas entre os tratamentos de acordo com a variação média de suas componentes principais ao longo do tempo. As CPs retidas para cada conjunto de dados (parâmetros *in-situ*, nutrientes e metais) foram usados como variáveis respostas nos modelos. O tempo foi considerado um efeito aleatório. A análise GLMM foi realizada usando o pacote "lme4" (Bates et al., 2015), considerando a pastagem extensiva como o tratamento de referência em um nível de significância de 5%. As CPs foram modeladas usando distribuição gaussiana e função de ligação de identidade. A variabilidade dos dados e a estrutura dos modelos usados foram verificadas pelo diagnóstico dos resíduos.

Tabela 11 – Etapas de manejo do solo realizadas nos tratamentos de pastagem extensiva (PE), pastagem intensiva (PI) e cana-de-açúcar (C) durante os dois ciclos da cana-de-açúcar, que incluem: a data de amostragem; o evento realizado e seu respectivo tratamento; e a abreviação do evento.

Ciclo da cana	Coleta	Evento	Tratamento	Abreviação
1°	1 (11/12/18)	Fertilizante	PI/C	a
	2 (18/12/18)	Fipronil	C	b
	3 (16/01/19)	-	-	-
	4 (04/02/19)	2,4-D	PI/C	c
	5 (07/03/20)	-	-	-
	6 (07/04/20)	-	-	-
	7 (08/05/19)	Pastagem	PE/PI	d
	8 (04/06/19)	-	-	-
	9 (16/07/19)	-	-	-
	10 (06/08/19)	2,4-D	PI	e
	11 (05/09/19)	-	-	-
	12 (15/10/19)	-	-	-
	13 (22/10/19)	Corte da cana	C	f
2°	14 (30/10/19)	Fertilizante	PI/C	g
	15 (11/11/19)	Vinhaça	C	h
	16 (26/11/19)	Fipronil	C	i
	17 (10/12/19)	2,4-D	PI/C	j
	18 (10/01/20)	Pastagem	PE/PI	k

3 RESULTADOS

3.1 Parâmetros *in situ*

Os valores médios, máximos e mínimos dos parâmetros medidos *in situ* para os tratamentos PE, PI e C, bem como os valores de referência para água doce disponíveis na CONAMA 357 (BRASIL, 2005), estão descritos nas Tabela 12, 13 e 14, respectivamente.

Tabela 12 – Valores médios dos parâmetros medidos *in situ* para o tratamento de pasto extensivo (PE) por coleta. Os valores máximos e mínimos registrados também estão descritos. Os valores de referência são os disponíveis na CONAMA 357 (BRASIL, 2005) para corpos d'água Classe 1. a = após fertilizante (PI/C); b = após fipronil (C); c = após 2,4-D (PI/C); d = após pastagem (PE/PI); e = após 2,4-D (PI); f = após fertilizante (PI/C); g = após corte da cana (C); h = após vinhaça (C); i = após fipronil (C); j = após 2,4-D (PI/C); e k = após pastagem (PE/PI).

Coleta	Evento	pH	Cond	DO	Turb	Cla	C1b
			$\mu\text{S cm}^{-1}$	mg L^{-1}	UNT	$\mu\text{g L}^{-1}$	$\mu\text{g L}^{-1}$
Referência		6 a 9	<100	≥ 6	40	10	-
1 (11/12/18)	a	6,80	17,03	5,95	21,75	7,49	5,16
2 (18/12/18)	b	6,54	17,58	4,63	7,47	6,38	8,88
3 (16/01/19)	-	5,65	7,15	4,98	3,99	5,77	3,68
4 (04/02/19)	c	5,46	6,30	4,83	6,35	7,94	7,55
5 (07/03/20)	-	5,18	5,23	3,91	3,92	4,56	7,00
6 (07/04/20)	-	5,17	5,35	3,66	2,38	2,02	2,22
7 (08/05/19)	d	5,18	5,75	3,48	3,89	4,86	5,99
8 (04/06/19)	-	6,34	5,95	4,68	1,77	4,39	3,74
9 (16/07/19)	-	4,66	5,48	5,28	1,44	2,23	3,29
10 (06/08/19)	e	5,26	5,90	5,45	2,13	7,76	12,24
11 (05/09/19)	-	6,02	7,13	2,29	11,81	9,31	9,17
12 (15/10/19)	-	5,39	9,80	1,90	7,65	7,10	9,64
13 (22/10/19)	f	5,57	10,00	3,57	13,38	57,45	51,94
14 (30/10/19)	g	5,71	11,40	1,63	21,20	56,28	46,16
15 (11/11/19)	h	5,72	9,43	1,61	3,03	49,48	30,68
16 (26/11/19)	i	5,85	9,25	2,01	10,65	15,31	16,53
17 (10/12/19)	j	5,90	9,98	1,32	5,84	5,22	7,68
18 (10/01/20)	k	5,86	8,00	1,04	2,78	4,76	10,87
Valor mínimo		4,38	4,20	0,15	0,44	0,25	0,60
Valor máximo		7,40	20,90	6,90	41,00	168,28	108,86

Tabela 13 - Valores médios dos parâmetros medidos *in situ* para o tratamento de pasto intensivo (PI) por coleta. Os valores máximos e mínimos registrados também estão descritos. Os valores de referência são os disponíveis na CONAMA 357 (BRASIL, 2005) para corpos d'água Classe 1. a = após fertilizante (PI/C); b = após fipronil (C); c = após 2,4-D (PI/C); d = após pastagem (PE/PI); e = após 2,4-D (PI); f = após fertilizante (PI/C); g = após corte da cana (C); h = após vinhaça (C); i = após fipronil (C); j = após 2,4-D (PI/C); e k = após pastagem (PE/PI).

Coleta	Evento	pH	Cond	DO	Turb	Cla	Clb
			$\mu\text{S cm}^{-1}$	mg L^{-1}	UNT	$\mu\text{g L}^{-1}$	$\mu\text{g L}^{-1}$
Referência		6 a 9	<100	≥ 6	40	10	-
1 (11/12/18)	a	7,24	53,08	6,52	52,00	16,21	11,72
2 (18/12/18)	b	7,33	44,96	5,38	21,89	14,63	16,36
3 (16/01/19)	-	5,93	20,06	3,92	6,86	7,82	5,44
4 (04/02/19)	c	5,72	16,15	3,72	7,25	12,92	5,28
5 (07/03/20)	-	5,68	9,38	2,69	5,89	7,80	3,67
6 (07/04/20)	-	5,35	9,94	2,61	5,92	2,26	1,26
7 (08/05/19)	d	5,19	10,90	2,68	4,42	10,94	6,45
8 (04/06/19)	-	5,08	9,80	3,66	3,39	4,84	5,66
9 (16/07/19)	-	5,14	10,96	4,35	6,67	2,92	2,69
10 (06/08/19)	e	5,38	12,48	4,52	15,15	3,97	5,40
11 (05/09/19)	-	5,93	16,74	1,76	24,74	9,67	9,07
12 (15/10/19)	-	5,48	14,72	2,57	15,45	10,35	12,02
13 (22/10/19)	f	5,88	16,42	3,20	8,55	35,79	31,11
14 (30/10/19)	g	5,88	50,12	1,95	9,91	37,96	25,63
15 (11/11/19)	h	5,84	29,62	1,80	18,79	17,01	10,87
16 (26/11/19)	i	5,89	18,32	2,65	18,44	15,21	12,96
17 (10/12/19)	j	5,90	15,98	0,86	8,70	7,72	4,99
18 (10/01/20)	k	6,19	30,32	0,33	11,17	6,42	8,70
Valor mínimo		4,51	2,49	0,08	0,76	0,52	0,29
Valor máximo		8,83	90,30	9,10	170,00	116,68	76,16

Tabela 14 - Valores médios dos parâmetros medidos *in situ* para o tratamento de cana-de-açúcar (C) por coleta. Os valores máximos e mínimos registrados também estão descritos. Os valores de referência são os disponíveis na CONAMA 357 (BRASIL, 2005) para corpos d'água Classe 1. a = após fertilizante (PI/C); b = após fipronil (C); c = após 2,4-D (PI/C); d = após pastagem (PE/PI); e = após 2,4-D (PI); f = após fertilizante (PI/C); g = após corte da cana (C); h = após vinhaça (C); i = após fipronil (C); j = após 2,4-D (PI/C); e k = após pastagem (PE/PI).

Coleta	Evento	pH	Cond	DO	Turb	Cla	Clb
			$\mu\text{S cm}^{-1}$	mg L^{-1}	UNT	$\mu\text{g L}^{-1}$	$\mu\text{g L}^{-1}$
Referência		6 a 9	<100	≥ 6	40	10	-
1 (11/12/18)	a	7,70	96,35	8,51	26,25	17,76	9,58
2 (18/12/18)	b	6,21	81,58	5,44	8,36	17,09	25,75
3 (16/01/19)	-	6,06	44,05	4,49	5,47	6,45	4,62
4 (04/02/19)	c	5,94	36,65	4,43	4,37	5,85	5,04
5 (07/03/20)	-	5,64	17,55	3,19	4,19	5,47	7,38
6 (07/04/20)	-	5,44	15,45	2,39	5,73	6,22	7,69
7 (08/05/19)	d	5,11	13,30	3,02	3,17	9,44	10,61
8 (04/06/19)	-	6,07	7,18	4,26	4,95	6,75	8,86
9 (16/07/19)	-	5,40	10,88	5,00	2,76	4,30	4,29
10 (06/08/19)	e	5,18	10,83	5,38	2,57	10,48	10,85
11 (05/09/19)	-	5,88	19,65	1,01	23,75	6,65	5,92
12 (15/10/19)	-	5,72	14,75	2,36	6,48	9,42	11,20
13 (22/10/19)	f	6,04	14,00	2,84	33,36	22,61	33,88
14 (30/10/19)	g	5,84	13,48	1,65	9,67	14,89	30,28
15 (11/11/19)	h	6,01	38,43	0,99	29,44	24,42	24,28
16 (26/11/19)	i	6,39	25,18	2,07	14,76	16,34	17,51
17 (10/12/19)	j	6,13	20,28	0,55	8,24	16,47	17,22
18 (10/01/20)	k	5,90	13,20	0,91	5,49	17,16	19,51
Valor mínimo		4,65	5,70	0,04	0,65	0,43	0,65
Valor máximo		8,7	213,70	9,05	86,59	50,20	86,59

O pH diminuiu ao longo do tempo, atingindo valores entre 4,0 e 6,0 em todos os tratamentos. Similarmente ao pH, o OD também diminuiu ao longo das coletas em todos os tratamentos, alcançando valores próximos a 0 mg L^{-1} a partir da coleta 8, coincidindo também com o sombreamento completo dos mesocosmos por macrófitas aquáticas (Figura 17). Os

valores máximos de Cond foram observados após a aplicação de fertilizantes (tratamentos PI e C) e vinhaça (tratamento C). Após a aplicação do fertilizante no primeiro ciclo (evento a), o mesocosmo PI4 (tratamento PI) e C1 (tratamento C) apresentaram os valores máximos de Cond, $88,20 \mu\text{S cm}^{-1}$ e $213,7 \mu\text{S cm}^{-1}$, respectivamente, enquanto o valor máximo no tratamento PE ($18,0 \mu\text{S cm}^{-1}$) foi observado no mesocosmo PE1 (Figura 18). Após a segunda aplicação de fertilizantes (evento g), a Cond máxima foi observada no mesocosmo PI4 ($90,3 \mu\text{S cm}^{-1}$) para o tratamento PI, no mesocosmo C4 ($18,4 \mu\text{S cm}^{-1}$) para o tratamento C e no mesocosmo PE3 ($20,9 \mu\text{S cm}^{-1}$) para o tratamento PE. Após a aplicação de vinhaça de cana-de-açúcar (evento h), os mesocosmos C3 ($73,2 \mu\text{S cm}^{-1}$) e C4 ($59,5 \mu\text{S cm}^{-1}$) apresentaram maiores valores de Cond em relação aos mesocosmos C1 ($9,4 \mu\text{S cm}^{-1}$) e C2 ($18,4 \mu\text{S cm}^{-1}$), os quais não receberam aplicação de vinhaça.

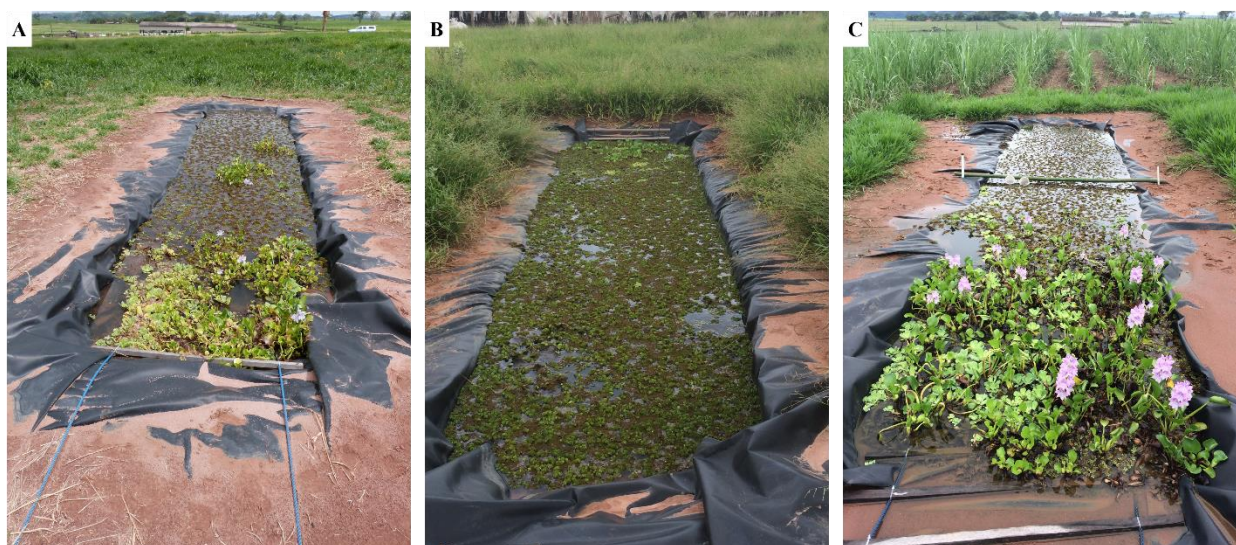


Figura 17 - Mesocosmos cobertos por macrófitas aquáticas (registros fotográficos realizados em junho de 2019): **A)** Pastagem Extensiva (PE); **B)** Pastagem Intensiva (PI); e **C)** Cana-de-açúcar (C).

Fonte: Evaldo Espíndola (2019)

As concentrações máximas de *Cla* e *Clb* foram maiores no tratamento PE ($168,68$ e $108,86 \mu\text{g L}^{-1}$, respectivamente) em comparação com os tratamentos PI ($116,68$ e $76,16 \mu\text{g L}^{-1}$, respectivamente) e C ($50,20$ e $77,98 \mu\text{g L}^{-1}$, respectivamente). Esses valores foram registrados principalmente após o início da estação chuvosa no segundo ciclo (entre os eventos f e g) em

todos os tratamentos. Quanto aos valores máximos de Turb, estes foram registrados após eventos com maior precipitação.

Com relação à análise de componentes principais, os dois primeiros componentes principais (CP1 e CP2) foram retidos pela análise *Parallel* (Apêndice A1) para explicar a variância dos dados originais dos parâmetros *in-situ* (CP1 + CP2= 56,4%). A CP1 explicou 33,5% da variância dos dados (positivamente relacionadas a Cla, Clb e Turb), enquanto a CP2 explicou 22,9% (positivamente relacionadas ao OD, pH e Cond) (Apêndice A2 e A3). Foram observadas diferenças estatisticamente significativas ($p < 0,05$) entre o tratamento C e o intercepto (tratamento PE) para CP1 (Cla, Clb, Turb); e entre os tratamentos PI e C e o intercepto (tratamento PE) para CP2 (DO, pH, Cond) (Tabela 15). O efeito aleatório do tempo explicou 97,51% e 55,56% da variabilidade nos dados para CP1 e CP2, respectivamente. A distribuição gaussiana e a função de ligação de identidade foram consideradas adequadas para CP1 (Apêndice A4) e CP2 (Apêndice A5). A análise de componente principal para os avaliação do comportamento dos parâmetros *in-situ* ao longo do tempo estão representados por mesocosmos na Figura 18.

Tabela 15 - Resultados do Modelo Misto Linear (LMM) avaliando os efeitos dos tratamentos de pastagem extensiva (PE - intercepto), pastagem intensiva (PI) e cana-de-açúcar (C) na série temporal de experimentos para as variáveis resposta CP1 e CP2 dos parâmetros *in-situ*. A CP1 está relacionada à clorofila a (Cla), clorofila b (Clb) e turbidez (Turb); a CP2 está relacionada ao oxigênio dissolvido (OD), ao pH e à condutividade elétrica (Cond).

Variável resposta	Efeitos fixos	Estimate	Desvio padrão	p-valor
CP1	(Intercepto)	-0.128	0.263	0.627
	Tratamento PI	0.02	0.164	0.901
	Tratamento C	0.39	0.173	0.025*
CP2	(Intercepto)	-0.48	0.203	0.019*
	Tratamento PI	0.802	0.137	0.000*
	Tratamento C	0.557	0.144	0.000*

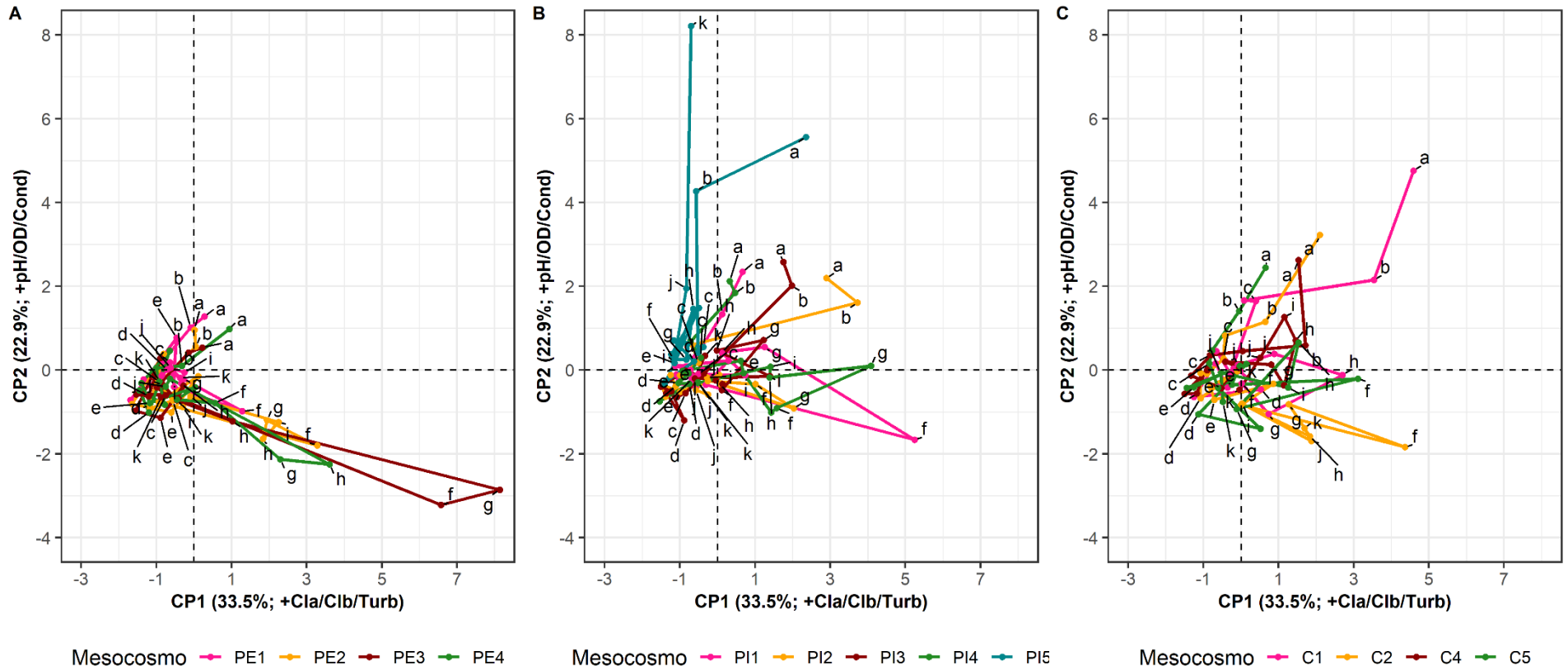


Figura 18 - Componente Principal 1 (CP1) *versus* Componente Principal 2 (CP2) de parâmetros *in-situ* por mesocosmo: **A)** pastagem extensiva (PE); **B)** pastagem intensiva (PI); e **C)** cana-de-açúcar (C). A CP1 está positivamente relacionada à Cla/Clb/Turb, e a CP2 está positivamente relacionada ao pH/OD/Cond. Cada coleta foi conectada em um caminho ao longo do tempo, e os eventos foram destacados de acordo com suas abreviações. Cla = clorofila a; Clb = clorofila b; Turb = turbidez; OD = oxigênio dissolvido; pH = potencial hidrogênio; Cond = condutividade elétrica; a = após fertilizante (PI/C); b = após fipronil (C); c = após 2,4-D (PI/C); d = após pastagem (PE/PI); e = após 2,4-D (PI); f = após fertilizante (PI/C); g = após corte da cana (C); h = após vinhaça (C); i = após fipronil (C); j = após 2,4-D (PI/C); e k = após pastagem (PE/PI).

3.2 Nutrientes

Os valores médios, máximos e mínimos dos nutrientes para os tratamentos PE, PI e C, bem como os valores de referência para água doce disponíveis na CONAMA 357 (BRASIL, 2005), estão descritos nas Tabela 16, 17 e 18, respectivamente.

Tabela 16 - Valores médios, máximos e mínimos dos nutrientes para o tratamento de pasto extensivo (PE) por coleta. Os valores de referência são os disponíveis na CONAMA 357 (BRASIL, 2005) para corpos d'água Classe 1. a = após fertilizante (PI/C); b = após fipronil (C); c = após 2,4-D (PI/C); d = após pastagem (PE/PI); e = após 2,4-D (PI); f = após fertilizante (PI/C); g = após corte da cana (C); h = após vinhaça (C); i = após fipronil (C); j = após 2,4-D (PI/C); e k = após pastagem (PE/PI).

Coleta	Evento	NT	NO ₂ ⁻	NO ₃ ⁻	NH ₄ ⁺	PT	PDT	PI	SiO ₂
		mg L ⁻¹							
Referência		1,27	1,0	10,0		0,02			
1 (11/12/18)	a	0,64	0,00	0,04	0,01	0,06	0,05	0,02	1.32
2 (18/12/18)	b	0,41	0,00	0,06	0,06	0,11	0,04	0,02	1.13
3 (16/01/19)	-	0,61	0,00	0,03	0,01	0,04	0,02	0,01	0.56
4 (04/02/19)	c	1,11	0,00	0,04	0,01	0,02	0,02	0,01	0.41
5 (07/03/20)	-	0,87	0,00	0,02	0,02	0,02	0,01	0,01	0.20
6 (07/04/20)	-	0,84	0,00	0,03	0,05	0,03	0,02	0,01	0.03
7 (08/05/19)	d	0,51	0,00	0,01	0,02	0,07	0,03	0,01	0.22
8 (04/06/19)	-	0,39	0,00	0,01	0,01	0,06	0,02	0,01	0.20
9 (16/07/19)	-	0,89	0,00	0,06	0,04	0,05	0,03	0,01	0.11
10 (06/08/19)	e	0,84	0,00	0,28	0,18	0,13	0,03	0,02	0.07
11 (05/09/19)	-	1,06	0,00	0,05	0,17	0,09	0,05	0,03	0.04
12 (15/10/19)	-	1,16	0,00	0,90	0,03	0,11	0,03	0,02	0.15
13 (22/10/19)	f	1,21	0,00	0,49	0,03	0,08	0,03	0,02	0.12
14 (30/10/19)	g	0,90	0,00	0,09	0,02	0,08	0,03	0,02	0.19
15 (11/11/19)	h	1,05	0,00	0,13	0,01	0,18	0,03	0,01	0.57
16 (26/11/19)	i	1,03	0,00	0,06	0,02	0,09	0,03	0,02	0.31
17 (10/12/19)	j	0,98	0,00	0,04	0,02	0,06	0,02	0,01	0.76
18 (10/01/20)	k	1,11	0,00	0,05	0,01	0,12	0,02	0,01	0.79
Valor mínimo		0,23	0,002	0,01	0	0	0,01	0	0,01
Valor máximo		1,54	0,007	1,39	0,37	0,21	0,07	0,05	1,73

Tabela 17 - Valores médios, máximos e mínimos dos nutrientes para o tratamento de pasto intensivo (PI) por coleta. Os valores de referência são os disponíveis na CONAMA 357 (BRASIL, 2005) para corpos d'água Classe 1. a = após fertilizante (PI/C); b = após fipronil (C); c = após 2,4-D (PI/C); d = após pastagem (PE/PI); e = após 2,4-D (PI); f = após fertilizante (PI/C); g = após corte da cana (C); h = após vinhaça (C); i = após fipronil (C); j = após 2,4-D (PI/C); e k = após pastagem (PE/PI).

Coleta	Evento	NT	NO ₂ ⁻	NO ₃ ⁻	NH ₄ ⁺	PT	PDT	PI	SiO ₂
		mg L ⁻¹							
Referência		1,27	1,0	10,0		0,02			
1 (11/12/18)	a	0,68	0,0049	0,04	0,02	0,45	0,36	0,35	2,64
2 (18/12/18)	b	0,92	0,0048	0,06	0,03	0,44	0,33	0,22	2,32
3 (16/01/19)	-	1,24	0,0010	0,01	0,10	0,06	0,02	0,02	0,31
4 (04/02/19)	c	0,88	0,0013	0,03	0,04	0,06	0,02	0,01	0,75
5 (07/03/20)	-	0,83	0,0005	0,03	0,06	0,06	0,02	0,01	0,51
6 (07/04/20)	-	0,94	0,0009	0,02	0,05	0,08	0,02	0,01	0,05
7 (08/05/19)	d	0,86	0,0008	0,02	0,03	0,10	0,03	0,01	0,25
8 (04/06/19)	-	0,82	0,0018	0,01	0,02	0,07	0,02	0,01	0,28
9 (16/07/19)	-	0,97	0,0011	0,05	0,09	0,07	0,03	0,02	0,19
10 (06/08/19)	e	0,94	0,0012	0,01	0,07	0,16	0,02	0,01	0,08
11 (05/09/19)	-	1,47	0,0024	0,05	0,20	0,15	0,07	0,04	0,13
12 (15/10/19)	-	1,57	0,0031	0,19	0,04	0,15	0,05	0,04	0,31
13 (22/10/19)	f	1,42	0,0029	0,12	0,05	0,12	0,04	0,03	0,16
14 (30/10/19)	g	2,20	0,0036	0,36	0,21	0,53	0,30	0,28	0,32
15 (11/11/19)	h	1,37	0,0026	0,05	0,04	0,26	0,05	0,03	0,28
16 (26/11/19)	i	1,31	0,0020	0,02	0,02	0,19	0,08	0,05	0,30
17 (10/12/19)	j	1,11	0,0037	0,07	0,02	0,18	0,04	0,02	0,92
18 (10/01/20)	k	1,30	0,0035	0,06	0,02	0,19	0,07	0,05	1,03
Valor mínimo		0,37	0,0003	0,01	0,01	0,03	0,01	0	0,02
Valor máximo		4,43	0,01	1,18	0,55	1,14	0,85	0,84	3,55

Tabela 18 - Valores médios, máximos e mínimos dos nutrientes para o tratamento de cana-de-açúcar (C) por coleta. Os valores de referência são os disponíveis na CONAMA 357 (BRASIL, 2005) para corpos d'água Classe 1. a = após fertilizante (PI/C); b = após fipronil (C); c = após 2,4-D (PI/C); d = após pastagem (PE/PI); e = após 2,4-D (PI); f = após fertilizante (PI/C); g = após corte da cana (C); h = após vinhaça (C); i = após fipronil (C); j = após 2,4-D (PI/C); e k = após pastagem (PE/PI).

Coleta	Evento	NT	NO ₂ ⁻	NO ₃ ⁻	NH ₄ ⁺	PT	PDT	PI	SiO ₂
		mg L ⁻¹							
Referência		1,27	1,0	10,0		0,02			
1 (11/12/18)	a	0,93	0,00	0,03	0,03	1,03	0,98	0,70	3,05
2 (18/12/18)	b	0,39	0,00	0,05	0,02	0,97	0,85	0,64	0,94
3 (16/01/19)	-	1,12	0,00	0,01	0,10	0,70	0,36	0,35	0,30
4 (04/02/19)	c	0,87	0,00	0,03	0,01	0,33	0,30	0,25	1,17
5 (07/03/20)	-	1,16	0,00	0,03	0,04	0,22	0,17	0,15	0,53
6 (07/04/20)	-	1,06	0,00	0,03	0,02	0,18	0,08	0,07	0,13
7 (08/05/19)	d	0,95	0,00	0,02	0,03	0,39	0,09	0,06	0,31
8 (04/06/19)	-	0,75	0,00	0,01	0,01	0,18	0,05	0,03	0,24
9 (16/07/19)	-	1,52	0,00	0,07	0,11	0,14	0,05	0,03	0,14
10 (06/08/19)	e	0,98	0,00	0,01	0,22	0,26	0,05	0,03	0,10
11 (05/09/19)	-	1,54	0,00	0,05	0,18	0,16	0,08	0,06	0,03
12 (15/10/19)	-	1,79	0,00	0,13	0,03	0,19	0,06	0,04	0,18
13 (22/10/19)	f	1,62	0,00	0,14	0,03	0,20	0,06	0,05	0,14
14 (30/10/19)	g	1,86	0,00	0,06	0,03	0,25	0,07	0,06	0,20
15 (11/11/19)	h	1,17	0,00	0,04	0,04	0,39	0,05	0,02	0,45
16 (26/11/19)	i	1,34	0,00	0,03	0,03	0,22	0,07	0,03	0,31
17 (10/12/19)	j	1,53	0,00	0,04	0,04	0,24	0,06	0,03	0,94
18 (10/01/20)	k	1,51	0,00	0,03	0,02	0,19	0,05	0,03	0,79
Valor mínimo		0,23	0,0002	0,01	0	0,01	0,02	0	0,01
Valor máximo		3,13	0,006	0,34	0,39	3,25	3,14	2,09	4,22

As concentrações máximas de PT, PDT e PI foram observadas após a aplicação do fertilizante no primeiro ciclo (evento a) e no segundo ciclo (evento g) para os tratamentos PI e C, enquanto no tratamento PE as concentrações desses nutrientes permaneceram estáveis durante todo o período experimental. Após a aplicação do fertilizante no primeiro ciclo (evento a), os

mesocosmos PI4 (tratamento PI) e C1 (tratamento C) apresentaram concentrações máximas de PT, PDT e PI: 0,87; 0,85; 0,83 mg L⁻¹ e 3,2; 3,13; 2,09 mg L⁻¹, respectivamente; enquanto os valores máximos no tratamento PE (0,08; 0,06; 0,02 mg L⁻¹, respectivamente) foram observados no mesocosmo PE4 (Figura 19). Após a aplicação do fertilizante no segundo ciclo (evento g), as concentrações máximas de PT, PDT e PI foram observadas no mesocosmo PI4 (1,14; 0,81; 0,75 mg L⁻¹, respectivamente) para o tratamento PI; no mesocosmo C2 (0,38; 0,05; 0,04 mg L⁻¹, respectivamente) para o tratamento C. Em contrapartida, as concentrações máximas para o tratamento PE foram registradas no mesocosmo PE3 (0,09; 0,01; 0,01 mg L⁻¹, respectivamente), mas se mantiveram muito abaixo em comparação com os outros tratamentos (Figura 19).

As concentrações mais altas de NT foram observadas após a segunda aplicação de fertilizante (evento g) nos mesocosmos do tratamento PI (1,35; 1,31; 2,66; 4,43; 1,26 mg L⁻¹ para PI1, PI2, PI3, PI4 e PI5, respectivamente) e C (1,77; 2,15; 1,54; 1,96 mg L⁻¹ para C1, C2, C3 e C4, respectivamente) em comparação com os mesocosmos do tratamento PE (0,93, 0,93, 0,79, 0,93 mg L⁻¹ para PE1, PE2, PE3 e PE4, respectivamente). As maiores concentrações de NH₄⁺ no tratamento PE foram observadas no evento "e" no mesocosmo PE2 (0,37 mg L⁻¹) (Figura 19A). No tratamento PI, as concentrações máximas de NH₄⁺ foram observadas após a segunda aplicação de fertilizante (evento g) nos mesocosmos PI3 (0,55 mg L⁻¹) e PI4 (0,36 mg L⁻¹) (Figura 19B). No tratamento C, as maiores concentrações de NH₄⁺ foram observadas no evento "e" (0,38; 0,19; 0,17; 0,11 mg L⁻¹ para C1, C2, C3 e C4, respectivamente) (Figura 19C). As concentrações mais altas de NO₃⁻ foram registradas no tratamento PE: nas coletas 12 (1,26 mg L⁻¹) e 13 (1,35 mg L⁻¹) no mesocosmo PE1; na coleta 12 nos mesocosmos PE2 (1,38 mg L⁻¹) e PE4 (0,76 mg L⁻¹); e na amostragem 10 no mesocosmo PE3 (1,10 mg L⁻¹), coincidindo com o final do período seco.

Com relação à análise de componentes principais, as três primeiras componentes principais (CP1, CP2, CP3) foram retidas pela análise *Parallel* (Apêndice A6) para explicar a variância dos dados originais dos nutrientes (CP1 + CP2 + CP3 = 73,8%). A CP1 (positivamente relacionada a PT, PDT e PI), a CP2 (positivamente relacionada a NT, NH₄⁺, NO₂⁻ e NO₃⁻) e a CP3 (positivamente relacionada a NO₂⁻ e SiO₂) representam 37,7, 20,7 e 15,4% da variabilidade dos dados originais, respectivamente (Apêndice A7 e A8). Foram observadas diferenças estatisticamente significativas ($p < 0,05$) entre os tratamentos PI e C e o intercepto (tratamento PE) para CP1 (PT, PDT e PI) e CP2 (NT, NH₄⁺, NO₂⁻ e NO₃⁻); e entre o tratamento PI e o

intercepto (tratamento PE) para CP3 (NO_2^- e SiO_2) (Tabela 19). O efeito aleatório do tempo explicou 44,45%, 70,50% e 53,12% da variabilidade dos dados para CP1, CP2 e CP3, respectivamente. A distribuição gaussiana e a função de ligação identidade foram consideradas apropriadas para CP1 (Apêndice 9), CP2 (Apêndice 10) e CP3 (Apêndice 11). A análise de componente principal para os avaliação do comportamento dos nutrientes ao longo do tempo estão representados por mesocosmos na Figura 19.

Tabela 19 - Resultados do Modelo Misto Linear (LMM) avaliando os efeitos dos tratamentos de pastagem extensiva (PE - intercepto), pastagem intensiva (PI) e cana-de-açúcar (C) na série temporal de experimentos para as variáveis resposta CP1, CP2 e CP3 dos nutrientes. A CP1 está relacionada ao fósforo total (PT); fósforo total dissolvido (PTD); fósforo inorgânico total (PI), a CP2 está relacionada ao nitrogênio total (NT); íon amônio (NH_4^+); nitrito (NO_2^-); nitrato (NO_3^-) e a CP3 está relacionado ao nitrito (NO_2^-) e silicato (SiO_2).

Variável resposta	Efeitos fixos	Estimate	Desvio padrão	p-valor
CP1	(Intercepto)	-0.56	0.242	0.021*
	Tratamento PI	0.538	0.246	0.030*
	Tratamento C	1.149	0.26	0.000*
CP2	(Intercepto)	-0.238	0.23	0.302
	Tratamento PI	0.358	0.156	0.023*
	Tratamento C	0.325	0.165	0.050*
CP3	(Intercepto)	-0.206	0.198	0.301
	Tratamento PI	0.403	0.133	0.003*
	Tratamento C	0.165	0.14	0.242

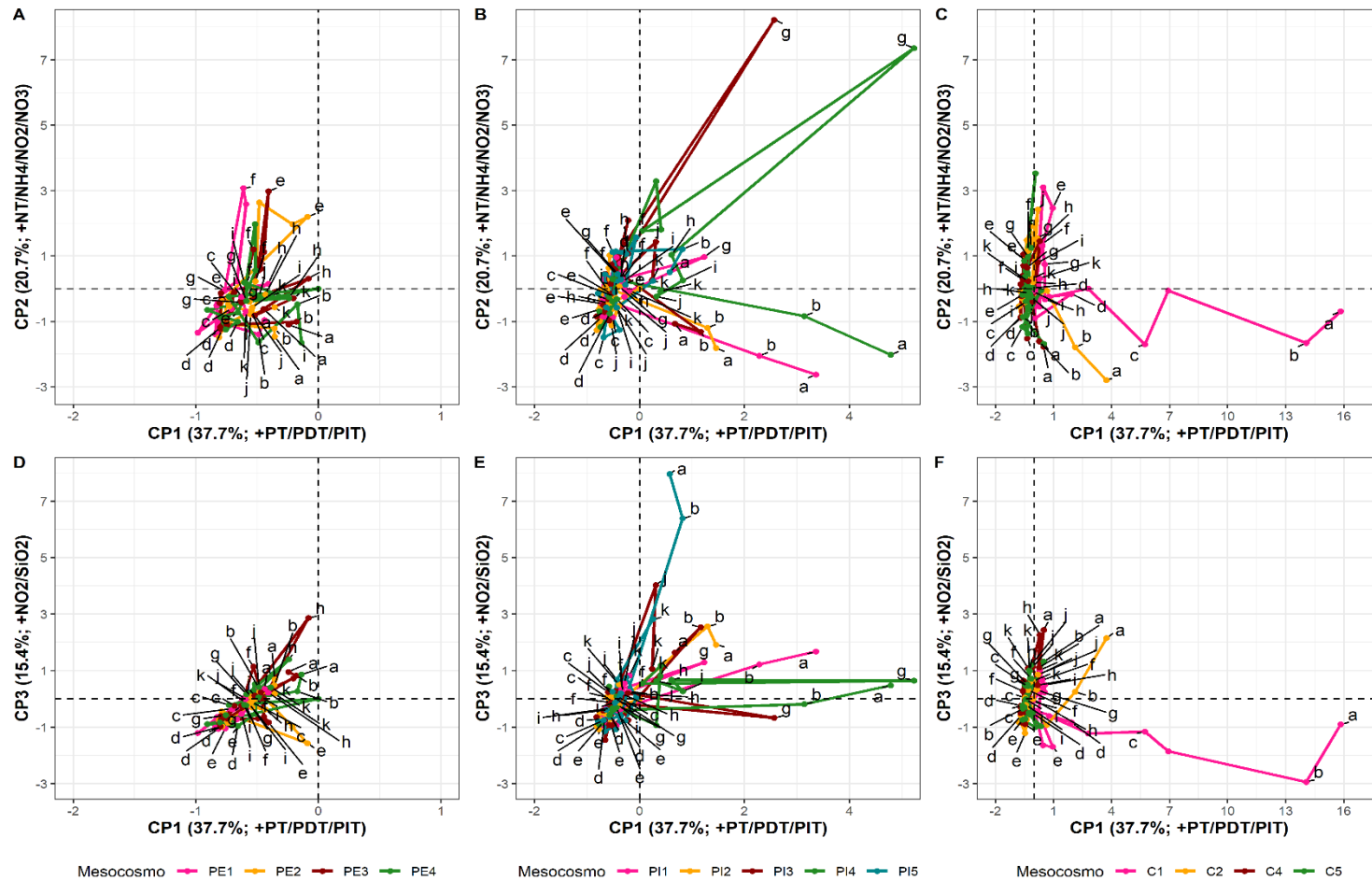


Figura 19 - Componente principal 1 (CP1) *versus* componente principal 2 (CP2) dos nutrientes por mesocosmo: **A)** pastagem extensiva (PE); **B)** pastagem intensiva (PI); e **C)** cana-de-açúcar (C). Componente principal 1 (CP1) *versus* componente principal 3 (CP3) dos nutrientes por mesocosmo: **D)** pastagem extensiva (EP); **E)** pastagem intensiva (IP); e **F)** cana-de-açúcar (C). A CP1 está relacionada ao fósforo total (PT); fósforo total dissolvido (PTD); fósforo inorgânico total (PI), a CP2 está relacionada ao nitrogênio total (NT); íon amônio (NH_4^+); nitrito (NO_2^-); nitrato (NO_3^-) e a CP3 está relacionado ao nitrito (NO_2^-) e silicato (SiO_2). Cada coleta foi conectada em um caminho ao longo do tempo e os eventos foram destacados de acordo com suas abreviações. TP = fósforo total; TDP = fósforo total dissolvido; TIP = fósforo inorgânico total; TN = nitrogênio total; NH_4 = íon amônio; NO_2 = nitrito; NO_3 = nitrato; SiO_2 = silicato; a = após fertilizante (IP/C); b = após fipronil (C); c = após 2,4-D (IP/C); d = após pastagem (EP/IP); e = após 2,4-D (IP); f = após fertilizante (IP/C); g = após cana cortada (C); h = após vinhaça (C); i = após fipronil (C).

3.2.1 Índice de estado trófico

O IET variou de 76,79 a 93,38 no tratamento PE, de 83,17 a 100,42 no tratamento PI e de 86,07 a 98,30 no tratamento C (Figura 20). Os valores de IET indicaram estado hipereutrófico e aumentaram ao longo do tempo em todos os tratamentos ($\geq 59,1$) e. No tratamento PE, verificou-se valor máximo (93,38) de IET na coleta 15. Apesar dos valores de IET do tratamento PE indicarem estado hipereutrófico em todo o período experimental, estes se mantiveram sempre abaixo do IET dos tratamentos PI e C, respectivamente (Figura 20). No tratamento PI, o IET atingiu o valor máximo após a aplicação de fertilizante no segundo ciclo (100,42 no evento g). No tratamento C, o valor máximo foi registrado após a aplicação de vinhaça no segundo ciclo (98,30 no evento h). No geral, observou-se influência também da sazonalidade durante o período experimental, com valores mais baixos de IET durante o período seco (coletas 6 a 11), e valores mais altos durante o período chuvoso (coletas 1 a 5 e 12 a 18).

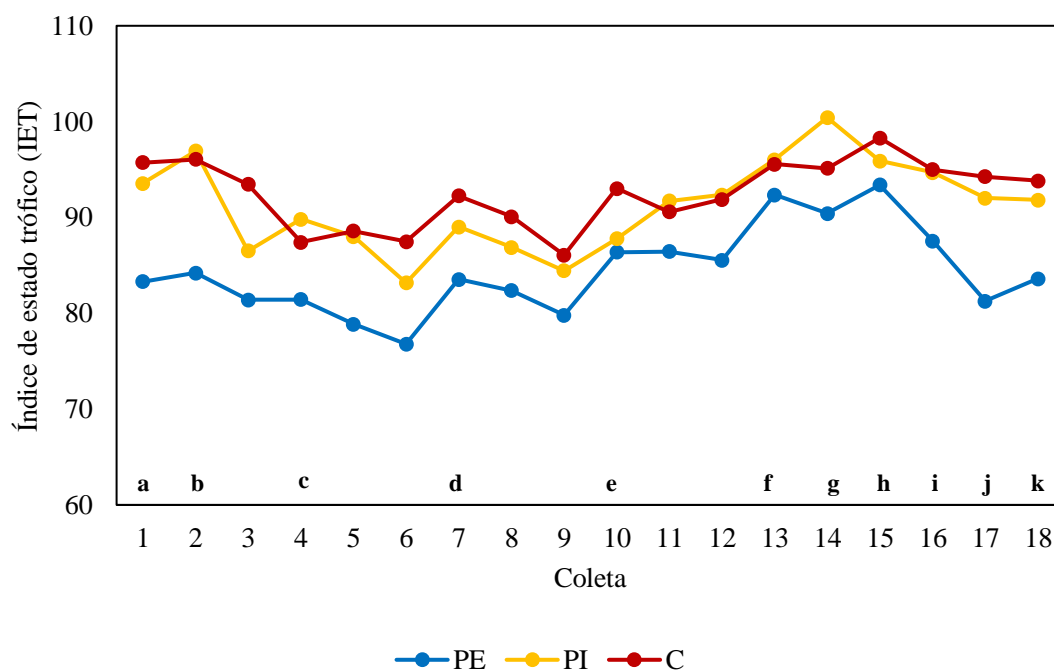


Figura 20 - Índice de Estado Trófico (IET) dos mesocosmos ao longo do tempo por tratamento: pastagem extensiva (PE), pastagem intensiva (PI) e cana-de-açúcar (C). a = após fertilizante (IP/C); b = após fipronil (C); c = após 2,4-D (IP/C); d = após pastagem (EP/IP); e = após 2,4-D (IP); f = após fertilizante (IP/C); g = após cana cortada (C); h = após vinhaça (C); i = após fipronil (C).

3.3 Metais

Os valores médios, máximos e mínimos dos nutrientes para os tratamentos PE, PI e C, bem como os valores de referência para água doce disponíveis na CONAMA 357 (BRASIL, 2005), estão descritos nas Tabela 20, 21 e 22, respectivamente.

Tabela 20 - Valores médios, máximos e mínimos dos metais para o tratamento de pasto extensivo (PE) por coleta. Os valores de referência são os disponíveis na CONAMA 357 (BRASIL, 2005) para corpos d'água Classe 1. a = após fertilizante (PI/C); b = após fipronil (C); c = após 2,4-D (PI/C); d = após pastagem (PE/PI); e = após 2,4-D (PI); f = após fertilizante (PI/C); g = após corte da cana (C); h = após vinhaça (C); i = após fipronil (C); j = após 2,4-D (PI/C); e k = após pastagem (PE/PI).

Coleta	Evento	Al	Cd	Cu	Mn	Ni	Pb	Co	K	Zn	Ba
		mg L ⁻¹									
Referência		0,1	0,001	0,009	0,1	0,025	0,01	0,05		0,18	0,7
1 (11/12/18)	a	0,283	0,001	0,009	0,013	0,003	0,073	0,000	2,868	0,306	0,181
2 (18/12/18)	b	0,212	0,001	0,012	0,013	0,009	0,075	0,001	2,096	0,303	0,164
3 (16/01/19)	-	0,258	0,002	0,044	0,022	0,013	0,070	0,008	0,905	0,376	0,215
4 (04/02/19)	c	0,246	0,003	0,007	0,031	0,007	0,098	0,010	0,659	0,202	0,185
5 (07/03/20)	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
6 (07/04/20)	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
7 (08/05/19)	d	0,519	0,001	0,012	0,019	0,003	0,083	0,003	0,636	0,228	0,207
8 (04/06/19)	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
9 (16/07/19)	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
10 (06/08/19)	e	0,615	0,001	0,005	0,024	0,008	0,092	0,007	0,689	0,262	0,237
11 (05/09/19)	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
12 (15/10/19)	-	0,658	0,002	0,009	0,077	0,008	0,082	0,008	1,014	0,240	0,263
13 (22/10/19)	f	0,568	0,001	0,007	0,072	0,006	0,082	0,016	1,026	0,172	0,273
14 (30/10/19)	g	0,761	0,001	0,013	0,065	0,007	0,072	0,026	0,990	0,305	0,259
15 (11/11/19)	h	0,440	0,001	0,014	0,075	0,010	0,059	0,034	1,300	0,430	0,344
16 (26/11/19)	i	0,483	0,001	0,013	0,064	0,007	0,053	0,030	0,996	0,239	0,234
17 (10/12/19)	j	0,342	0,002	0,007	0,037	0,004	0,069	0,018	0,696	0,265	0,264
18 (10/01/20)	k	0,127	0,002	0,018	0,026	0,007	0,067	0,002	0,810	0,231	0,249
Valor mínimo		0,060	0,000	0,000	0,000	0,000	0,040	0,000	0,500	0,140	0,140
Valor máximo		1,140	0,003	0,130	0,130	0,030	0,110	0,030	3,220	0,600	0,460

Tabela 21 - Valores médios, máximos e mínimos dos nutrientes para o tratamento de pasto intensivo (PI) por coleta. Os valores de referência são os disponíveis na CONAMA 357 (BRASIL, 2005) para corpos d'água Classe 1. a = após fertilizante (PI/C); b = após fipronil (C); c = após 2,4-D (PI/C); d = após pastagem (PE/PI); e = após 2,4-D (PI); f = após fertilizante (PI/C); g = após corte da cana (C); h = após vinhaça (C); i = após fipronil (C); j = após 2,4-D (PI/C); e k = após pastagem (PE/PI).

Coleta	Evento	Al	Cd	Cu	Mn	Ni	Pb	Co	K	Zn	Ba
		mg L ⁻¹									
Referência		0,1	0,001	0,009	0,1	0,025	0,01	0,05		0,18	0,7
1 (11/12/18)	a	0.891	0.001	0.026	0.031	0.017	0.044	0.001	2.501	0.389	0.187
2 (18/12/18)	b	0.397	0.001	0.008	0.043	0.008	0.065	0.003	2.367	0.321	0.197
3 (16/01/19)	-	0.909	0.001	0.029	0.028	0.014	0.066	0.011	0.764	0.279	0.207
4 (04/02/19)	c	0.888	0.001	0.007	0.038	0.011	0.095	0.018	0.603	0.291	0.236
5 (07/03/20)	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
6 (07/04/20)	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
7 (08/05/19)	d	0.656	0.001	0.007	0.032	0.006	0.089	0.010	0.968	0.288	0.205
8 (04/06/19)	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
9 (16/07/19)	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
10 (06/08/19)	e	1.118	0.001	0.004	0.032	0.007	0.090	0.009	0.628	0.234	0.230
11 (05/09/19)	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
12 (15/10/19)	-	0.627	0.002	0.014	0.070	0.007	0.078	0.016	0.852	0.227	0.287
13 (22/10/19)	f	2.308	0.002	0.040	0.038	0.009	0.078	0.014	0.767	0.238	0.266
14 (30/10/19)	g	2.098	0.001	0.014	0.109	0.011	0.087	0.057	2.940	0.318	0.292
15 (11/11/19)	h	0.684	0.002	0.013	0.058	0.005	0.055	0.034	1.026	0.327	0.309
16 (26/11/19)	i	0.368	0.001	0.047	0.038	0.013	0.063	0.022	0.715	0.255	0.259
17 (10/12/19)	j	1.093	0.001	0.015	0.063	0.006	0.071	0.005	0.823	0.269	0.269
18 (10/01/20)	k	0.224	0.001	0.035	0.042	0.001	0.087	0.009	3.479	0.244	0.259
Valor mínimo		0,110	0,000	0,000	0,010	0,000	0,000	0,000	0,370	0,150	0,150
Valor máximo		6,770	0,004	0,130	0,230	0,040	0,150	0,130	10,88	0,790	0,340

Tabela 22 - Valores médios, máximos e mínimos dos nutrientes para o tratamento de cana-de-açúcar (C) por coleta. Os valores de referência são os disponíveis na CONAMA 357 (BRASIL, 2005) para corpos d'água Classe 1. a = após fertilizante (PI/C); b = após fipronil (C); c = após 2,4-D (PI/C); d = após pastagem (PE/PI); e = após 2,4-D (PI); f = após fertilizante (PI/C); g = após corte da cana (C); h = após vinhaça (C); i = após fipronil (C); j = após 2,4-D (PI/C); e k = após pastagem (PE/PI).

Coleta	Evento	Al	Cd	Cu	Mn	Ni	Pb	Co	K	Zn	Ba
		mg L ⁻¹									
Referência		0,1	0,001	0,009	0,1	0,025	0,01	0,05		0,18	0,7
1 (11/12/18)	a	0,184	0,001	0,045	0,042	0,021	0,067	0,001	2,314	0,317	0,184
2 (18/12/18)	b	0,321	0,001	0,019	0,064	0,013	0,061	0,006	2,008	0,315	0,194
3 (16/01/19)	-	0,804	0,002	0,014	0,063	0,020	0,074	0,010	0,722	0,319	0,198
4 (04/02/19)	c	0,548	0,001	0,008	0,051	0,004	0,093	0,002	0,578	0,207	0,206
5 (07/03/20)	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
6 (07/04/20)	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
7 (08/05/19)	d	2,507	0,001	0,022	0,037	0,017	0,076	0,005	0,529	0,371	0,221
8 (04/06/19)	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
9 (16/07/19)	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
10 (06/08/19)	e	0,770	0,002	0,006	0,037	0,009	0,090	0,008	0,618	0,241	0,233
11 (05/09/19)	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
12 (15/10/19)	-	0,658	0,003	0,035	0,055	0,005	0,078	0,017	0,815	0,203	0,226
13 (22/10/19)	f	0,810	0,001	0,055	0,037	0,014	0,083	0,016	0,685	0,229	0,287
14 (30/10/19)	g	0,771	0,001	0,011	0,073	0,016	0,066	0,028	0,867	0,397	0,281
15 (11/11/19)	h	0,334	0,002	0,031	0,109	0,004	0,056	0,034	3,052	0,398	0,312
16 (26/11/19)	i	0,612	0,002	0,040	0,050	0,009	0,071	0,019	1,935	0,268	0,252
17 (10/12/19)	j	1,429	0,001	0,016	0,042	0,006	0,085	0,006	1,297	0,268	0,264
18 (10/01/20)	k	0,419	0,001	0,008	0,025	0,008	0,098	0,011	0,639	0,210	0,226
Valor mínimo		0,110	0,000	0,000	0,000	0,000	0,020	0,000	0,410	0,130	0,160
Valor máximo		7,880	0,004	0,180	0,210	0,050	0,100	0,030	7,640	0,550	0,360

Os metais mais afetados pelo manejo do solo foram Al, Mn e K. As concentrações de Al aumentaram principalmente após a segunda aplicação de fertilizante (evento g) nos mesocosmos PI (1,51; 1,52; 4,59; 1,81; 3,36 mg L⁻¹ para PI1, PI2, PI3, PI4 e PI5, respectivamente) em comparação com mesocosmos do tratamento PE (0,8; 0,86; 0,90; 0,47 mg L⁻¹ para PE1, PE2, PE3 e PE4, respectivamente) e C (0,98; 0,92; 0,62; 0,54 mg L⁻¹ para C1, C2, C4 e C5, respectivamente). Similarmente, as concentrações de K aumentaram após a segunda aplicação de fertilizante (evento g), especialmente nos mesocosmos PI (2,53; 0,76; 6,55; 3,99; 0,85 mg L⁻¹ para PI1, PI2, PI3, PI4 e PI5, respectivamente) e C (0,85; 1,13; 0,78; 0,70 mg L⁻¹ para C1, C2, C4 e C5, respectivamente). Além disso, foi observado um aumento significativo da concentração de K após a aplicação de vinhaça (evento h) nos mesocosmos C4 e C5 (7,63 e 3,2 mg L⁻¹, respectivamente) em comparação com C1 e C2 (0,49 e 0,82 mg L⁻¹, respectivamente) nos quais a vinhaça não foi aplicada. Semelhante ao K, o Mn aumentou significativamente após a aplicação da vinhaça nas parcelas C4 e C5 (0,13 e 0,21 mg L⁻¹, respectivamente) em comparação com as parcelas C1 e C2 (0,049 e 0,038 mg L⁻¹).

Com relação à análise de componentes principais, as três primeiras componentes principais (CP1, CP2, CP3) foram retidas pela análise *Parallel* (Apêndice A12) para explicar a variância dos dados originais dos metais (CP1 + CP2 + CP3 = 50,8%). A CP1 (positivamente relacionada ao Zn, K e Mn; negativamente relacionada ao Pb), o CP2 (positivamente relacionada ao Mn, Al e Pb; negativamente relacionada ao Ni) e o CP3 (positivamente relacionada ao Cd e Cu) representam 23,1, 16,4 e 11,3% da variabilidade dos dados originais, respectivamente (Apêndice A13 e A14). Foram observadas diferenças estatisticamente significativas ($p < 0,05$) entre o tratamento PI e o intercepto (tratamento PE) para CP1 (Zn, K, Mg e Pb). Nenhuma diferença estatística foi observada entre os tratamentos para CP2 e CP3 (Tabela 23). O efeito aleatório do tempo explicou 97,51%, 53,84% e 24,29% da variabilidade nos dados para CP1, CP2 e CP3, respectivamente. A distribuição gaussiana e a função de ligação identidade foram consideradas apropriadas para CP1 (Apêndice A15), CP2 (Apêndice A16) e CP3 (Apêndice A17). A análise de componente principal para os avaliação do comportamento dos metais ao longo do tempo estão representados por mesocosmos na Figura 21.

Tabela 23 - Resultados do Modelo Misto Linear (LMM) avaliando os efeitos dos tratamentos de pastagem extensiva (PE - intercepto), pastagem intensiva (PI) e cana-de-açúcar (C) na série temporal de experimentos para as variáveis resposta CP1, CP2 e CP3 dos metais. A CP1 está relacionada positivamente ao Zn, K e Mn e negativamente ao Pb; a CP2 está relacionada positivamente ao Mn, Al e Pb e negativamente ao Ni; e a CP3 está relacionada positivamente ao Cd e Cu.

Variável resposta	Efeitos fixos	Estimate	Desvio padrão	p-valor
CP1	(Intercepto)	-0.291	0.332	0.382
	Tratamento PI	0.5	0.208	0.018*
	Tratamento C	0.321	0.22	0.146
CP2	(Intercepto)	-0.185	0.252	0.464
	Tratamento PI	0.195	0.199	0.33
	Tratamento C	0.358	0.21	0.09
CP3	(Intercepto)	-0.082	0.191	0.668
	Tratamento PI	0.164	0.178	0.36
	Tratamento C	0.061	0.188	0.745

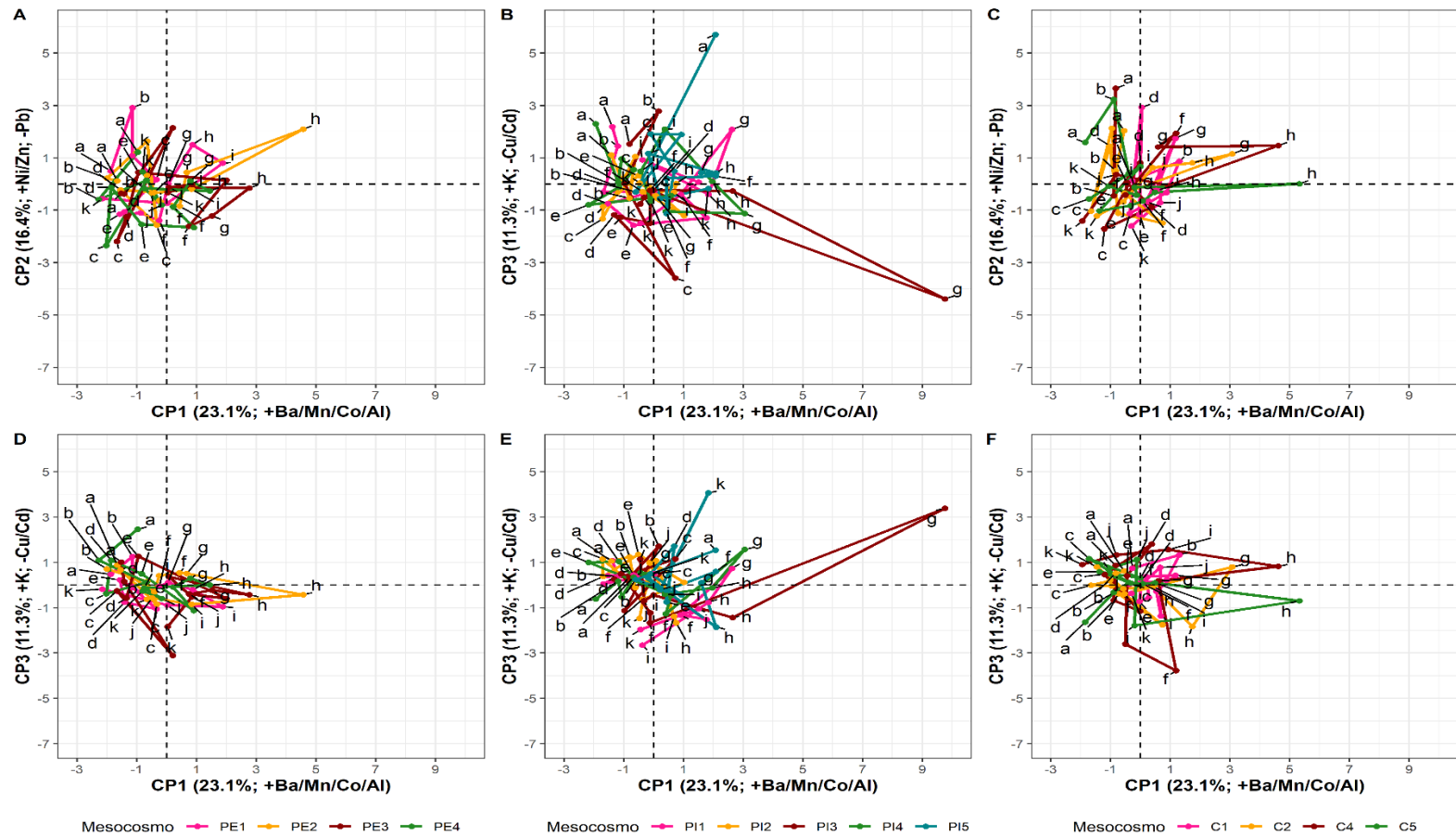


Figura 21 - Componente principal 1 (CP1) *versus* componente principal 2 (CP2) dos metais por mesocosmo: **A)** pastagem extensiva (Pe); **B)** pastagem intensiva (PI); e **C)** cana-de-açúcar (C). Componente principal 1 (CP1) *versus* componente principal 3 (CP3) dos nutrientes por mesocosmo: **D)** pastagem extensiva (EP); **E)** pastagem intensiva (IP); e **F)** cana-de-açúcar (C). A CP1 está relacionada positivamente ao Zn, K e Mn e negativamente ao Pb; a CP2 está relacionada positivamente ao Mn, Al e Pb e negativamente ao Ni; e a CP3 está relacionada positivamente ao Cd e Cu. Cada coleta foi conectada em um caminho ao longo do tempo e os eventos foram destacados de acordo com suas abreviações. Mn = manganês; Pb = chumbo; Ni = níquel; Al = alumínio; K = potássio; Cu = cobre; Zn = zinco; Cd = cádmio; Ba = Bário; Co = Cobalto; a = após fertilizante (IP/C); b = após fipronil (C); c = após 2,4-D (IP/C); d = após pastagem (EP/IP); e = após 2,4-D (IP); f = após fertilizante (IP/C); g = após cana cortada (C); h = após vinhaça (C); i = após fipronil (C).

4 DISCUSSÃO

Estratégias de monitoramento a longo prazo são essenciais para avaliar a qualidade da água (Charalampous et al., 2015). Anteriormente, nenhum estudo investigou como as práticas convencionais de manejo do solo adotadas em pastagens intensificadas e culturas de cana-de-açúcar podem afetar a qualidade das águas superficiais por meio de experimentos de campo monitorados ao longo do tempo. Inicialmente, foi levantada a hipótese de que a intensificação das pastagens e das culturas de cana-de-açúcar deterioraria as características físicas-químicas-biológicas das águas superficiais por meio de um aumento da disponibilidade de nutrientes e metais, uma vez que esses usos da terra exigem um manejo intensivo do solo (Martinelli; Filoso, 2008). Os resultados parecem não apenas apoiar essas previsões, mas também revelaram uma relação em cadeia entre os diferentes parâmetros avaliados, bem como uma tendência de deterioração da qualidade da água ao longo do tempo devido às intervenções feitas no solo. Além disso, foi observado que a fertilização do solo e a aplicação de vinhaça foram os principais precursores do aumento das concentrações de metais e de nutrientes na água.

As práticas convencionais de preparo do solo consistem em: 1) aragem (revirar a camada superficial do solo para reduzir a sua compactação); 2) gradagem (quebrar blocos de terra e nivelar o terreno) (Da Luz et al., 2022); e 3) calagem (correção da acidez do solo para aumentar o pH, aliviar a deficiência de fósforo e diminuir a toxicidade do alumínio) (Gatiboni et al., 2003). Esse tipo de manejo causa alterações nas características físicas do solo, como a desestabilização dos agregados e a diminuição da porosidade (Martinelli; Filoso, 2008). Essas alterações aumentam o escoamento superficial, a erosão do solo e as perdas de nutrientes, metais, calcário e outros contaminantes que fluem para os corpos d'água e podem causar sua deterioração ao longo do tempo (Cui et al., 2020; Gatiboni et al., 2003).

4.1 Parâmetros in situ

O pH da água dos mesocosmos mostrou uma acidificação ao longo do tempo em todos os tratamentos. Os mesocosmos PE atingiram valores mais baixos de pH ao longo do tempo (4,38) em comparação com os mesocosmos PI (4,56) e C (4,65). Isso provavelmente é resultado da intensa decomposição de macrófitas aquáticas no tratamento PE (Wu et al., 2017) que ocorreu

especialmente durante o período seco (Figura 22). Em contrapartida, o pH inicial (evento a) dos mesocosmos PI (8,83) e C (8,7) foi maior em comparação com o tratamento PE (7,4), pois algumas práticas de manejo do solo podem resultar em aumento momentâneo do pH da água, como a aplicação de cal para corrigir o pH do solo e de fertilizantes (Sá; Cavalcante; Lima, 2021). Apesar disso, o pH dos mesocosmos PI e C também diminuiu ao longo do tempo, especialmente depois que os mesocosmos foram completamente sombreados por macrófitas aquáticas flutuantes (Figura 17). No total, 66% das amostras tiveram um pH inferior a 6, o que está em desacordo com os padrões de qualidade da água da resolução CONAMA 357/2005 (BRASIL, 2005) para corpos d'água Classe 1 (pH entre 6 e 9).



Figura 22 - Registros fotográficos dos mesocosmos realizados em agosto de 2019 (período seco): **A)** Pastagem extensiva (PE); **B)** Pastagem intensiva (PI); e **C)** Cana-de-açúcar (C).

Fonte: Evaldo Espíndola (2019)

Semelhante ao pH, foi observada a depleção do OD ao longo do tempo em todos os tratamentos. A depleção de OD na coluna de água é uma das consequências da proliferação excessiva de populações de macrófitas (respiração > produção de oxigênio) que pode ser causada pelo aumento de poluentes no ambiente aquático (por exemplo, fertilizantes), especialmente nitrogênio e fósforo (Kosten et al., 2016; Scheffer; Van Nes, 2007). Em corpos d'água rasos, a precipitação e o vento são variáveis responsáveis pela mistura da coluna d'água e,

consequentemente, pela ressuspensão de sedimentos e matéria orgânica, o que diminui a concentração de OD (Dodds; Whiles, 2020). O OD abaixo de 6 foi registrado em 86% das amostras, que estavam fora dos limites de água potável da resolução CONAMA 357/2005. Níveis baixos de OD afetam não apenas a composição das comunidades de água doce, mas também a capacidade do ecossistema de processar nutrientes (Dodds, 2006). Da mesma forma, a turbidez da água aumenta devido ao ressurgimento de materiais orgânicos, especialmente após precipitação intensa e drenagem para águas superficiais, bem como após um aumento da biomassa algal (Dodds; Whiles, 2020). No total, 3% das amostras ficaram fora das diretrizes para turbidez (acima de 40 NTU) da resolução CONAMA 357/2005 (BRASIL, 2005).

A condutividade foi afetada especialmente após a aplicação de fertilizantes nos tratamentos PI e C, e de vinhaça no tratamento C (C4 e C5). O aumento da condutividade representa um fator-chave que sinaliza a contaminação de ambientes aquáticos (Bianchi; Espindola; Marin-Morales, 2011). Estudos recentes também relataram o aumento da condutividade da água em áreas agrícolas devido à grande quantidade de compostos químicos presentes no solo e que ficam disponíveis para serem transportados para as águas superficiais (Bianchi; Espindola; Marin-Morales, 2011; Charalampous et al., 2015; Taniwaki et al., 2017). Em regiões tropicais como o Brasil, esse fator pode ser ainda mais agravado pois a aplicação de agroquímicos no solo ocorre na estação chuvosa (Gripp et al., 2017; Taniwaki et al., 2017).

Os valores de condutividade também podem ser afetados pelo estágio de desenvolvimento da cultura; por exemplo, culturas em estabelecimento ou em fase vegetativa tendem a segurar menos o solo em relação aos estágios de grande crescimento e de maturidade (Taniwaki et al., 2017). No presente estudo, a condutividade foi maior nos mesocosmos C após a primeira aplicação de fertilizante (evento a), pois as etapas de preparo do solo no primeiro ciclo foram mais intensas nesse tratamento (gradagem, aração e calagem). Enquanto isso, a condutividade foi maior no tratamento PI em comparação com o tratamento C após a segunda aplicação de fertilizante (evento g), considerando que não houve preparo do solo para a rebrota da cana, apenas a reaplicação de agroquímicos.

As altas concentrações de clorofila (Cla e Clb) registradas nos mesocosmos PE provavelmente estão associadas também ao processo de decomposição das macrófitas nesse tratamento, que foi mais intenso em comparação com os mesocosmos dos tratamentos PI e C (Figura 22). O sistema foi alimentado com nutrientes provenientes dessa decomposição, que foi

intensificada principalmente durante o período seco (menor precipitação, vento e volume do mesocosmo). Consequentemente, o início da estação chuvosa (ou seja, maior temperatura e intensidade de luz) levou a um aumento considerável nas concentrações de nitrato e clorofila no tratamento PE.

Além disso, foram registradas concentrações de *Cl_a* e *Cl_b* duas e três vezes maiores no tratamento C, respectivamente, após o corte da cana (coleta 13) em comparação com a coleta anterior (coleta 12). Nesse caso, o aumento da concentração de clorofila pode estar associado à intensificação da luz que chega aos mesocosmos após a remoção da cana, pois a luminosidade é um parâmetro essencial para a ocorrência da fotossíntese (Xiaoying et al., 2022). O corte da cana também levou a uma maior entrada de matéria orgânica nos mesocosmos, uma vez que o solo sem cobertura é mais suscetível ao escoamento superficial. Esse maior aporte de nutrientes também pode ter contribuído para o aumento das concentrações de clorofila. *Cl_a* acima de 10 µg L⁻¹ foi registrada em 36% das amostras, que ficaram fora das diretrizes de água potável da resolução CONAMA 357/2005 (BRASIL, 2005).

4.2 Nutrientes

A relação diretamente proporcional entre a clorofila e a concentração de nutrientes é amplamente reconhecida como um indicador do estado trófico dos corpos d'água (Cui et al., 2020). No entanto, outros fatores podem influenciar a eutrofização dos corpos d'água, como o tipo de cobertura da terra e suas características intrínsecas, por exemplo, o manejo do solo (Taniwaki et al., 2017), o albedo (Georgescu et al., 2013) e a taxa de absorção de nutrientes pela cultura (Lee, 2018). Espera-se que o albedo (ou seja, a reflexão da intensidade da luz) em regiões de pastagem seja menor do que em áreas onde a cana-de-açúcar está entre os estágios de maior crescimento e maturidade (Georgescu et al., 2013; Taniwaki et al., 2017). Considerando que a intensidade da luz é um parâmetro fundamental para a produção de biomassa fotossintética, os corpos d'água drenados por áreas de pastagem intensificadas podem ser mais suscetíveis à eutrofização. No entanto, os resultados desta pesquisa sugerem que outros fatores, além da intensidade da luz, também foram responsáveis por esse processo (por exemplo, preparo do solo, tipo de cobertura do solo, aplicação de fertilizantes), pois o tratamento C apresentou valores mais altos de IET em comparação com os tratamentos PI e PE (Figura 20).

A alta solubilidade dos fertilizantes minerais é considerada a principal razão para o aumento da transferência de N e P para a água logo após a aplicação de fertilizantes (CUI et al., 2020). No entanto, o tipo de cobertura e manejo do solo também podem influenciar na quantidade de nutrientes que serão transferidos do solo para a água (Chau; Chu, 2017; Li et al., 2020; Udawatta et al., 2006). No presente estudo, observou-se um aumento significativo dos elementos fosfatados (PT/PTD/PI) após a aplicação de fertilizantes (eventos a e g) nos tratamentos PI e C, enquanto no tratamento PE (sem manejo do solo) não foi observado aumento expressivo desses elementos. Independentemente da cobertura do solo, esse processo se mostrou mais intenso no primeiro ciclo (ou seja, maior preparo do solo e cobertura nos estágios iniciais de desenvolvimento), em que concentrações mais altas de nutrientes foram transportadas para a água em comparação com o segundo ciclo (cobertura do solo bem estabelecida),

Muitos estudos relataram aumento nas concentrações de NT e PT após a aplicação de fertilizantes ao redor do mundo (Cui et al., 2020; Hou et al., 2016; Leip et al., 2011; Seitzinger et al., 2010). Li et al. (2020) analisaram o escoamento de NT, NH_4^+ , NO_3^- e PT em três sub-bacias hidrográficas na China durante os estágios de crescimento da cana-de-açúcar (estabelecimento, vegetativo, grande crescimento e maturidade). Semelhante ao presente estudo, os resultados mostraram maiores exportações de PT durante o estágio inicial do estabelecimento da cana-de-açúcar após a fertilização e maiores exportações de NT e NO_3^- durante o grande crescimento. Por outro lado, Cui et al. (2020) avaliaram a perda de NT e PT por meio de escoamento em campos de arroz e observaram que o escoamento que ocorre durante a fase inicial após as aplicações de fertilizantes contribuiu principalmente para a perda de NT. Os resultados do presente estudo mostraram uma perda maior de PT do que de NT, sugerindo que esse processo também depende do tipo de solo, da cultura e da precipitação.

O aumento do aporte de nutrientes nas formas de nitrogênio e fosfato pode resultar em intensa colonização por macrófitas aquáticas (Dodds, 2006). As macrófitas aquáticas desempenham um papel importante na produção de nitrogênio assimilável por meio de sua associação com bactérias fixadoras de nitrogênio e algas perifíticas (Mu et al., 2020). Assim, na maioria dos ecossistemas aquáticos continentais, o compartimento ocupado por essas plantas (ou seja, a região litorânea) é onde se encontram as maiores taxas de fixação de nitrogênio (Bristow; Whitcombe, 1971), pois o nitrogênio é um nutriente essencial para o crescimento das plantas (Bustamante et al., 2011). Além disso, a cana-de-açúcar tem alta demanda de nitrogênio, o que

poderia diminuir as perdas desse componente por escoamento superficial (Ghiberto et al., 2011). Ainda, o uso de fertilizantes nitrogenados na cultura da cana-de-açúcar no Brasil é relativamente baixo em comparação com países de clima temperado (Martinelli; Filoso, 2008). Todos esses fatores podem explicar o motivo pelo qual as concentrações de fósforo na água foram maiores do que as concentrações de nitrogênio no presente estudo. No total, 28% e 97% das amostras ficaram fora dos padrões de qualidade da água e das diretrizes de água potável da resolução CONAMA 357/2005 para NT (concentrações maiores que $1,27 \text{ mg L}^{-1}$) e PT (concentrações maiores que $0,02 \text{ mg L}^{-1}$), respectivamente (BRASIL, 2005).

A decomposição da biomassa vegetal no fundo da coluna de água é responsável por mudanças na qualidade da água, como diminuição do pH, alteração da disponibilidade de OD e acúmulo de NO_2^- , NO_3^- e NH_4^+ (Wu et al., 2017). Entre as formas inorgânicas de nitrogênio que ocorrem em águas doces, o NO_3^- e NH_4^+ são predominantes, pois o NO_2^- e o NH_3 não são estáveis no ambiente aquático natural (Mu et al., 2020). Como resultado de sua instabilidade, o NH_3 é convertido em NH_4^+ em valores de pH ácidos e neutros (Salama et al., 2013). No período seco, caracterizado por pH da água mais ácido, a concentração de nitrogênio amoniacal pode atingir valores elevados em águas interiores, especialmente na parte próxima ao sedimento (Quirós, 2003).

No presente estudo, as concentrações de NH_4^+ aumentaram em todos os tratamentos a partir do evento "d", atingindo concentrações máximas nos eventos "e" (após o corte da cana) ($0,37 \text{ mg L}^{-1}$ para o tratamento PE) ou "g" (após a fertilização) ($0,55$ e $0,39 \text{ mg L}^{-1}$ para os tratamentos PI e C, respectivamente). Isso provavelmente é resultado do processo de acidificação dos mesocosmos, pois esse período coincidiu com condições climáticas secas (Figura 23), pH ácido (entre 4-5) e temperatura da água mais baixa ($14-16 \text{ }^\circ\text{C}$). Altas concentrações de NH_4^+ podem ter implicações ecológicas importantes, influenciando principalmente a dinâmica do OD na água (Dodds; Whiles, 2020), enquanto altos níveis de NO_3^- podem ser tóxicos para invertebrados, peixes e anfíbios (Camargo; Alonso; Salamanca, 2005).

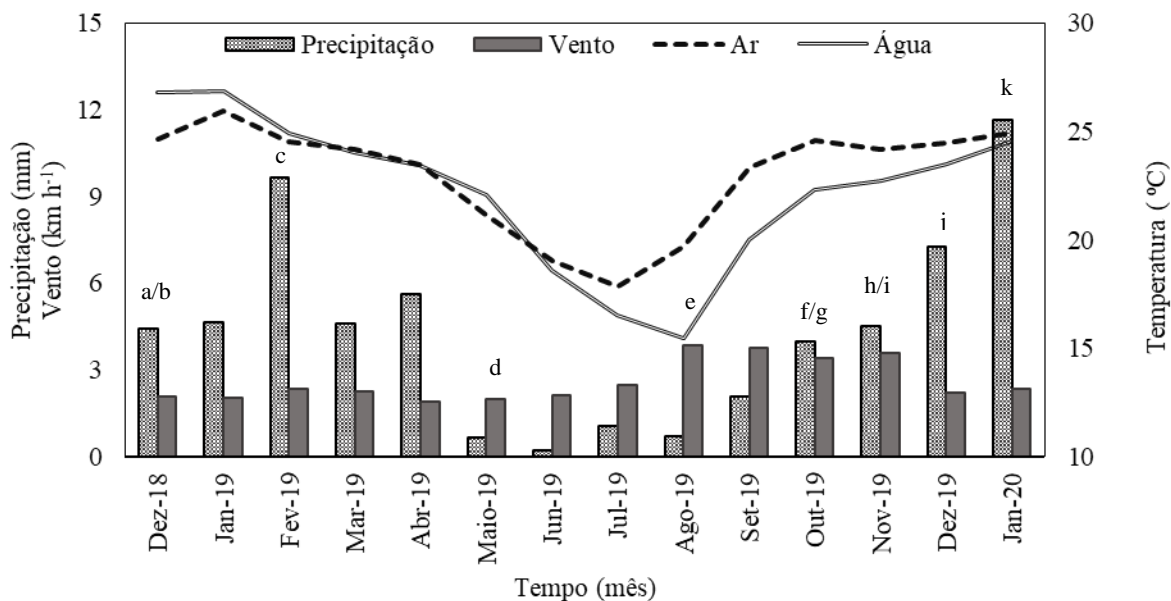


Figura 23 - Precipitação média mensal (barras tracejadas), velocidade do vento (barras sólidas), temperatura do ar (linha tracejada) e temperatura da água (linha contínua) durante o período experimental. a = após fertilizante (IP/C); b = após fipronil (C); c = após 2,4-D (IP/C); d = após pastagem (EP/IP); e = após 2,4-D (IP); f = após fertilizante (IP/C); g = após cana cortada (C); h = após vinhaça (C); i = após fipronil (C).

As plantas flutuantes podem monopolizar a luz e absorver nutrientes da coluna d'água, impedindo que o fitoplâncton e a vegetação submersa obtenham recursos suficientes para a fotossíntese (Hailu; Degaga, 2019). O crescimento dessas plantas contribui para a diminuição da luminosidade no fundo do corpo d'água e do OD, especialmente no verão, quando as macrófitas atingem sua produtividade máxima (Kröger et al., 2007). No inverno, as plantas aquáticas iniciam o processo de decomposição, com uma redução significativa na taxa de produtividade devido à diminuição do nível da água (Bento; Marotta; Enrich-Prast, 2007).

A decomposição da biomassa é o principal processo pelo qual as macrófitas aquáticas devolvem os nutrientes acumulados à circulação (Patel, 2012). Quanto mais eutrófico for o ecossistema lacustre, menores serão os valores de biomassa de macrófitas, pois as condições de nutrientes dos lagos eutróficos favorecem o crescimento de densas populações de algas, especialmente algas filamentosas, que reduzem a penetração de luz a ponto de impedir o crescimento de macrófitas flutuantes que têm na água sua principal fonte de nutrientes (Zhang et al., 2020).

A decomposição das macrófitas também pode ser acelerada pela presença de agrotóxicos e metais, uma vez que as plantas aquáticas são sensíveis a diferentes agentes tóxicos (Dos Santos

et al., 2020), especialmente herbicidas, que têm modo de ação direcionado às plantas (Ogura et al., 2022a). No presente estudo, o IET aumentou com o tempo em todos os mesocosmos (Figura 20) à medida que as macrófitas começaram a se decompor. Os valores de *Cla* também aumentaram nesse período, sugerindo que as comunidades de algas foram favorecidas em relação às macrófitas. No entanto, pode-se observar que os tratamentos PI e C obtiveram valores mais altos de IET em comparação com o tratamento PE, no qual não foram realizadas práticas de manejo do solo (Figura 20).

As características físicas-químicas-biológicas da água também determinaram a composição vegetal dos mesocosmos. A macrófita *S. auriculata* coloniza grandes superfícies de água em um curto espaço de tempo; tem ampla distribuição geográfica; é característica de ambientes com pH mais ácido; e tem uma taxa de decomposição rápida (Henry-Silva; Camargo, 2006). Por essas razões, esta espécie predominou em todos os mesocosmos, especialmente nos mesocosmos PE, que apresentaram pH mais ácido (4,38-7,40) em comparação com os mesocosmos PI (4,51-8,83) e C (4,65-8,70).

Nos mesocosmos PI e C, a macrófita *E. crassipes* também predominou. Essa macrófita tem uma alta taxa de crescimento e se adapta a uma ampla variedade de ecossistemas aquáticos (Patel, 2012). A maior disponibilidade de nutrientes nos mesocosmos PI e C devido à fertilização do solo pode ter favorecido uma maior diversidade de macrófitas em comparação com os mesocosmos PE. A macrófita *P. stratiotes* não conseguiu se estabilizar nos mesocosmos, pois o crescimento exuberante e a alta plasticidade das plantas *E. crassipes* e *S. auriculata* permitiram que elas crescessem acima das plantas de *P. stratiotes*, sombreando-as e estressando-as (Tripathi et al., 2010).

4.3 Metais

Os fertilizantes vêm sendo relatados na literatura não apenas como fonte de nutrientes, mas também como fonte potencial de impurezas (por exemplo, metais e metais pesados), uma vez que não são suficientemente purificados em sua fabricação (Gimeno-García; Andreu; Boluda, 1996). Diversos estudos relataram que os fosfatos naturais e os fertilizantes fosfatados (por exemplo, fosfato monoamônico, fosfato diamônico e superfosfato triplo) são as principais fontes de contaminação por metais no sistema solo-planta, como chumbo, cádmio, cobre, zinco,

cromo, manganês, ferro e níquel, que são potencialmente prejudiciais aos ecossistemas (Bento et al., 2021a; Corbi et al., 2018). As propriedades físicas e químicas do solo (por exemplo, os materiais de origem, as formas geoquímicas, a matéria orgânica, o pH, a densidade aparente, o tipo e a quantidade de argila, a presença de óxidos de ferro e alumínio) determinam o transporte, o destino e a biodisponibilidade desses elementos no ambiente, que podem atingir e contaminar outras matrizes ambientais, como a água (Bento et al., 2021a; Miśkowiec; Olech, 2020).

As pastagens intensivas geralmente têm solos mais compactados devido ao pisoteio do gado, o que contribui para o aumento da entrada de poluentes na água por meio do escoamento superficial (Dunne; Western; Dietrich, 2011; Esterhuizen; Fossey; Lues, 2012; Haggard et al., 2003). No entanto, os resultados do presente estudo não corroboram essa hipótese, uma vez que encontramos menores aportes de nutrientes e metais na água após o pastejo do gado, sugerindo que os metais podem ter sido retidos pelo sistema solo-planta (Wang et al., 2020) ou assimilados pelas macrófitas aquáticas (Harguinteguy; Schreiber; Pignata, 2013).

Além disso, a elevação do pH do solo pelo processo de calagem, quando na presença de metais pesados, aumenta as reações de precipitação, adsorção e complexação da matéria orgânica, o que reduz a disponibilidade e a mobilidade desses elementos (Papadopoulos; Rowell, 1988). Em relação à presente pesquisa, isso pode explicar a diminuição dos valores das concentrações dos metais na água após o pastejo do gado no primeiro ciclo nos tratamentos PE e PI, uma vez que a matéria orgânica do esterco, juntamente com o pH mais alto do solo e os baixos níveis de precipitação (Figura 23), contribuem para a diminuição da biodisponibilidade e do transporte de metais do solo para a água.

Os metais também podem ser componentes autóctones do solo. Por exemplo, o latossolo vermelho-amarelo (tipo de solo da área de pesquisa) é rico em alumínio, que pode ser disponibilizado para a água por meio do escoamento devido ao uso exaustivo da terra e ao seu tipo de cobertura (Vendrame et al., 2011). No presente estudo, as concentrações de Al ficaram fora dos padrões de qualidade da água da resolução CONAMA 357/2005 em 98% das amostras, com concentrações superiores a $0,1 \text{ mg L}^{-1}$ (BRASIL, 2005), chegando a atingir $7,88 \text{ mg L}^{-1}$ no tratamento C. A solubilidade e a mobilização do alumínio aumentam em pH ácido, especialmente para o Al nas formas monomérica e inorgânica, tornando-o ambientalmente disponível (Fakhraei; Driscoll, 2015). No presente estudo, esse mecanismo foi observado, uma vez que as concentrações mais altas de alumínio foram observadas em pH ácido, especialmente

nos mesocosmos PI e C. Altas concentrações de Al podem ser tóxicas para os organismos, especialmente por sua capacidade de se complexar com outros compostos e reduzir a atividade de enzimas importantes (Shugalei et al., 2013).

O manejo da cultura da cana-de-açúcar no Brasil inclui a fertirrigação do solo com fertilizantes orgânicos alternativos e mais baratos, como a vinhaça (água residual obtida da produção de etanol), que pode substituir totalmente a fertilização potássica e parcialmente a fertilização nitrogenada (Moraes et al., 2010; Dotaniya et al., 2016; Pinto et al., 2021c). Diversos estudos indicaram que a fertirrigação melhora a produtividade das culturas; porém, pode alterar os atributos químicos, físicos, hidráulicos e biológicos do solo (Da Silva; Bono; Pereira, 2014; Goldemberg; Coelho; Guardabassi, 2008). Quando aplicada em grandes volumes, a vinhaça pode causar sérios impactos ambientais devido à sua composição química (pH ácido, alta demanda química e biológica de oxigênio, alta condutividade e teor de metais, incluindo potássio, cálcio, sódio, magnésio e ferro) (Christofoletti et al., 2013; Reis; Hu, 2017). Ainda, a presença de vinhaça em corpos d'água devido ao descarte inadequado ou mesmo ao processo de fertirrigação não é incomum no Brasil (Martinelli; Filoso, 2008).

Pesquisadores relataram mudanças nas propriedades do solo após a fertirrigação com vinhaça que podem influenciar a lixiviação e o escoamento (Christofoletti et al., 2013; Fontanetti, Carmem Silva; Bueno, 2017); mudanças na persistência, sorção e potencial de lixiviação de agrotóxicos (Lourencetti; De Marchi; Ribeiro, 2012); e efeitos tóxicos da vinhaça para vários organismos aquáticos (Botelho et al., 2012; Coelho et al., 2018; Correia et al., 2017; Marinho et al., 2014; Pinto et al., 2023; Silva et al., 2021). Além disso, estudos recentes mostraram que a aplicação de vinhaça em solos tratados com fertilizante a base de nitrogênio sintético pode aumentar as emissões de N_2O , diminuindo as vantagens do uso do etanol de cana-de-açúcar para reduzir as emissões de gases de efeito estufa (Carmo et al., 2013; Paredes et al., 2014). No entanto, mais estudos precisam ser desenvolvidos para avaliar os impactos da vinhaça no sistema solo-água, especialmente por que essa água residual pode ocorrer em mistura com outros contaminantes, que podem ser mais tóxicos e levar à perda de biodiversidade (Relyea, 2009).

5 CONCLUSÕES

Os resultados deste capítulo enfatizam que as práticas agrícolas convencionais não podem sustentar o aumento da produção de alimentos sem sérios riscos ambientais. Foi demonstrado que a intensificação das pastagens e o cultivo da cana-de-açúcar resultaram na deterioração da qualidade da água doce ao longo do tempo. Nos tratamentos PI e C, houve uma redução no pH e no OD ao longo do tempo e um aumento na disponibilidade de nutrientes e metais. A fertilização do solo foi o principal precursor das mudanças na qualidade da água, aumentando as concentrações de nutrientes na água, especialmente as formas de fosfato (PT, PDT e PI). Esse aumento foi mais evidente no tratamento C em comparação com os tratamentos PI e PE. As concentrações de alumínio foram maiores nos tratamentos PI e C, especialmente em pH ácido, enquanto o uso de vinhaça como fertilizante orgânico no tratamento C mostrou o potencial de aumentar as concentrações de K e Mn.

O manejo do solo resultou em maior deterioração da qualidade da água nos tratamentos PI e C em comparação com o tratamento PE, no qual não houve manejo do solo. De modo geral, a qualidade da água nos mesocosmos do tratamento C foi mais afetada em comparação com os outros tratamentos. As alterações na qualidade da água doce causadas pelas práticas agrícolas convencionais podem afetar a estrutura e o funcionamento dos ecossistemas aquáticos, o preço final do tratamento da água para uso doméstico e o fornecimento de serviços ecossistêmicos. Portanto, enfatiza-se a importância do desenvolvimento de práticas agrícolas mais sustentáveis para que os impactos da agricultura de cana-de-açúcar no Brasil possam ser reduzidos, especialmente no primeiro estabelecimento da cultura, em que ocorre preparo intensivo do solo.

REFERÊNCIAS

AMERICAN PUBLIC HEALTH ASSOCIATION; AMERICAN WATER WORK ASSOCIATION; WATER CONTROL FEDERATION. **Standard methods for the examination of water and wastewater**. 19thed. New York, 1995.

BATES, D.; MACHLER, M.; BOLKER, B.M.; WALKER, S.C. Fitting linear mixed-effects models using lme4. **J. Stat. Softw**, 67, 2015. <https://doi.org/10.18637/jss.v067.i01>.

BEKETOV, M. A.; LIESS, M. Ecotoxicology and macroecology - Time for integration.

Environmental Pollution, v. 162, p. 247–254, 2012. Disponível em:

<<http://dx.doi.org/10.1016/j.envpol.2011.11.011>>.

BENTO, C. B.; BRAGA, J.; VERÔNICA, G.; GABRIEL, D. M.; BOTERO, W. G.;

FERNANDES, A. P.; MARTINELLI, L. A.; CAMARGO, L. Soil metal concentrations after five years of pasture-to- sugarcane conversion. n. Appenroth 2010, 2021a.

BENTO, C. B.; BRANDANI, C. B.; FILOSO, S.; MARTINELLI, L. A.; CARMO, J. B. do.

Effects of extensive-to-intensive pasture conversion on soil nitrogen availability and CO₂ and

N₂O fluxes in a Brazilian oxisol. **Agriculture, Ecosystems and Environment**, v. 321, n. March, p. 107633, 2021b. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.agee.2021.107633>>.

BENTO, C. B.; FILOSO, S.; PITOMBO, L. M.; CANTARELLA, H.; ROSSETTO, R.;

MARTINELLI, L. A.; DO CARMO, J. B. Impacts of sugarcane agriculture expansion over low-intensity cattle ranch pasture in Brazil on greenhouse gases. **Journal of Environmental**

Management, v. 206, p. 980–988, 2018. Disponível em:

<<https://doi.org/10.1016/j.jenvman.2017.11.085>>.

BENTO, L.; MAROTTA, H.; ENRICH-PRAST, A. O papel das Macrófitas aquáticas emersas no ciclo do fósforo em lagos rasos. **Oecologia Brasiliensis**, v. 11, n. 04, p. 582–589, 2007.

BIANCHI, J.; ESPINDOLA, E. L. G.; MARIN-MORALES, M. A. Genotoxicity and

mutagenicity of water samples from the Monjolinho River (Brazil) after receiving untreated

effluents. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 74, n. 4, p. 826–833, 2011. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.ecoenv.2010.11.006>>.

BOTELHO, R. G.; TORNISIELO, V. L.; DE OLINDA, R. A.; MARANHO, L. A.;

MACHADO-NETO, L. Acute toxicity of sugarcane vinasse to aquatic organisms before and

after pH adjustment. **Toxicological and Environmental Chemistry**, v. 94, n. 10, p. 2035–2045, 2012.

BRASIL. Ministério do Meio Ambiente. Resolução CONAMA nº 357, de 15 de junho 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, 17 mar. n. 53, p. 58-63, 2005.

BRISTOW, J. M.; WHITCOMBE, M. The Role of Roots in the Nutrition of Aquatic Vascular Plants. **American Journal of Botany**, v. 58, n. 1, p. 8, 1971.

BUENDIA, C.; BUSSI, G.; TUSET, J.; VERICAT, D.; SABATER, S.; PALAU, A.; BATALLA, R. J. Effects of afforestation on runoff and sediment load in an upland Mediterranean catchment. **Science of the Total Environment**, v. 540, p. 144–157, 2016. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.scitotenv.2015.07.005>>.

BUSTAMANTE, M. A. O.; MIER, M. V.; ESTRADA, J. A. E.; DOMÍGUEZ, C. D. Nitrogen and potassium variation on contaminant removal for a vertical subsurface flow lab scale constructed wetland. **Bioresource Technology**, v. 102, n. 17, p. 7745–7754, 2011.

CAMARGO, J. A.; ALONSO, A.; SALAMANCA, A. Nitrate toxicity to aquatic animals: A review with new data for freshwater invertebrates. **Chemosphere**, v. 58, n. 9, p. 1255–1267, 2005.

CAMPOS, M. O. de; CERRI, C. E. P.; LA SCALA, N. Atmospheric CO₂, soil carbon stock and control variables in managed and degraded pastures in central Brazil. **Remote Sensing Applications: Society and Environment**, v. 28, n. April, p. 100848, 2022. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.rsase.2022.100848>>.

CARDOSO, A. S.; BERNDT, A.; LEYTEM, A.; ALVES, B. J. R.; DE CARVALHO, I. das N. O.; DE BARROS SOARES, L. H.; URQUIAGA, S.; BODDEY, R. M. Impact of the intensification of beef production in Brazil on greenhouse gas emissions and land use. **Agricultural Systems**, v. 143, p. 86–96, 2016. Disponível em:

<<http://dx.doi.org/10.1016/j.agsy.2015.12.007>>.

CARMO, J. B. do; FILOSO, S.; ZOTELLI, L. C.; DE SOUSA NETO, E. R.; PITOMBO, L. M.; DUARTE-NETO, P. J.; VARGAS, V. P.; ANDRADE, C. A.; GAVA, G. J. C.; ROSSETTO, R.; CANTARELLA, H.; NETO, A. E.; MARTINELLI, L. A. Infield greenhouse gas emissions from sugarcane soils in brazil: Effects from synthetic and organic fertilizer application and crop trash accumulation. **GCB Bioenergy**, v. 5, n. 3, p. 267–280, 2013.

CHARALAMPOUS, N.; KINDOU, A.; VLASTOS, D.; TSARPALI, V.; ANTONOPOULOU, M.; KONSTANTINOY, I.; DAILIANIS, S. A multidisciplinary assessment of river surface water quality in areas heavily influenced by human activities. **Archives of Environmental Contamination and Toxicology**, v. 69, n. 2, p. 208–222, 2015. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1007/s00244-015-0152-9>>.

CHAU, N. L.; CHU, L. M. Fern cover and the importance of plant traits in reducing erosion on steep soil slopes. **Catena**, v. 151, p. 98–106, 2017. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.catena.2016.12.016>>.

CHRÉTIEN, F.; GIROUX, I.; THÉRIAULT, G.; GAGNON, P.; CORRIVEAU, J. Surface runoff and subsurface tile drain losses of neonicotinoids and companion herbicides at edge-of-field. **Environmental Pollution**, v. 224, p. 255–264, 2017.

CHRISTOFOLETTI, C. A.; ESCHER, J. P.; CORREIA, J. E.; MARINHO, J. F. U.; FONTANETTI, C. S. Sugarcane vinasse: Environmental implications of its use. **Waste Management**, v. 33, n. 12, p. 2752–2761, 2013. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.wasman.2013.09.005>>.

COELHO, M. P. M.; CORREIA, J. E.; VASQUES, L. I.; MARCATO, A. C. de C.; GUEDES, T. de A.; SOTO, M. A.; BASSO, J. B.; KIANG, C.; FONTANETTI, C. S. Toxicity evaluation of leached of sugarcane vinasse: Histopathology and immunostaining of cellular stress protein. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 165, n. August, p. 367–375, 2018. Disponível em:

<<https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2018.08.099>>.

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.

CORREIA, J. E.; CHRISTOFOLETTI, C. A.; MARCATO, A. C. C.; MARINHO, J. F. U.; FONTANETTI, C. S. Histopathological analysis of tilapia gills (*Oreochromis niloticus* Linnaeus, 1758) exposed to sugarcane vinasse. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 135, n. September 2016, p. 319–326, 2017. Disponível em:
<<http://dx.doi.org/10.1016/j.ecoenv.2016.10.004>>.

CUI, N.; CAI, M.; ZHANG, X.; ABDELHAFEZ, A. A.; ZHOU, L.; SUN, H.; CHEN, G.; ZOU, G.; ZHOU, S. Runoff loss of nitrogen and phosphorus from a rice paddy field in the east of China: Effects of long-term chemical N fertilizer and organic manure applications. **Global Ecology and Conservation**, v. 22, p. e01011, 2020. Disponível em:
<<https://doi.org/10.1016/j.gecco.2020.e01011>>.

CUNHA, D. G. F.; CALIJURI, C.; CONDÉ, M. A trophic state index for tropical / subtropical reservoirs (TSI_{tsr}). **Ecological Engineering**, v. 60, p. 126–134, 2013. Disponível em:
<<http://dx.doi.org/10.1016/j.ecoleng.2013.07.058>>.

DA LUZ, F. B.; CASTIONI, G. A. F.; TORMENA, C. A.; DOS SANTOS FREITAS, R.; CARVALHO, J. L. N.; CHERUBIN, M. R. Soil tillage and machinery traffic influence soil water availability and air fluxes in sugarcane fields. **Soil and Tillage Research**, v. 223, n. June, 2022.

DA SILVA, A. P. M.; BONO, J. A. M.; PEREIRA, F. de A. R. Fertigation with vinasse in sugarcane crop: Effect on the soil and on productivity. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, v. 18, n. 1, p. 38–43, 2014.

DAAM, M. A.; VAN DEN BRINK, P. J.; NOGUEIRA, A. J. A. Impact of single and repeated applications of the insecticide chlorpyrifos on tropical freshwater plankton communities.

Ecotoxicology, v. 17, n. 8, p. 756–771, 2008.

DEFRIES, R.; ROSENZWEIG, C. Toward a whole-landscape approach for sustainable land use in the tropics. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, v. 107, n. 46, p. 19627–19632, 2010.

DODDS, W. K. Eutrophication and trophic state in rivers and streams. **Limnology and Oceanography**, v. 51, n. 1 II, p. 671–680, 2006.

DODDS, W. K.; WHILES, M. R. **Aquatic Chemistry and Factors Controlling Nutrient Cycling: Redox and O₂**. [s.l: s.n.]335–369 p.

DORES, E. F. G. C.; SPADOTTO, C. A.; WEBER, O. L. S.; DALLA VILLA, R.; VECCHIATO, A. B.; PINTO, A. A. Environmental behavior of chlorpyrifos and endosulfan in a tropical soil in central Brazil. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 64, n. 20, p. 3942–3948, 2016.

DOS SANTOS, N. B. C.; DE ARRUDA, E. C. P.; DE PINNA, G. F. de A. M.; NETO, A. G. B.; DE OLIVEIRA, A. F. M. Assessing the effects of water quality on leaf morphoanatomy, ultrastructure and photosynthetic pigment content of *Salvinia auriculata* Aubl. (Salviniaceae).

Ecotoxicology and Environmental Safety, v. 190, n. December 2019, p. 110061, 2020.

Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2019.110061>>.

DOTANIYA, M. L.; DATTA, S. C.; BISWAS, D. R.; DOTANIYA, C. K.; MEENA, B. L.; RAJENDIRAN, S.; REGAR, K. L.; LATA, M. Use of sugarcane industrial by-products for improving sugarcane productivity and soil health. **International Journal of Recycling of Organic Waste in Agriculture**, v. 5, n. 3, p. 185–194, 2016.

DUNNE, T.; WESTERN, D.; DIETRICH, W. E. Effects of cattle trampling on vegetation,

infiltration, and erosion in a tropical rangeland. **Journal of Arid Environments**, v. 75, n. 1, p. 58–69, 2011. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.jaridenv.2010.09.001>>.

EL CHAMI, D.; DACCACHE, A.; EL MOUJABBER, M. What are the impacts of sugarcane production on ecosystem services and human well-being? A review. **Annals of Agricultural Sciences**, v. 65, n. 2, p. 188–199, 2020. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.aoas.2020.10.001>>.

ESTERHUIZEN, L.; FOSSEY, A.; LUES, J. F. R. Dairy farm borehole water quality in the greater Mangaung region of the Free State Province, South Africa. **Water SA**, v. 38, n. 5, p. 803–806, 2012.

FAOSTAT, 2021. Disponível em: <http://www.fao.org/faostat/en/#data/QL/visualize>.

FAKHRAEI, H.; DRISCOLL, C. T. Proton and aluminum binding properties of organic acids in surface waters of the northeastern U.S. **Environmental Science and Technology**, v. 49, n. 5, p. 2939–2947, 2015.

FILOSO, S.; DO CARMO, J. B.; MARDEGAN, S. F.; LINS, S. R. M.; GOMES, T. F.; MARTINELLI, L. A. Reassessing the environmental impacts of sugarcane ethanol production in Brazil to help meet sustainability goals. **Renewable and Sustainable Energy Reviews**, v. 52, p. 1847–1856, 2015.

FONTANETTI, CARMEM SILVA; BUENO, O. C. **Cana-de-açúcar e seus impactos: uma visão acadêmica**. 13 p, 2017.

FUESS, L. T.; RODRIGUES, I. J.; GARCIA, M. L. Fertirrigation with sugarcane vinasse: Foreseeing potential impacts on soil and water resources through vinasse characterization. **Journal of Environmental Science and Health - Part A Toxic/Hazardous Substances and Environmental Engineering**, v. 52, n. 11, p. 1063–1072, 2017. Disponível em: <<https://doi.org/10.1080/10934529.2017.1338892>>.

GATIBONI, L. C.; SAGGIN, A.; BRUNETTO, G.; HORN, D.; FLORES, J. P. C.; RHEINHEIMER, D. dos S.; KAMINSKI, J. Alterações nos atributos químicos de solo arenoso pela calagem superficial no sistema plantio direto consolidado. **Ciência Rural**, v. 33, n. 2, p. 283–290, 2003.

GEORGESCU, M.; LOBELL, D. B.; FIELD, C. B.; MAHALOV, A. Simulated hydroclimatic impacts of projected Brazilian sugarcane expansion. **Geophysical Research Letters**, v. 40, n. 5, p. 972–977, 2013.

GHIBERTO, P. J.; LIBARDI, P. L.; DOS SANTOS BRITO, A.; CEZAR OCHEUZE TRIVELIN, P. Nitrogen fertilizer leaching in an Oxisol cultivated with sugarcane. **Scientia Agricola**, v. 68, n. 1, p. 86–93, 2011.

GIMENO-GARCÍA, E.; ANDREU, V.; BOLUDA, R. Heavy metals incidence in the application of inorganic fertilizers and pesticides to rice farming soils. **Environmental Pollution**, v. 92, n. 1, p. 19–25, 1996.

GOLDEMBERG, J.; COELHO, S. T.; GUARDABASSI, P. The sustainability of ethanol production from sugarcane. **Energy Policy**, v. 36, n. 6, p. 2086–2097, 2008.

GOLTERMAN, H.L.; CLYMO, R.S.; OHNSTAD, M.A.M. Methods for chemical and physical analysis of freshwater. **Blackwell Scientific**, p. 213, 1978.

GRIPP, H. S.; FREITAS, J. S.; ALMEIDA, E. A.; BISINOTI, M. C.; MOREIRA, A. B. Biochemical effects of fipronil and its metabolites on lipid peroxidation and enzymatic antioxidant defense in tadpoles (*Eupemphix nattereri*: Leiuperidae). **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 136, n. July 2016, p. 173–179, 2017. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.ecoenv.2016.10.027>>.

GÜCKER, B.; BOËCHAT, I. G.; GIANI, A. Impacts of agricultural land use on ecosystem structure and whole-stream metabolism of tropical Cerrado streams. **Freshwater Biology**, v. 54,

n. 10, p. 2069–2085, 2009.

HAGE, D. S.; CARR, J. D. Química analítica e análise quantitativa. São Paulo: Pearson Prentice Hall, p. 101–103, 2012.

HAGGARD, B. E.; MOORE, P. A.; CHAUBEY, I.; STANLEY, E. H. Nitrogen and phosphorus concentrations and export from an Ozark Plateau catchment in the United States. **Biosystems Engineering**, v. 86, n. 1, p. 75–85, 2003.

HAILU, A.; DEGAGA, E. G. Water Hyacinth (*Eichhornia crassipes*) Biology and Its Impacts on Ecosystem, Biodiversity, Economy and Human Well-being. **Journal of Natural Sciences Research**, n. March, 2019.

HARGUINTEGUY, C. A.; SCHREIBER, R.; PIGNATA, M. L. Myriophyllum aquaticum as a biomonitor of water heavy metal input related to agricultural activities in the Xanaes River (Córdoba , Argentina). **Ecological Indicators**, v. 27, p. 8–16, 2013. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.ecolind.2012.11.018>>.

HENRY-SILVA, G. G.; CAMARGO, A. F. M. Composição química de macrófitas aquáticas flutuantes utilizadas no tratamento de efluentes de aqüicultura. **Planta Daninha**, v. 24, n. 1, p. 21–28, 2006.

HOU, X.; ZHOU, F.; LEIP, A.; FU, B.; YANG, H.; CHEN, Y.; GAO, S.; SHANG, Z.; MA, L. Spatial patterns of nitrogen runoff from Chinese paddy fields. **Agriculture, Ecosystems and Environment**, v. 231, p. 246–254, 2016. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.agee.2016.07.001>>.

KJELDAHL, J. A New Method for the Determination of Nitrogen in Organic Matter. **Zeitschrift für Analytische Chemie**. 22, 366–382, 1883.

KOROLEFF, F. Determination of nutrients. In: Grasshof, K. (Ed.), *Methods of seawater*

analysis. Verlag. Chemie, Weinheim, p. 117–181, 1976.

KOSTEN, S.; PIÑEIRO, M.; DE GOEDE, E.; DE KLEIN, J.; LAMERS, L. P. M.; ETTWIG, K. Fate of methane in aquatic systems dominated by free-floating plants. **Water Research**, v. 104, p. 200–207, 2016.

KRÖGER, R.; HOLLAND, M. M.; MOORE, M. T.; COOPER, C. M. Plant senescence: A mechanism for nutrient release in temperate agricultural wetlands. **Environmental Pollution**, v. 146, n. 1, p. 114–119, 2007.

LE, S.; JOSSE, J.; HUSSON, F. FactoMineR: An R Package for Multivariate Analysis. **J. Stat. Softw**, v 25 (1), p. 1–18, 2008. <https://doi.org/10.18637/jss.v025.i01>.

LEE, M. A. A global comparison of the nutritive values of forage plants grown in contrasting environments. **Journal of Plant Research**, v. 131, n. 4, p. 641–654, 2018. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1007/s10265-018-1024-y>>.

LEIP, A.; BRITZ, W.; WEISS, F.; DE VRIES, W. Farm, land, and soil nitrogen budgets for agriculture in Europe calculated with CAPRI. **Environmental Pollution**, v. 159, n. 11, p. 3243–3253, 2011. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.envpol.2011.01.040>>.

LI, W.; GOU, W.; LI, W.; ZHANG, T.; YU, B.; LIU, Q.; SHI, J. Environmental applications of metal stable isotopes: Silver, mercury and zinc. **Environmental Pollution**, v. 252, p. 1344–1356, 2019. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.envpol.2019.06.037>>.

LI, Y.; ABEGUNRIN, T. P.; GUO, H.; HUANG, Z.; ARE, K. S.; WANG, H.; GU, M.; WEI, L. Variation of dissolved nutrient exports by surface runoff from sugarcane watershed is controlled by fertilizer application and ground cover. **Agriculture, Ecosystems and Environment**, v. 303, n. August, p. 107121, 2020. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.agee.2020.107121>>.

LOURENCETTI, C.; DE MARCHI, M. R. R.; RIBEIRO, M. L. Influence of sugar cane vinasse

on the sorption and degradation of herbicides in soil under controlled conditions. **Journal of Environmental Science and Health - Part B Pesticides, Food Contaminants, and Agricultural Wastes**, v. 47, n. 10, p. 949–958, 2012.

MACDONALD, K. A.; PENNO, J. W.; LANCASTER, J. A. S.; BRYANT, A. M.; KIDD, J. M.; ROCHE, J. R. Production and economic responses to intensification of pasture-based dairy production systems. **Journal of Dairy Science**, v. 100, n. 8, p. 6602–6619, 2017. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.3168/jds.2016-12497>>.

MACKERETH, F.J.H.; HERON, J.; TALLING, J.F. Water analysis: some revised methods for limnologists. **Freshwater Biological Association Scientific Publishers**, 1978.

MARINHO, J. F. U.; CORREIA, J. E.; MARCATO, A. C. de C.; PEDRO-ESCHER, J.; FONTANETTI, C. S. Sugarcane vinasse in water bodies: Impact assessed by liver histopathology in tilapia. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 110, p. 239–245, 2014. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.ecoenv.2014.09.010>>.

MARTINELLI, L. a.; FILOSO, S. Expansion of Sugarcane Ethanol Production. **Ecological Applications**, v. 18, n. 4, p. 885–898, 2008.

MIŚKOWIEC, P.; OLECH, Z. Searching for the Correlation Between the Activity of Urease and the Content of Nickel in the Soil Samples: The Role of Metal Speciation. **Journal of Soil Science and Plant Nutrition**, v. 20, n. 4, p. 1904–1911, 2020.

MOACYR BERNARDINO DIAS-FILHO. Diagnóstico das Pastagens no Brasil. **Embrapa Amazônia Oriental**, v. Documentos, p. 21–43, 2014. Disponível em: <www.cpatu.embrapa.br/publicacoes_online>.

MORAES, M. M. G. A.; CAI, X.; RINGLER, C.; ALBUQUERQUE, B. E.; VIEIRA DA ROCHA, S. P.; AMORIM, C. A. Joint Water Quantity-Quality Management in a Biofuel Production Area—Integrated Economic-Hydrologic Modeling Analysis. **Journal of Water**

Resources Planning and Management, v. 136, n. 4, p. 502–511, 2010.

MU, X.; LV, X.; LIU, W.; QIU, C.; MA, Y.; ZHANG, S.; JEPPESEN, E. Biofilms attached to *Myriophyllum spicatum* play a dominant role in nitrogen removal in constructed wetland mesocosms with submersed macrophytes: Evidence from ¹⁵N tracking, nitrogen budgets and metagenomics analyses. **Environmental Pollution**, v. 266, 2020.

OGURA, A. P.; MOREIRA, R. A.; DA SILVA, L. C. M.; NEGRO, G. S.; FREITAS, J. S.; DA SILVA PINTO, T. J.; LOPES, L. F. de P.; YOSHII, M. P. C.; GOULART, B. V.; MONTAGNER, C. C.; ESPÍNDOLA, E. L. G. Irrigation with Water Contaminated by Sugarcane Pesticides and Vinasse Can Inhibit Seed Germination and Crops Initial Growth. **Archives of Environmental Contamination and Toxicology**, v. 82, n. 3, p. 330–340, 2022. Disponível em: <<https://doi.org/10.1007/s00244-022-00914-x>>.

OLIVEIRA, D. M. S.; CHERUBIN, M. R.; FRANCO, A. L. C.; SANTOS, A. S.; GELAIN, J. G.; DIAS, N. M. S.; DINIZ, T. R.; ALMEIDA, A. N.; FEIGL, B. J.; DAVIES, C. A.; PAUSTIAN, K.; KARLEN, D. L.; SMITH, P.; CERRI, C. C.; CERRI, C. E. P. Is the expansion of sugarcane over pasturelands a sustainable strategy for Brazil's bioenergy industry? **Renewable and Sustainable Energy Reviews**, v. 102, n. December 2018, p. 346–355, 2019. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.rser.2018.12.012>>.

PAPADOPOULOS, P.; ROWELL, D. L. The reactions of cadmium with calcium carbonate surfaces. **Journal of Soil Science**, v. 39, n. 1, p. 23–36, 1988.

PAREDES, D. da S.; LESSA, A. C. da R.; DE SANT'ANNA, S. A. C.; BODDEY, R. M.; URQUIAGA, S.; ALVES, B. J. R. Nitrous oxide emission and ammonia volatilization induced by vinasse and N fertilizer application in a sugarcane crop at Rio de Janeiro, Brazil. **Nutrient Cycling in Agroecosystems**, v. 98, n. 1, p. 41–55, 2014.

PATEL, S. Threats, management and envisaged utilizations of aquatic weed *Eichhornia crassipes*: An overview. **Reviews in Environmental Science and Biotechnology**, v. 11, n. 3, p.

249–259, 2012.

PINTO, T. J. da S.; MOREIRA, R. A.; FREITAS, J. S. schmidt; DA SILVA, L. C. M.; YOSHII, M. P. C.; DE PALMA LOPES, L. F.; OGURA, A. P.; DE MELLO GABRIEL, G. V.; ROSA, L. M. T.; SCHIESARI, L.; DO CARMO, J. B.; MONTAGNER, C. C.; DAAM, M. A.; ESPINDOLA, E. L. G. Responses of *Chironomus sancticaroli* to the simulation of environmental contamination by sugarcane management practices: Water and sediment toxicity. **Science of the Total Environment**, v. 857, n. July 2022, 2023.

PINTO, T. J. da S.; MOREIRA, R. A.; SILVA, L. C. M. da; YOSHII, M. P. C.; GOULART, B. V.; FRAGA, P. D.; MONTAGNER, C. C.; DAAM, M. A.; ESPINDOLA, E. L. G. Impact of 2,4-D and fipronil on the tropical midge *Chironomus sancticaroli* (Diptera: Chironomidae). **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 209, 2021.

QUIRÓS, R. The relationship between nitrate and ammonia concentrations in the pelagic zone of lakes. **Limnetica**, v. 22, n. 1–2, p. 37–50, 2003.

R CORE TEAM, 2022. R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. URL <https://www.R-project.org/>

REIS, C. E. R.; HU, B. Vinasse from sugarcane ethanol production: Better treatment or better utilization? **Frontiers in Energy Research**, v. 5, n. APR, p. 1–7, 2017.

RELYEA, R. A. A cocktail of contaminants: How mixtures of pesticides at low concentrations affect aquatic communities. **Oecologia**, v. 159, n. 2, p. 363–376, 2009.

REVELLE, W. Psych: Procedures for Personality and Psychological Research, Northwestern University, Evanston, Illinois, USA, 2022. <https://CRAN.R-project.org/package=psych> Version = 2.2.5.).

SÁ, M. V. C.; CAVALCANTE, D. H.; LIMA, F. R. S. Total buffering capacity of CaCO₃-undersaturated and saturated waters buffered with agricultural limestone or hydrated lime and its

importance to the liming of shrimp culture ponds. **Aquaculture**, v. 536, n. September 2020, p. 736455, 2021. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2021.736455>>.

SALAMA, Y.; CHENNAOUI, M.; MOUNTADAR, M.; ASSOBEI, O. THE PHYSICOCHEMICAL AND BACTERIOLOGICAL QUALITY AND ENVIRONMENTAL RISKS OF RAW SEWAGE REJECTED IN THE COAST OF THE CITY OF EL JADIDA (MOROCCO). v. 8, n. 2, p. 39–48, 2013.

SCHEFFER, M.; VAN NES, E. H. Shallow lakes theory revisited: Various alternative regimes driven by climate, nutrients, depth and lake size. **Hydrobiologia**, v. 584, n. 1, p. 455–466, 2007.

SEITZINGER, S. P.; MAYORGA, E.; BOUWMAN, A. F.; KROEZE, C.; BEUSEN, A. H. W.; BILLEN, G.; VAN DRECHT, G.; DUMONT, E.; FEKETE, B. M.; GARNIER, J.; HARRISON, J. A. Global river nutrient export: A scenario analysis of past and future trends. **Global Biogeochemical Cycles**, v. 24, n. 2, 2010.

SHUGALEI, I. V.; GARABADZHIU, A. V.; ILYUSHIN, M. A.; SUDARIKOV, A. M. Some aspects of the effect of aluminum and its compounds on living organisms. **Russian Journal of General Chemistry**, v. 83, n. 13, p. 2633–2646, 2013.

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

SILVA, L. C. M.; MOREIRA, R. A.; PINTO, T. J. S.; VANDERLEI, M. R.; ATHAYDE, D. B.; LOPES, L. F. P.; OGURA, A. P.; YOSHII, M. P. C.; FREITAS, J. S.; MONTAGNER, C. C.; GOULART, B. V.; SCHIESARI, L.; DAAM, M. A.; ESPÍNDOLA, E. L. G. Lethal and sublethal toxicity of pesticides and vinasse used in sugarcane cultivation to *Ceriodaphnia silvestrii* (Crustacea: Cladocera). **Aquatic Toxicology**, v. 241, n. June, 2021.

SILVA, R. de O.; BARIONI, L. G.; HALL, J. A. J.; MORETTI, A. C.; FONSECA VELOSO, R.; ALEXANDER, P.; CRESPOLINI, M.; MORAN, D. Sustainable intensification of Brazilian

livestock production through optimized pasture restoration. **Agricultural Systems**, v. 153, p. 201–211, 2017. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.agsy.2017.02.001>>.

SILVEIRA, M. L.; BRANDANI, C. B.; KOHMANN, M. M.; ERICKSON, J. E.; REYES-CABRERA, J.; LEON, R. G.; SOLLENBERGER, L. E.; PIOTTO, V.; QUADROS, D. G.; MELLO, S. Q. S. Short-term effects of bioenergy cropping on soil carbon and nitrogen dynamics in a Florida Ultisol. **Soil Science Society of America Journal**, v. 84, n. 4, p. 1233–1246, 2020.

TANIWAKI, R. H.; CASSIANO, C. C.; FILOSO, S.; FERRAZ, S. F. de B.; CAMARGO, P. B. de; MARTINELLI, L. A. Impacts of converting low-intensity pastureland to high-intensity bioenergy cropland on the water quality of tropical streams in Brazil. **Science of the Total Environment**, v. 584–585, p. 339–347, 2017.

TRIPATHI, P.; KUMAR, R.; SHARMA, A. K.; MISHRA, A.; GUPTA, R. **Pistia stratiotes (Jalkumbi)**, 2010.

UDAWATTA, R. P.; MOTAVALLI, P. P.; GARRETT, H. E.; KRSTANSKY, J. J. Nitrogen losses in runoff from three adjacent agricultural watersheds with claypan soils. **Agriculture, Ecosystems and Environment**, v. 117, n. 1, p. 39–48, 2006.

VENDRAME, P. R. S.; EBERHARDT, D. N.; BRITO, O. R.; MARCHÃO, R. L.; QUANTIN, C.; BECQUER, T. Formas de ferro e alumínio e suas relações com textura, mineralogia e Carbono Orgânico em latossolos do cerrado. **Semina: Ciências Agrárias**, v. 32, n. SUPPL. 1, p. 1657–1666, 2011.

WANG, X.; LIU, W.; LI, Z.; TENG, Y.; CHRISTIE, P.; LUO, Y. Effects of long-term fertilizer applications on peanut yield and quality and plant and soil heavy metal accumulation.

Pedosphere: An International Journal, v. 30, n. 4, p. 555–562, 2020. Disponível em: <[http://dx.doi.org/10.1016/S1002-0160\(17\)60457-0](http://dx.doi.org/10.1016/S1002-0160(17)60457-0)>.

WICKHAM, H. **ggplot2: Elegant Graphics for Data Analysis**. Springer-Verlag, New York, 2016.

WU, S.; HE, S.; ZHOU, W.; GU, J.; HUANG, J.; GAO, L.; ZHANG, X. Decomposition characteristics of three different kinds of aquatic macrophytes and their potential application as carbon resource in constructed wetland. **Environmental Pollution**, v. 231, p. 1122–1133, 2017. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.envpol.2017.07.049>>.

XIAOYING, L.; MINGJUAN, Y.; XIAODONG, X.; ABM, K.; ATAK, A.; CAIHONG, Z.; DAWEI, L. Effect of light on growth and chlorophyll development in kiwifruit ex vitro and in vitro. **Scientia Horticulturae**, v. 291, n. March 2021, p. 110599, 2022. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.scienta.2021.110599>>.

ZHANG, W.; SHEN, H.; ZHANG, J.; YU, J.; XIE, P.; CHEN, J. Physiological differences between free-floating and periphytic filamentous algae, and specific submerged macrophytes induce proliferation of filamentous algae: A novel implication for lake restoration. **Chemosphere**, v. 239, p. 124702, 2020. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2019.124702>>.

CAPÍTULO 3

Efeitos da intensificação de pastagens e do cultivo de cana-de-açúcar em espécies não-alvo: uma avaliação realística em mesocosmos contaminados por agrotóxicos

Isabele Baima Ferreira Freitas*, Paulo José Duarte Neto, Laís Roberta Sorigotto, Maria Paula Cardoso Yoshii, Laís Fernanda de Palma Lopes, Mickaelle Maria de Almeida Pereira, Laís Giroto, Danillo Badolato Athayde, Bianca Veloso Goulart, Cassiana Montagner, Luis Cesar Schiesari, Luiz Antônio Martinelli, Evaldo Luiz Gaeta Espíndola

RESUMO

O manejo convencional do solo em áreas agrícolas pode expor organismos não-alvo a vários tipos de contaminantes. Neste estudo, os efeitos do manejo do solo em pastagem extensiva (PE), pastagem intensiva (PI) e culturas de cana-de-açúcar (C) foram avaliados em um estudo de campo em escala realista. Treze mesocosmos aquáticos inseridos nos tratamentos PE, PI e C foram monitorados durante 392 dias. O manejo recomendado para cada uma das áreas foi simulado, como preparação do solo, aplicação de fertilizantes, agrotóxicos (2,4-D, fipronil) e vinhaça, bem como a pastagem do gado. Para avaliar os possíveis efeitos tóxicos que as diferentes etapas do manejo do solo nessas áreas podem causar, o cladóceros *Ceriodaphnia silvestrii* foi usado como bioindicador aquático, a dicotiledônea *Eruca sativa* como bioindicador de fitotoxicidade na água e o díptero *Chironomus sancticaroli* como bioindicador do sedimento. Modelos lineares mistos generalizados foram usados para identificar diferenças entre os tratamentos. Baixas concentrações de 2,4-D ($< 97 \mu\text{g L}^{-1}$) e fipronil ($< 0,21 \mu\text{g L}^{-1}$) na água foram capazes de alterar a fecundidade, a sobrevivência das fêmeas e a taxa intrínseca de aumento da população de *C. silvestrii* nos tratamentos PI e C. Da mesma forma, a dicotiledônea *E. sativa* teve a germinação, o crescimento da parte aérea e raiz afetados principalmente pelas concentrações de 2,4-D na água. Para *C. sancticaroli*, não foram observadas mudanças significativas na mortalidade, deformidades do mentum, comprimento do corpo, biomassa fresca e peso seco livre de cinzas. A elucidação desses tipos de respostas pode melhorar a compreensão

das consequências da exposição da biota de água doce a estressores complexos em um ambiente que muda rápido e constantemente.

Palavras-chave: Manejo do solo. 2,4-D. Fipronil. Fertilizante. Vinhaça. Contaminantes emergentes.

1 INTRODUÇÃO

A mudança no uso da terra se tornou uma das principais ameaças à proteção e à preservação da biodiversidade em todo o mundo (Taniwaki et al., 2017). No processo de substituição de florestas para o estabelecimento de monoculturas, sistemas naturais complexos, multiestruturados, diversificados e estáveis são transformados em sistemas artificiais simplificados e instáveis (Dolezal et al., 2019). As monoculturas são baseadas em práticas agrícolas convencionais que envolvem intenso manejo do solo e vêm sendo conduzidas desde o advento da Revolução Verde, implicando riscos potenciais a diferentes matrizes ambientais, como ar, solo e água (Pinto et al., 2021b). No Brasil, duas matrizes de uso da terra são reconhecidas como uma das principais bases econômicas do país: áreas de pastagem para gado e cultivo de cana-de-açúcar (Freitas et al., 2023).

A cana-de-açúcar é uma cultura de bioenergia muito difundida, e a crescente demanda global por bioenergia impulsionou a intensificação do seu cultivo para a produção de etanol, especialmente no Brasil (Bento et al., 2018), que é o maior produtor de etanol à base de cana-de-açúcar do mundo (Filoso et al., 2015). Como resultado, áreas de pastagens extensivas estão sendo convertidas em plantações de cana-de-açúcar, enquanto o manejo das pastagens restantes está se tornando intensivo (Filoso et al., 2015). O manejo do solo é geralmente mais intenso durante o verão (estação chuvosa) nos trópicos, o que, juntamente com a forte precipitação nessa estação, leva ao transporte excessivo de contaminantes e nutrientes para os ecossistemas aquáticos por meio do escoamento superficial (Taniwaki et al., 2017).

As culturas de cana-de-açúcar são cultivadas com práticas intensivas de manejo do solo, como o preparo do solo, a correção da acidez (calagem), o uso de fertilizantes (sintéticos e orgânicos) e agrotóxicos. No Brasil, 126 ingredientes ativos de agrotóxicos são permitidos para uso nas culturas de cana-de-açúcar, e 947 novos produtos formulados foram registrados nos

últimos quatro anos (2019-2022) (AGROFIT, 2023). Entre esses agrotóxicos, destacam-se o herbicida ácido 2,4-diclorofenoxiacético (2,4-D) e o inseticida fipronil (IBAMA, 2021; IEA, 2023). O herbicida sistêmico 2,4-D é o segundo herbicida para cana-de-açúcar mais utilizado no Brasil (IBAMA, 2021), atua como inibidor do crescimento de plantas dicotiledôneas por meio da divisão celular descontrolada no tecido vascular (Benli et al., 2007). O inseticida sistêmico fipronil age perturbando o receptor do ácido gama aminibutírico (GABA) nos neurônios do sistema nervoso central dos insetos, causando hiperexcitação e subsequente morte dos organismos (Ramasubramanian; Paramasivam, 2017). Ambos os agrotóxicos já foram relatados em corpos d'água no entorno de áreas de cultivo de cana-de-açúcar no Brasil, com concentrações variando de 150 e 252 ng L⁻¹ e 2 a 122 ng L⁻¹ para 2,4-D e fipronil, respectivamente (CETESB, 2022).

Além disso, a água residuária da produção de etanol, vinhaça da cana-de-açúcar, é utilizada como suplemento para a fertilização do solo em culturas de cana-de-açúcar, e sua presença não é incomum em águas doces brasileiras (Martinelli; Filoso, 2008). A vinhaça tem baixo potencial hidrogeniônico (pH), alta condutividade elétrica (Cond) e altas concentrações de sulfato, matéria orgânica e metais, especialmente potássio (Christofoletti et al., 2013; Reis; Hu, 2017; Rodrigues Reis et al., 2019). Alguns estudos relatam que tanto fertilizantes sintéticos (por exemplo, nitrato de amônio, superfosfato simples) quanto orgânicos (por exemplo, vinhaça) são uma fonte de nutrientes (Gimeno-García; Andreu; Boluda, 1996) e outras impurezas, como metais (por exemplo, chumbo, cádmio, cobre, zinco, cromo, manganês, ferro e níquel) (BENTO et al., 2021a).

Dentro deste contexto, é cada vez mais comum a presença de uma mistura de contaminantes emergentes nos ecossistemas aquáticos (Gücker; Boëchat; Giani, 2009). A ação conjunta de moléculas variadas com diferentes modos de ação pode causar um número potencialmente ilimitado de efeitos aditivos, sinérgicos ou antagônicos em organismos de diferentes níveis de organização biológica (Panizzi; Suciú; Trevisan, 2017), levando a vários efeitos em cascata na teia alimentar e a perdas de serviços ecossistêmicos essenciais (Malaj et al., 2014; Pinto et al., 2021b). A previsão dos efeitos tóxicos de diferentes contaminantes no meio ambiente pode ser avaliada por meio de ensaio ecotoxicológicos utilizando organismos de diferentes níveis tróficos como bioindicadores (Magalhães; Ferrão, 2008).

Os cladóceros têm sido usados com frequência como bioindicadores devido à sua importância em ambientes de água doce. Por exemplo, o cladócero neotropical *Ceriodaphnia silvestrii* é uma espécie nativa e representativa (comum e abundante) em águas doces tropicais da América do Sul, especialmente no Brasil (Fonseca; Rocha, 2004a). *C. silvestrii* tem um ciclo de vida curto, facilidade de cultivo em laboratório, critérios para testes padronizados (ABNT, 2017) e tem se mostrado um bioindicador eficiente para vários tipos de contaminantes (Freitas et al., 2022a; Silva et al., 2020). Da mesma forma, as larvas de dípteros, como as da família Chironomidae, desempenham um papel importante na cadeia alimentar do ecossistema aquático (Pinto et al., 2021c) e podem ser expostas a produtos químicos por meio de água e sedimentos contaminados (Brennan et al., 2009). Por exemplo, a espécie *Chironomus sancticaroli* é um mosquito comum na América do Sul e representa os organismos mais abundantes da comunidade bentônica (Fonseca; Rocha, 2004b), e tem sido usada com sucesso em testes de toxicidade (Morais et al., 2019; Pinto et al., 2023; Richardi et al., 2018). Sob essa mesma perspectiva, a irrigação com água contaminada por agrotóxicos pode comprometer a produtividade das culturas adjacentes devido a sua potencial fitotoxicidade (Poudyal et al., 2019). As dicotiledôneas, como a espécie *Eruca sativa*, provaram ser boas representantes para avaliar a fitotoxicidade de ambientes contaminados por agrotóxicos (Freitas et al., 2022a; Ogura et al., 2022a).

Trabalhos relacionados abordaram os efeitos tóxicos do 2,4-D e do fipronil e suas misturas em organismos de diferentes níveis tróficos (Moreira et al., 2022; Pinto et al., 2023; Freitas et al., 2022; Silva et al., 2020). No entanto, a maioria dos estudos se concentrou principalmente na previsão dos efeitos tóxicos de apenas um ou dois estressores em estudos de laboratório, desconsiderando que os contaminantes ocorrem em mistura com uma variedade de contaminantes em ambientes naturais e sob diferentes condições de qualidade da água (Freitas et al., 2022a). Experimentos em escala de campo com sistemas de integração macroecológica podem preencher essa lacuna de conhecimento produzindo resultados ecologicamente mais realistas (Beketov; Liess, 2012), especialmente quando são conduzidos ao longo do tempo.

Considerando esse cenário, no presente estudo avaliou-se os efeitos tóxicos que as práticas convencionais de manejo do solo conduzidas em pastagens extensivas (PE), pastagens intensivas (PI) e cultivo de cana-de-açúcar (C) podem causar, utilizando *C. silvestrii*, *C. sancticaroli* e *E. sativa* como espécies bioindicadoras. Esta pesquisa foi desenvolvida em modelos ecossistêmicos (mesocosmos) inseridos em matrizes de intensificação de pastagens e

cultivo de cana-de-açúcar para avaliar com maior precisão os efeitos tóxicos de múltiplos estressores e suas possíveis interações com variáveis ambientais.

2 MATERIAL E MÉTODOS

2.1 Área experimental e manejo do solo

As características da área experimental e o manejo do solo conduzidos nos tratamentos PE, PI e C estão descritos no Capítulo 1/Tópico 5 desta tese. A Figura 16 resume as etapas discutidas no presente capítulo.

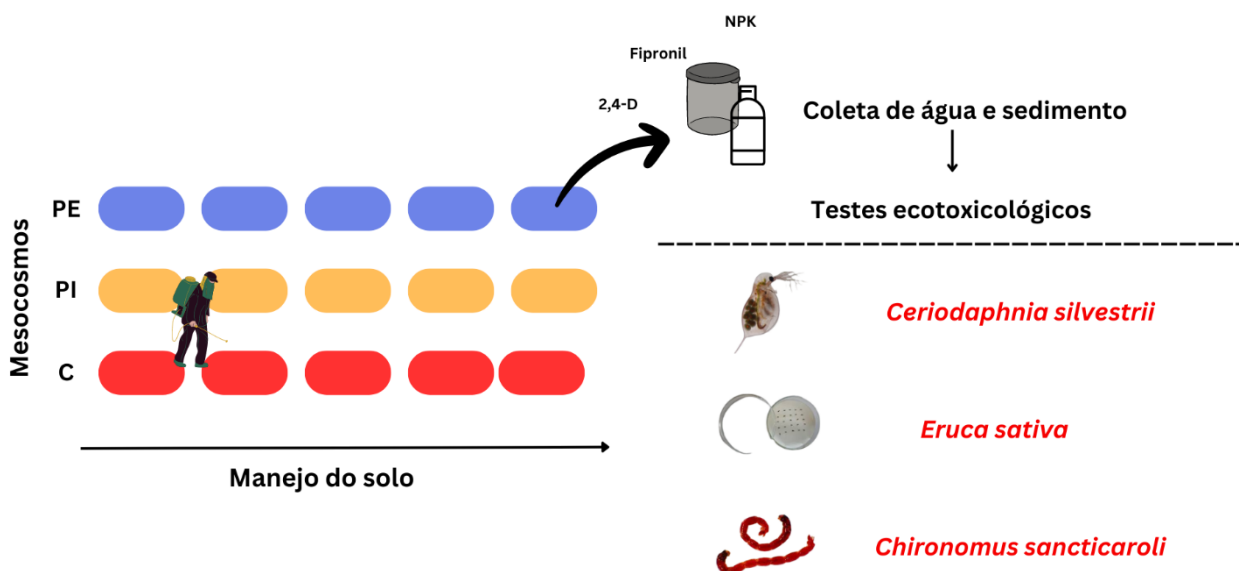


Figura 24 – Etapas discutidas no Capítulo 3

2.2 Testes de toxicidade

Os métodos para os testes de toxicidade realizados com as espécies *C. silvestrii*, *C. sancticaroli* e *E. sativa* estão descritos a seguir.

2.2.1 *Ceriodaphnia silvestrii*

Os neonatos de *C. silvestrii* foram obtidos de uma cultura interna contínua estabelecida no Núcleo de Ecotoxicologia e Ecologia Aplicada (NEEA/CRHEA/EESC/USP). Os métodos para os procedimentos de cultivo e testes de toxicidade seguiram as recomendações do protocolo padrão 13373:2017 desenvolvido para essa espécie (ABNT, 2017). A cultura, com idades sincronizadas, foi mantida em água reconstituída filtrada com pH entre 7,0 e 7,6; Cond de 160 $\mu\text{S cm}^{-1}$; dureza entre 40 e 48 $\text{mgCaCO}_3 \text{ L}^{-1}$ (ASTM 2001); sob controle de temperatura ($24 \pm 0,2$ C), de regime de luz (12:12 h claro/escuro) e de intensidade luminosa (~ 1000 lux) (ABNT, 2017). Os organismos foram alimentados em intervalos de 48 h com uma suspensão de algas (*Raphidocelis subcapitata* – 1×10^6 células mL^{-1}) e uma solução composta de levedura do tipo Fleishman (0,5%) e ração de peixe fermentada (TetraMin® 0,5%) (1 mL L^{-1}) (ABNT, 2017).

Os testes de toxicidade agudos e crônicos seguiram os protocolos estabelecidos pela norma 13373:2017 (ABNT, 2017 - adaptado). Todos os ensaios foram realizados com as amostras in natura e não diluídas. Para os testes de toxicidade aguda, os recipientes foram preenchidos com 10 mL de amostra ou 10 mL de água reconstituída (controle) e cinco neonatos (6-24 h de idade) por réplica (quadruplicata). Os experimentos foram mantidos a 25 ± 1 °C, sem adição de alimentos, e no escuro por 48 h. Após a exposição, o número de indivíduos imóveis foi quantificado.

Os testes de toxicidade crônica foram realizados usando cinco réplicas, cada uma contendo um neonato (6-24 h de idade) em 15 mL de amostra ou 15 mL de água reconstituída (controle). Os testes foram semiestáticos, com renovação das amostras e alimentação a cada 48 horas após o registro do número de adultos e neonatos sobreviventes. Os organismos foram alimentados e mantidos sob as mesmas condições de temperatura, fotoperíodo e meio descritas para a manutenção da cultura, e a duração do experimento foi de oito dias. A porcentagem de sobrevivência das fêmeas e o número de recém-nascidos por fêmea (fecundidade) foram avaliados a cada 48 h. A taxa intrínseca de aumento populacional (r) foi calculada partir da equação de Euler-Lotka (de acordo com Marinho et al., 2019).

$$1 = \sum_{x=0}^n e^{-rx} l_x m_x$$

em que:

"r" é a taxa intrínseca de aumento da população (d^{-1});

"x" é a idade dos organismos (dias);

"lx" é a probabilidade de sobrevivência na idade "x";

"mx" é o número de recém-nascidos na idade x.

Testes de toxicidade agudos foram realizados mensalmente com a substância de referência cloreto de sódio (NaCl) nas concentrações 0,6; 1,0; 1,3; 1,6; 2,2 g L⁻¹ (ABNT, 2017) para garantir que os organismos usados nos experimentos estivessem em boas condições fisiológicas. Os parâmetros pH (micronal B374), condutividade (Oriom 145) e oxigênio dissolvido (OD) (YSI55-25 ft) foram verificados no início e no final dos experimentos agudos e crônicos.

2.2.2 *Chironomus sancticaroli*

As larvas de *C. sancticaroli* foram obtidas de cultura contínua estabelecida no Núcleo de Ecotoxicologia e Ecologia Aplicada (NEEA/CRHEA/EESC/USP). As culturas foram mantidas em bandejas plásticas contendo 1 kg de sedimento fino esterilizado (queimado a 550 °C por 2 h) e 4 L de água de cultivo (pH: 7,0-7,5; Cond: 50,5 ± 1,4 μS cm⁻¹; dureza: 12-16 mg CaCO₃ L⁻¹) (Fonseca; Rocha, 2004b). As bandejas de cultivo foram mantidas com aeração constante, além de temperatura (25 ± 1 °C) e regime de luz (12:12 claro: escuro) controlados. A água de cultivo foi renovada semanalmente, e novas culturas foram estabelecidas mensalmente. As bandejas foram cobertas com gaiolas de náilon para evitar a oviposição por outras espécies e para reter os organismos adultos (mosquitos). As larvas foram alimentadas com uma suspensão de Tetramin® (5 g L⁻¹) batida em liquidificador por 10 minutos (25 mL por bandeja). Para os testes de toxicidade, as larvas recém-eclodidas foram mantidas por cinco dias em novas bandejas até o início do teste.

Os testes de toxicidade foram baseados no protocolo da USEPA (2000) e aplicado com sucesso anteriormente (Pinto et al., 2021c, 2023). Os testes de toxicidade foram realizados sob as mesmas condições ambientais descritas para a manutenção da cultura. As larvas foram inseridas em recipientes plásticos atóxicos com uma proporção de 240 mL de água de cultivo e 60 g de sedimento fino esterilizado para o controle; e 175 mL de água de cultivo para 100 mL de

sedimento dos mesocosmos. O sedimento usado no controle foi o mesmo usado nas culturas, previamente calcinado (550 °C) e sem conteúdo de matéria orgânica. Os testes foram realizados em triplicata para os mesocosmos de cada tratamento, com 10 larvas (5 dias de idade) por réplica. O período de exposição foi de oito dias para evitar a metamorfose (Pinto et al., 2021c), de acordo com o ciclo de vida descrito por Fonseca e Rocha (2004b). As larvas foram alimentadas a cada 48 horas (suspensão de Tetramin®) seguindo a mesma proporção de alimentação das culturas. Cada réplica foi aerada por 30 segundos a cada 48 horas para evitar a anoxia das amostras devido ao alto teor de matéria orgânica nas amostras ambientais. Os parâmetros de qualidade da água pH (micronal B374), oxigênio dissolvido, temperatura (YSI55-25 ft) e condutividade (Oriom 145) foram medidos no início e no final dos testes. No final dos testes, os organismos foram preservados em etanol 70% para avaliação do comprimento do corpo, biomassa e deformidades do mentum.

2.2.2.1 Estimativa do comprimento do corpo e da proporção de biomassa

As larvas preservadas de *C. sancticaroli* foram dispostas em lâminas e fotografadas para medição do comprimento do corpo usando o software Kinovea 0.8.15, que foi calibrado com papel milimetrado. O tamanho do corpo foi medido a partir de uma linha que começa no topo da cabeça até as papilas anais (Pinto et al., 2021c). A biomassa fresca e o peso seco livre de cinzas (AFDW) dos organismos foram estimados usando o modelo de regressão linear descrito por Pinto et al. (2021c) de acordo com a USEPA (2000). O modelo relaciona a biomassa dos organismos ao comprimento do corpo das larvas.

2.2.2.2 Deformidades do mentum e estágio de desenvolvimento

Para avaliar a presença ou ausência de deformidades, as cápsulas da cabeça das larvas de *C. sancticaroli* foram removidas do corpo e colocadas em lâminas semipermanentes com meio de Hoyer. A estrutura bucal dos organismos foi analisada em um microscópio óptico com aumento de 200x. Quatro tipos de deformidades foram considerados os principais: dentes ausentes; dentes extras; lacuna de Koehn; e bifurcação dos dentes centrais medianos (Kuhlmann; Hayashida; Araújo, 2000). Além disso, o desvio da configuração mental normal foram

consideradas deformidades (Pinto et al., 2021c). A presença de dentes desgastados foi registrada como uma alteração, mas não deformação; e os dentes quebrados foram pontuados, mas não foram considerados uma deformidade, pois poderiam ter ocorrido devido ao manuseio da amostra (Pinto et al., 2021b). A largura da cápsula da cabeça foi medida em um microscópio estereoscópico para determinar o estágio de desenvolvimento das larvas (Fonseca; Rocha, 2004b). Após oito dias de exposição, espera-se que a maioria das larvas de *C. sancticaroli* atinja o quarto instar de desenvolvimento (Fonseca; Rocha, 2004b).

2.2.3 *Eruca sativa*

Os bioensaios de germinação de sementes com *E. sativa* determinaram a fitotoxicidade das amostras de água coletadas dos mesocosmos (adaptado de USEPA, 1996). Os bioensaios foram realizados em placas de Petri com papel de filtro (gramatura do papel 80 g, Unifil), dez sementes de *E. sativa* e 1 mL de amostra de água dos mesocosmos ou água destilada (controle de laboratório). As placas de Petri foram incubadas em uma câmara escura com temperatura controlada (20 ± 2 °C) por 96 h. As sementes usadas nos testes foram Isla Sementes®, rúcula orgânica de folha larga gigante (Lote 108343 e germinação média de 92%). O teste foi realizado em triplicata, e os *endpoints* finais avaliados foram a porcentagem de germinação das sementes e os comprimentos médios da parte aérea e raiz. Para validação do teste, adotou-se pelo menos 70% de germinação das sementes no controle de laboratório (USEPA, 1996).

3.1 Amostragem e análises químicas

As amostras de água foram coletadas dos mesocosmos em garrafas plásticas atóxicas para análise de toxicidade durante os dois ciclos da cana-de-açúcar, mensalmente ou após algum tipo de manejo do solo (total de 17 amostragens - Tabela 1). As amostras de sedimento foram coletadas dos mesocosmos a partir do segundo ciclo da cana-de-açúcar, quando o sedimento estava consolidado e com volume suficiente para coleta nos mesocosmos, totalizando sete amostragens para avaliação da toxicidade. As coletas de sedimento foram realizadas com o

auxílio de um *core sampler*, constituído de um tubo de PVC de 10 cm de diâmetro, que permite a obtenção de amostras de sedimentos não perturbados e consolidados.

Os parâmetros *in situ* da água foram medidos com uma sonda multiparâmetro (Modelo YSI Pro DSS) (ou seja, pH, DO, Cond e turbidez - Turb), bem como a clorofila a (Cla) (AquaFluor® Turner Designs). Os nutrientes na água foram quantificados por espectroscopia (Shimadzu UV-2101PC): Nitrogênio Kjeldahl (NT) (Kjeldahl, 1883), fósforo total (PT), fosfato total dissolvido (PTD), fosfato inorgânico total (PI) (APHA, 1995), nitrato (NO_3^-) (Mackereth et al., 1978), íon amônio (NH_4^+) (Koroleff, 1976), nitrito (NO_2^-) e silicato reativo (SiO_2) (Golterman et al., 1978).

A determinação das concentrações de agrotóxicos na água (fipronil e 2,4-D) e no sedimento (2,4-D, fipronil e os metabólitos do fipronil - fipronil sulfona e fipronil sulfide) foi realizada usando um equipamento de cromatografia líquida Agilent 1200 (ESI - Agilent 6410) acoplado a um espectrômetro de massa Agilent 6410B com ionização por *eletrospray* (Agilent Technologies-Santa Clara, EUA). A metodologia, a linearidade, os limites de detecção, os limites de quantificação, a veracidade, a precisão e o efeito de matriz para as amostras de água estão descritos detalhadamente em Goulart et al. (2020).

Para a determinação de agrotóxicos no sedimento, foi realizada a extração sólido-líquido nas amostras. As amostras de sedimento foram inicialmente secas ao ar em condições ambiente e peneiradas em peneiras com tamanho de partículas de 1,0 mm. Em seguida, 10 g da amostra foram adicionadas a tubos Falcon de 50 mL e acidificadas com 1 mL de ácido sulfúrico $0,1 \text{ mol L}^{-1}$. A extração foi realizada em dois ciclos de 10 minutos empregando-se 20 mL de diclorometano por ciclo. A cada ciclo, a mistura foi homogeneizada em Vortex por 1 minuto, sonicada por 10 min em banho ultrassônico e, em seguida, a fase orgânica foi separada por centrifugação a 4000 rpm por 10 min. Ao final de cada ciclo, a fase orgânica foi coletada e seca sob fluxo constante de nitrogênio a $22 \text{ }^\circ\text{C}$. O extrato seco foi ressuspensão em 1,5 mL de uma mistura MeOH- H_2O 70:30 v/v contendo $50 \text{ } \mu\text{g L}^{-1}$ de 2,4-D (anel $^{13}\text{C}_6$) e fipronil (pirazol- $^{13}\text{C}_3$, ciano- ^{13}C) utilizados como padrão interno. Em seguida, o extrato foi filtrado empregando filtro de seringa de PTFE hidrofóbico ($0,45 \text{ } \mu\text{m}$) (Amarante *et al.*, 2003; Tetzner *et al.*, 2016). Quando necessário, os extratos foram diluídos em uma mistura H_2O -MeOH 70:30 v/v para posterior análise por LC-MS/MS empregando padronização interna.

Tabela 24 - Etapas de manejo do solo realizadas nos tratamentos de pastagem extensiva (PE), pastagem intensiva (PI) e cana-de-açúcar (C) durante os dois ciclos da cana-de-açúcar, que incluem: a data de amostragem; o evento realizado e seu respectivo tratamento; a abreviação do evento; coletas de água (A) e coletas de sedimento (S).

Ciclo	Coleta	Evento	Tratamento	Abreviação	A	S
1°	1 (18/12/18)	Fertilizante/Fipronil	C	a/b		-
	2 (16/01/19)	-	-	-		-
	3 (04/02/19)	2,4-D	PI/C	c		-
	4 (07/03/20)	-	-	-		-
	5 (07/04/20)	-	-	-		-
	6 (08/05/19)	Pastagem	PE/PI	d		-
	7 (04/06/19)	-	-	-		-
	8 (16/07/19)	-	-	-		-
	9 (06/08/19)	2,4-D	PI	e		-
	10 (05/09/19)	-	-	-		-
	11 (15/10/19)	-	-	-		-
	12 (22/10/19)	Corte da cana	C	f		
2°	13 (30/10/19)	Fertilizante	PI/C	g		
	14 (11/11/19)	Vinhaça	C	h		
	15 (26/11/19)	Fipronil	C	i		
	16 (10/12/19)	2,4-D	PI/C	j		
	17 (10/01/20)	Pastagem	PE/PI	k		

4.1 Análises estatísticas

A análise estatística foi realizada usando o software estatístico R versão 4.0.0 (R Core Team, 2022) com a aplicação do Rstudio versão 2022.02.0+443©, 2009-2022 (RStudio, 2022). As variáveis físico-químico-biológicas da água - pH, Cond, Cla, TP, TDP, TIP, TN, NO₂⁻, NO₃⁻, NH₄⁺, and SiO₂ - foram submetidas à análise de componentes principais (PCA) para reduzir a dimensionalidade dos dados (k = 11). A PCA foi realizada usando o pacote "FactoMineR" (Le; Josse; Husson, 2008) com base na matriz de variância e covariância dos dados em escala obtidos das amostragens durante os dois ciclos da cana-de-açúcar. A análise *Parallel* foi usada para reter

os componentes principais mais significativos para a representação dos dados usando o pacote *psych* (Revelle, 2022). Os componentes principais (CPs) retidos foram usados como covariáveis nos Modelos Mistos Lineares Generalizados (GLMM). O GLMM foi realizado usando o pacote "lme4" (Bates et al., 2015), considerando a pastagem extensiva como tratamento de referência em um nível de significância de 5%.

No GLMM para as espécies *C. silvestrii* e *E. sativa*, as variáveis explicativas foram os tratamentos (PE, PI e C), os agrotóxicos (2,4-D e Fipronil) e as CPs retidas (CP1, CP2, CP3, CP4). Para a espécie *C. sancticarolli*, as variáveis explicativas foram os tratamentos (PE, PI e C), e os agrotóxicos (ou seja, 2,4-D, fipronil, fipronil sulfona e fipronil sulfide). O tempo e os mesocosmos foram considerados como efeitos aleatórios em todos os modelos mistos. Foi realizado um modelo linear generalizado (GLM) entre as variáveis resposta e cada uma das variáveis explicativas para descobrir a ordem de entrada das variáveis no GLMM de acordo com a menor *deviance*.

A escolha do melhor modelo foi feita com base nos valores do Critério de Informação de Akaike (AIC), corrigidos para o tamanho pequeno da amostra (AICc) (Hobbs; Hilborn, 2006). As diferenças entre os modelos foram consideradas quando o AIC foi superior a duas unidades (Burnham; Anderson, 2002). A significância de cada uma das variáveis explicativas foi realizada de forma hierárquica, a partir da comparação entre o modelo completo e os modelos mais simples (ou seja, primeiro removendo o efeito aleatório, seguido pelos componentes principais e interações, e por cada variável individualmente). O ajuste do modelo foi avaliado por meio da análise dos gráficos de resíduos.

As variáveis resposta para os modelos da *C. silvestrii* foram imobilidade, fecundidade, taxa intrínseca de aumento da população (r), modelada usando distribuição gaussiana e função de ligação de identidade; e sobrevivência das fêmeas, modelada usando distribuição de probabilidade binomial e função de ligação logit. As variáveis resposta para os modelos de *E. sativa* foram germinação, modelada usando distribuição de probabilidade binomial e função de ligação logit; comprimento da parte aérea e raiz, ambos modelados usando distribuição gaussiana e função de ligação de identidade. As variáveis resposta para o *C. Sancticarolli* foram mortalidade, deformidades do mentum e larvas no quarto instar, modeladas usando distribuição de probabilidade binomial e função de ligação logit; e comprimento do corpo, biomassa fresca e peso seco livre de cinzas (PSLC), modelados usando distribuição gaussiana e função de ligação

de identidade. Além disso, os mesocosmos PE5 e C3 foram desconsiderados nas análises, pois foram perdidos durante o período experimental.

3 RESULTADOS

O controle laboratorial para todas as espécies testadas teve suas premissas aceitas, de acordo com o padrão para cada espécie: sobrevivência acima de 90% para *C. silvestrii* (ABNT, 2017); germinação acima de 70% para *E. sativa* (USEPA, 1996; Ogura et al., 2022) e sobrevivência acima de 80% para *C. sancticaroli* (USEPA, 2000; Pinto et al., 2021b).

As três primeiras CPs foram retidas pela análise *Parallel* (Apêndice B1). No entanto, a CP4 foi considerada dentro dos modelos para explicar os resultados obtidos de forma mais assertiva. As quatro CPs foram responsáveis por 75,1% da variância total dos dados originais (Fig. S2). A CP1 (34,3%) foi correlacionada com PT, PTD, PI e Cond; a CP2 (16,7%) foi relacionada com NO_2^- e pH; a CP3 (15,7%) foi correlacionada com SiO_2 , TN e NO_3^- ; e a CP4 (8,3%) foi representada por Cla e NH_4^+ (Apêndice B2 e B3).

As concentrações do herbicida 2,4-D na água variaram de 0 a $0,16 \mu\text{g L}^{-1}$; 0 a $5,30 \mu\text{g L}^{-1}$; e 0 a $97,97 \mu\text{g L}^{-1}$ nos tratamentos PE, PI e C, respectivamente. As concentrações do inseticida fipronil na água variaram de 0 a $0,003 \mu\text{g L}^{-1}$; 0 a $0,005 \mu\text{g L}^{-1}$; 0 a $0,21 \mu\text{g L}^{-1}$ nos tratamentos PE, PI e C, respectivamente. A concentração máxima de 2,4-D ($97,97 \mu\text{g L}^{-1}$) na água foi detectada no mesocosmo C5 após a segunda aplicação de 2,4-D (evento j), enquanto a concentração máxima de fipronil ($0,21 \mu\text{g L}^{-1}$) foi verificada no mesocosmo C2 após a aplicação de vinhaça (evento h).

No que diz respeito às amostras de sedimento, o herbicida 2,4-D não foi detectado em nenhum tratamento. Por outro lado, as concentrações de fipronil variaram de 0 a $49,3 \text{ ng g}^{-1}$; 0 a $374,9 \text{ ng g}^{-1}$; e 0 a $402,6 \text{ ng g}^{-1}$ nos tratamentos PE, PI e C, respectivamente. A concentração máxima de fipronil ($402,6 \text{ ng g}^{-1}$) foi verificada no mesocosmo C1 na coleta 17 (evento k – após pastagem do gado). O subproduto do fipronil, fipronil sulfona, variou de 0 a $87,5 \text{ ng g}^{-1}$; 0 a $190,0 \text{ ng g}^{-1}$; e 0 a $540,0 \text{ ng g}^{-1}$ nos tratamentos PE, PI e C, respectivamente. A concentração máxima de fipronil sulfona ($540,0 \text{ ng g}^{-1}$) foi observada no mesocosmo C1 na coleta 13 (evento g – após fertilizante). O subproduto fipronil sulfide variou de 0 a $146,5 \text{ ng g}^{-1}$; 0 a $145,9 \text{ ng g}^{-1}$; e 0

a 71,7 ng g⁻¹ nos tratamentos PE, PI e C, respectivamente. A concentração máxima de fipronil sulfide (146,5 ng g⁻¹) foi verificada no mesocosmo EP4 na coleta 11.

3.1 *Ceriodaphnia silvestrii*

Os resultados dos GLM (Apêndice B4) definiram a ordem de entrada das variáveis explicativas nos GLMM para as variáveis resposta imobilidade, fecundidade, sobrevivência das fêmeas e *r*. No geral, foram observadas baixas porcentagens de imobilidade em todos os tratamentos (Figura 25A), registradas de forma aleatória e em sua maioria no tratamento PE. A imobilidade observada no tratamento PE ocorreu principalmente no período seco (da 7^a à 12^a coleta) (Figura 25A). No tratamento PI, a imobilidade de *C. silvestrii* aumentou após a aplicação de 2,4-D (eventos e) (Figura 25A), e a maior porcentagem de organismos imóveis (100%) foi observada no mesocosmo PI3 (concentrações de 2,4-D e fipronil de 0,41 e 0,0007 µg L⁻¹, respectivamente). No tratamento C, a imobilidade aumentou após a primeira aplicação de 2,4-D (evento c), e a maior porcentagem de organismos imóveis (50%) foi observada no mesocosmo C4 (concentrações de 2,4-D e fipronil de 0,49 e 0,005 µg L⁻¹, respectivamente).

Apesar disso, não foi observada diferença estatisticamente significativa entre os tratamentos PE, PI e C no modelo final (m15), o qual foi composto apenas pelas variáveis aleatórias tempo e mesocosmo (Apêndice B5, B6 e B7), que explicaram 4,2% e 4,8% da variabilidade nos dados de imobilidade, respectivamente. Dentre os pacotes (lme4, pscl, gamlss, zoib) e distribuições testadas (binomial, binomial negativa, poisson, gaussiana), não foi possível definir a modelagem mais adequada para esta variável. No entanto, a distribuição gaussiana e a função de ligação identidade foram escolhidas pela simplicidade na análise dos resultados e por traduzir melhor os resultados observados (Apêndice B7).

A fecundidade diminuiu nos tratamentos PI e C em comparação com o tratamento PE (Tabela 25). A fecundidade diminuiu no tratamento PI quando associada à CP1 (PDT, PI, PT, Cond), CP3 (SiO₂, NT, NO₃⁻) e ao inseticida fipronil (Tabela 25); e diminuiu no tratamento C quando associada à CP1 (PDT, PI, PT, Cond), CP2 (NO₂⁻, pH), CP3 (SiO₂, NT, NO₃⁻) e ao inseticida fipronil, em comparação com o intercepto (tratamento PE). Os valores significativos obtidos entre os tratamentos (PI e C) e CP1, CP2 e CP3 mostraram uma relação substancial entre os parâmetros físico-químicos e a fecundidade. Além disso, a fecundidade apresentou um padrão

sazonal em todos os tratamentos (Figura 25B), sendo maior na estação chuvosa (amostras 1 a 5 e 11 a 17) e menor na estação seca (amostras 6 a 10).

O modelo que melhor descreveu os dados de fecundidade de *C. silvestrii* foi o m9 (Apêndice B8 e B9), e a distribuição gaussiana e a função de ligação identidade foram consideradas adequadas (Apêndice B10). As variáveis explicativas Tratamento, 2,4-D, Fipronil, CP1, CP2 e as interações 2,4-D*Tratamento, Fipronil*Tratamento, CP1*Tratamento, CP2*Tratamento e CP3*Tratamento foram importantes para o modelo final (Apêndice B8). O efeito aleatório do tempo e dos mesocosmos explicou 52,10% e 4,83% da variabilidade nos dados de fecundidade, respectivamente. Os coeficientes do modelo m9 para fecundidade apresentaram valores de p significativos ($<0,05$) para as variáveis explicativas descritas na Tabela 25 (CP1, CP3, Fipronil, CP2, Tratamento PI*CP1, Tratamento C*CP1, Tratamento PI*CP3, Tratamento C*CP3, Tratamento PI*Fi, Tratamento C*Fi, Tratamento C*CP2). Esses resultados mostram uma relação significativa entre os parâmetros físico-químicos (CPs) e a variável resposta fecundidade.

A sobrevivência das fêmeas foi significativamente diferente entre os tratamentos ($p < 0,05$), diminuindo nos tratamentos PI e C em comparação com o tratamento PE (Tabela 25). As interações dos tratamentos PI e C com CP3 (SiO_2 , NT, NO_3^-) e CP4 (Cl $^-$ e NH_4^+) também foram significativas ($p < 0,05$) (Tabela 25), mostrando que os parâmetros e processos físico-químicos representados por esses CPs influenciaram a sobrevivência das fêmeas nesses tratamentos. Após a primeira aplicação de 2,4-D (evento c), a sobrevivência das fêmeas diminuiu no tratamento PI, com a menor taxa de sobrevivência (0%) nos mesocosmos PI2 (concentração de 2,4-D e fipronil de 2,1 e 0,0002 $\mu\text{g L}^{-1}$, respectivamente). Da mesma forma, os mesocosmos C1 e C4 (tratamento C) também registraram a morte de todas as fêmeas no final do teste (concentrações de 2,4-D e fipronil de 2,5 e 0,015 $\mu\text{g L}^{-1}$ em C1; e 0,49 e 0,005 $\mu\text{g L}^{-1}$ em C4, respectivamente).

Na coleta 8, a sobrevivência das fêmeas foi afetada em todos os tratamentos (média de 5%, 56% e 40% nos tratamentos PE, PI e C, respectivamente) (Figura 25C). Após a segunda aplicação de 2,4-D (evento j), a sobrevivência das fêmeas diminuiu nos tratamentos PI (média de 32%) e C (média de 80%) em relação ao tratamento PE (média de 80%). Nessa coleta, o PI pode ter sido mais afetado por CP3 (SiO_2 , NT, NO_3^-) e CP4 (Cl $^-$ e NH_4^+), uma vez que as concentrações de 2,4-D (média de 0,004 $\mu\text{g L}^{-1}$) e fipronil (média de 0,001 $\mu\text{g L}^{-1}$) não foram

significativas. Por outro lado, o tratamento C foi mais influenciado pela presença de 2,4-D (média de 41,79 $\mu\text{g L}^{-1}$) e fipronil (média de 0,035 $\mu\text{g L}^{-1}$) (Figura 25C).

O modelo que melhor descreveu os dados de sobrevivência das fêmeas de *C. silvestrii* foi o m11 (Apêndice B11 e B12), e a distribuição de probabilidade binomial e a função de ligação *logit* foram consideradas adequadas (Apêndice B13). As variáveis explicativas Tratamento, 2,4-D, Fipronil, CP2, CP3, CP4 e as interações Fipronil*Tratamento, CP3*Tratamento e CP4*Tratamento foram importantes para o modelo final. O efeito aleatório do tempo e dos mesocosmos explicou 34,18% e 2,21% da variabilidade dos dados para a sobrevivência das fêmeas, respectivamente. Os coeficientes do modelo m11 mostraram valores de p significativos ($<0,05$) para as variáveis explicativas descritas na Tabela 25 (Tratamento PI, Tratamento C, CP3, Fipronil, CP4, CP2, D, Tratamento PI*CP3, Tratamento C*CP3, Tratamento PI*Fi, Tratamento C*Fi, Tratamento PI*CP4, Tratamento C*CP4).

Não foi observada diferença estatisticamente significativa entre os tratamentos PE, PI e C para a variável r (Tabela 25). No entanto, a variável Fi e suas interações (Tratamento PI*Fi, Tratamento C*Fi) mostraram uma relação significativa com a variável r, que diminuiu nos tratamentos PI e C em comparação com o tratamento PE (Tabela 25). Semelhante à fecundidade, r apresentou uma tendência sazonal no tratamento PE, sendo mais alta na estação chuvosa (amostras 1 a 5 e 11 a 17) e mais baixa na estação seca (amostras 6 a 10) (Figura 25D). O modelo que melhor descreveu os dados para a taxa de crescimento da espécie *C. silvestrii* foi o m12 (Apêndice B14 e B15), e a distribuição gaussiana e a função de ligação de identidade foram consideradas adequadas (Apêndice B16). As variáveis explicativas Tratamento, 2,4-D, Fipronil e as interações 2,4-D*Tratamento, Fipronil*Tratamento foram importantes para o modelo final. O efeito aleatório do tempo e dos mesocosmos explicou 44,25% e 4,51% da variabilidade nos dados para r, respectivamente. Os coeficientes do melhor modelo (m12) para r apresentaram valores de p significativos ($<0,05$) para as variáveis explicativas descritas na Tabela 25 (Fipronil, Tratamento PI*Fi, Tratamento C*Fi).

Tabela 25 - Resultados do modelo misto linear (LMM) avaliando os efeitos das variáveis explicativas na série temporal de experimentos para a espécie *Ceriodaphnia silvestrii*. Os valores da estimativa do coeficiente (*estimate*), do desvio padrão (D.P) e do p-valor são descritos. O intercepto representa o tratamento PE. *valores de p significativos ($p < 0,05$).

<i>Endpoint</i>	<i>Modelo final</i>	<i>Efeitos fixos</i>	<i>Estimate</i>	<i>D.P</i>	<i>p-valor</i>
Imobilidade	m15	PE (Intercepto)	0,036	0,011	3,202
		PE (Intercepto)	10,051	8,429	0,233
		Tratamento PI	-6,494	8,322	0,435
		Tratamento C	-1,561	8,385	0,852
		CP1	-6,714	2,033	0,001*
		CP3	-1,481	0,348	0,000*
		Fi	51,292	12,716	0,000*
Fecundidade	m9	CP2	2,547	0,847	0,003*
		Tratamento PI*CP1	6,669	2,019	0,001*
		Tratamento C*CP1	6,751	2,021	0,001*
		Tratamento PI*CP3	1,017	0,348	0,004*
		Tratamento C*CP3	1,224	0,393	0,002*
		Tratamento PI*Fi	-83,265	13,986	0,000*
		Tratamento C*Fi	-51,776	12,716	0,000*
		Tratamento C*CP2	-2,824	0,889	0,002*
		PE (Intercepto)	6,434	1,554	0,000
		Tratamento PI	-3,944	1,596	0,013*
Sobrevivência das fêmeas	m11	Tratamento C	-4,871	1,533	0,001*
		CP3	0,261	0,158	0,098
		Fi	24,038	7,469	0,001*
		CP4	0,608	0,143	0,000*
		CP 2	0,280	0,100	0,005*
		D	0,192	0,115	0,097
		Tratamento PI*CP3	-0,679	0,199	0,001*
		Tratamento C*CP3	-0,523	0,199	0,008*
		Tratamento PI*Fi	-20,952	7,940	0,008*
		Tratamento C*Fi	-23,972	7,471	0,001*
		Tratamento PI*CP4	-0,386	0,213	0,071
		Tratamento C*CP4	-0,577	0,226	0,011*
		Taxa intrínseca de crescimento populacional (r)	m12	PE (Intercepto)	0,544
Fi	1,540			0,778	0,049*
Tratamento PI*Fi	-2,048			0,829	0,014*
Tratamento C*Fi	-1,541			0,778	0,049*

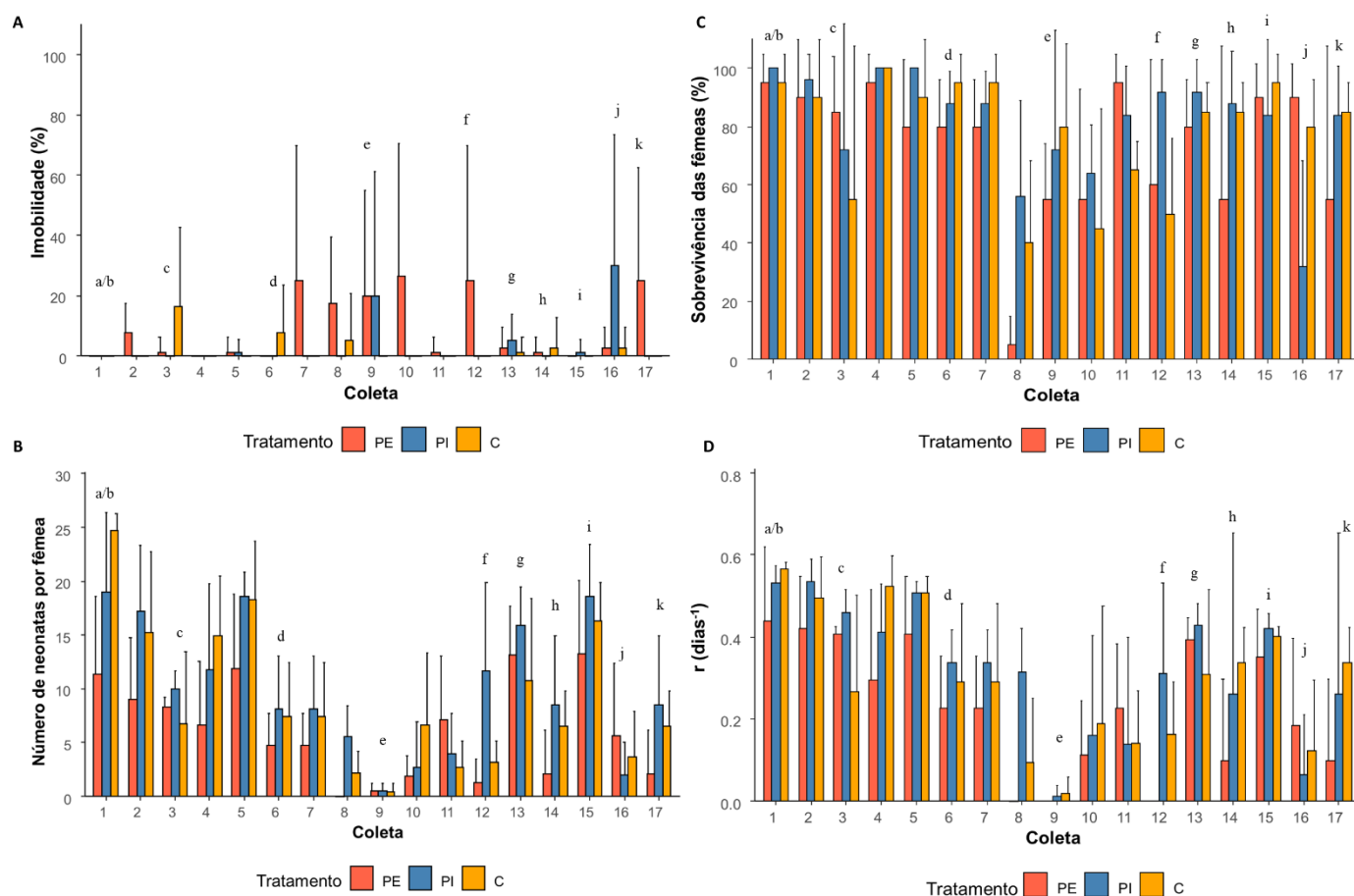


Figura 25 - A) Imobilidade; **B)** Número de neonatos por fêmea (fecundidade); **C)** Sobrevivência das fêmeas; e **D)** Taxa intrínseca de aumento populacional (r) da espécie *Ceriodaphnia silvestrii* após exposição a diferentes eventos de manejo do solo. PE = pastagem extensiva; PI = pastagem intensiva; C = cana-de-açúcar; a/b = após fertilizante (PI/C) e fipronil (C); c = após 2,4-D (PI/C); d = após pastagem do gado (PE/PI); e = após 2,4-D (PI); f = após corte da cana (PI/C); g = após fertilizante (C); h = após vinhaça (C); i = após fipronil (C); j = após 2,4-D; k = após pastagem do gado (PE/PI).

3.2 *Eruca sativa*

Os resultados dos GLM (Apêndice B17) definiram a ordem de entrada das variáveis explicativas nos GLMM para as variáveis resposta germinação, crescimento da parte aérea e raiz. A germinação de sementes, o crescimento da parte aérea e raiz diminuíram nos tratamentos PI e C em comparação com o tratamento PE, especialmente após a aplicação de 2,4-D nos dois ciclos de cana-de-açúcar. Na primeira aplicação de 2,4-D (evento c), foi observada menor média de crescimento da parte aérea e da raiz no tratamento C (1,19 e 1,98 cm, respectivamente) em comparação com os tratamentos PI (1,26 e 2,09 cm, respectivamente) e PE (1,22 e 2,29 cm, respectivamente) (Figura 26). O comprimento da parte aérea (1,09 cm) e da raiz (2,07 cm) atingiu seus valores mais baixos no mesocosmo C1, onde foram detectadas as concentrações mais altas de 2,4-D ($2,5 \mu \text{L}^{-1}$) e fipronil ($0,015 \mu \text{L}^{-1}$). Após o evento e (aplicação de 2,4-D no tratamento PI), foi observada uma redução no comprimento da raiz no tratamento PI (2,06 cm) em comparação com os tratamentos PE (2,31 cm) e C (2,21 cm) (Figura 26). Nessa coleta, a concentração média de 2,4-D no tratamento PI foi de $1,69 \mu \text{L}^{-1}$.

Após a aplicação de 2,4-D no segundo ciclo (evento j), a germinação de sementes, o comprimento da parte aérea e o comprimento da raiz atingiram seus valores mais baixos no tratamento C (67%, 0,85 cm e 0,78 cm, respectivamente), enquanto os valores para os tratamentos PI (64%, 1,06 cm e 1,31 cm, respectivamente) e PE (82%, 1,21 cm e 1,87 cm, respectivamente) foram mais altos (Figura 26). Nessa coleta, foram observadas as maiores concentrações de 2,4-D de todo o período experimental (média de $41,7 \mu \text{L}^{-1}$ no tratamento C), bem como concentração média de fipronil de $0,035 \mu \text{g L}^{-1}$. A maior concentração de 2,4-D ($97,9 \mu \text{g L}^{-1}$) foi observada no mesocosmo C5 (evento j) e, como resultado, os valores mais baixos de germinação de sementes (46%), comprimento do broto (0,6 cm) e comprimento da raiz (0,51 cm) foram observados nesse mesocosmo.

Apesar da observação destes efeitos (Figura 26), estes não foram suficientes para gerar diferenças estatisticamente significativas entre os tratamentos PE, PI e C para os *endpoints* avaliados germinação, crescimento da parte aérea e raiz (Tabela 26). O modelo que melhor descreveu os dados de germinação de *E. sativa* foi o m10 (Apêndice B18 e B19), e a distribuição de probabilidade binomial e a função de ligação *logit* foram consideradas adequadas (Apêndice 20). As variáveis explicativas Tratamento, 2,4-D, Fipronil, CP3, CP4 e as interações

CP3*Tratamento e CP4*Tratamento foram importantes para o modelo final. O efeito aleatório do tempo e dos mesocosmos explicou 9,35% e 1,58% da variabilidade dos dados de germinação, respectivamente. Para o comprimento da parte aérea, o modelo que melhor descreveu os dados foi o m13 (Apêndice B21 e B22), e a distribuição gaussiana e a função de ligação identidade foram consideradas adequadas (Apêndice B23). A variável explicativa 2,4-D e CP2 foram importantes para o modelo final. O efeito aleatório do tempo explicou 53% da variabilidade dos dados do comprimento da parte aérea. O modelo que melhor descreveu os dados de comprimento de raiz de *E. sativa* foi o m12 (Apêndice B24 e B25), e a distribuição gaussiana e a função de ligação identidade foram consideradas adequadas (Apêndice B26). As variáveis explicativas Tratamento, 2,4-D, CP2 e a interação 2,4-D*Tratamento foram significativas no modelo. O efeito aleatório do tempo explicou 56% da variabilidade nos dados de comprimento da raiz.

Tabela 26 - Resultados do modelo misto linear (LMM) avaliando os efeitos das variáveis explicativas na série temporal de experimentos para a espécie *Eruca sativa*. Os valores da estimativa do coeficiente (*estimate*), do desvio padrão (D.P) e do p-valor são descritos. O intercepto representa o tratamento PE. *valores de p significativos ($p < 0,05$).

<i>Endpoint</i>	Modelo final	Efeitos fixos	<i>Estimate</i>	D.P	p-valor
Germinação	m10	PE (Intercepto)	2,177	0,204	0
		Tratamento PI	0,253	0,198	0,201
		Tratamento C	0,217	0,210	0,302
		D	-0,099	0,032	0,002*
		Fi	-0,109	0,04	0,006*
		Tratamento PI* CP4	-0,279	0,087	0,001*
		Tratamento C*CP4	-0,275	0,11	0,012
Crescimento parte aérea	m13	PE (Intercepto)	1,461	0,051	0,000
		D	-0,046	0,011	0,000*
		CP2	-0,031	0,009	0,001*
Crescimento raiz	m12	PE (Intercepto)	3,575	0,847	0,000
		Tratamento PI	-1,401	0,839	0,096
		Tratamento C	-1,376	0,842	0,103
		CP2	-0,073	0,018	0,000*

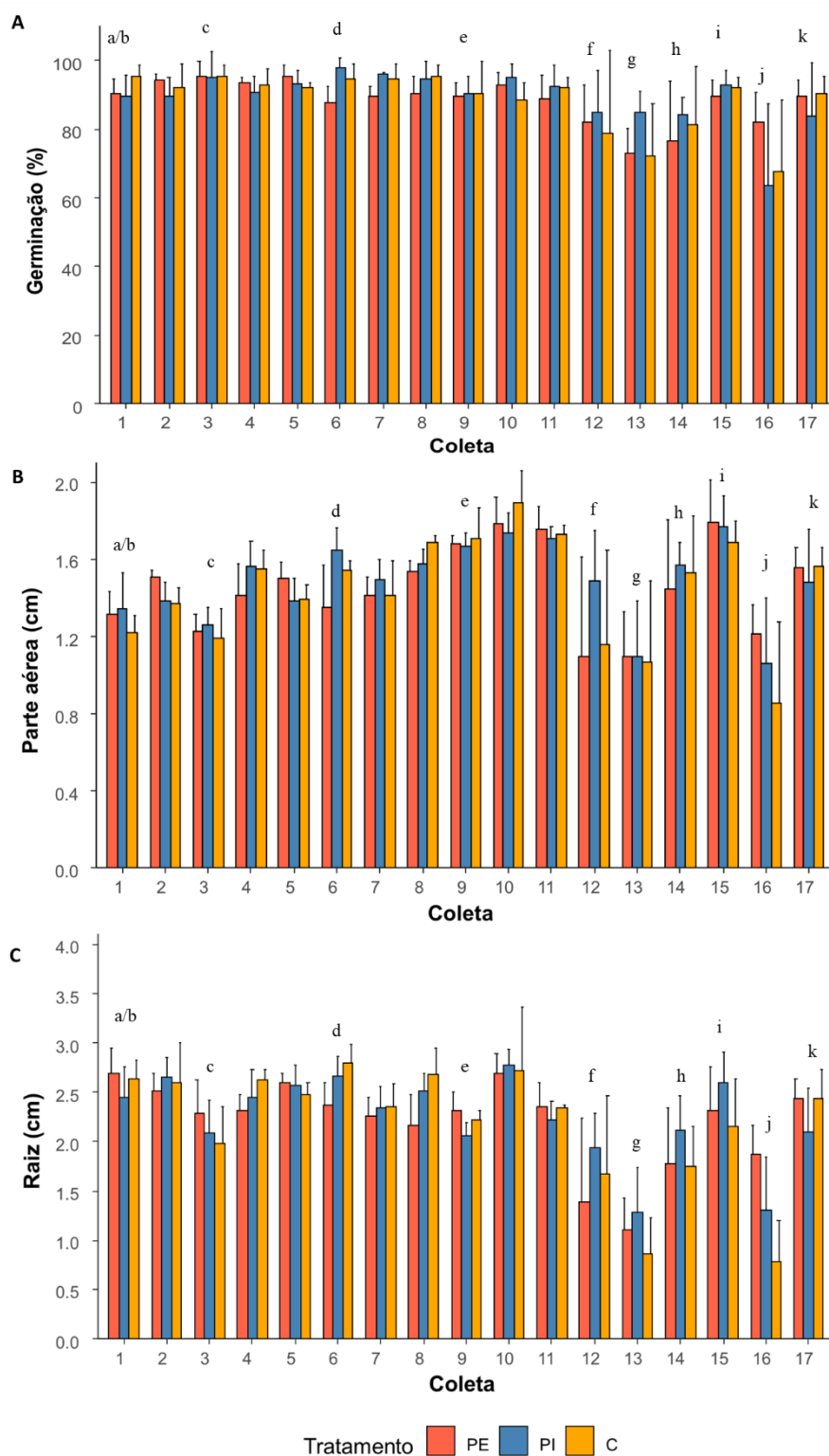


Figura 26 - A) Germinação; **B)** Crescimento da parte aérea; **C)** Crescimento da raiz da espécie *Eruca sativa* após exposição a diferentes eventos de manejo do solo. PE = pastagem extensiva; PI = pastagem intensiva; C = cana-de-açúcar; a/b = após fertilizante (PI/C) e fipronil (C); c = após 2,4-D (PI/C); d = após pastagem do gado (PE/PI); e = após 2,4-D (PI); f = após corte da cana (PI/C); g = após fertilizante (C); h = após vinhaça (C); i = após fipronil (C); j = após 2,4-D; k = após pastagem do gado (PE/PI).

3.3 *Chironomus sancticaroli*

Os resultados dos GLM (Apêndice B27) definiram a ordem de entrada das variáveis explicativas nos GLMM para as variáveis resposta mortalidade, comprimento do corpo, biomassa fresca, BSLC, deformidades do mentum e larvas no quarto instar. O modelo que melhor descreveu os dados de mortalidade de *C. sancticaroli* foi o m9 (Apêndice B28 e B29), e a distribuição de probabilidade binomial e a função de ligação *logit* foram consideradas adequadas (Apêndice B30). O efeito aleatório do tempo e dos mesocosmos explicou 3,7% e 1,7% da variabilidade nos dados de mortalidade, respectivamente. O modelo que melhor descreveu os dados de comprimento do corpo (Apêndice B31, B32 e B33), biomassa fresca (Apêndice B34, B35 e B36) e BSLC (Apêndice B37, 38 e 39) de *C. sancticaroli* foi o m9. Para esses modelos, a distribuição gaussiana e a função de ligação identidade foram consideradas adequadas (Apêndice B33, B36 e B39, respectivamente). O efeito aleatório do tempo explicou 62,97%, 63,83% e 63,83% da variabilidade nos dados para as variáveis de resposta comprimento do corpo, biomassa fresca e BSLC, respectivamente.

O modelo que melhor descreveu os dados para deformidades do mentum de *C. sancticaroli* foi o m9 (Apêndice B40 e B41), e a distribuição de probabilidade binomial e a função de ligação *logit* foram consideradas adequadas (Apêndice B42). O efeito aleatório do tempo explicou 22% da variabilidade nos dados para deformidades do mentum. O modelo que melhor descreveu os dados para larvas no quarto instar de *C. sancticaroli* foi o m6 (Apêndice B43 e B44), e a distribuição de probabilidade binomial e a função de ligação *logit* foram consideradas apropriadas (Apêndice B45). O efeito aleatório do tempo e do mesocosmo explicou 8,72% e 2,68% da variabilidade nos dados, respectivamente.

Os efeitos fixos nos modelos (tratamento, fipronil, sulfeto de fipronil e sulfona de fipronil) não foram significativos para as variáveis resposta mortalidade, deformidades do mentum, comprimento do corpo, biomassa fresca e BSLC (Tabela 2). No entanto, o efeito aleatório do tempo foi significativo em todas essas variáveis resposta, permanecendo no modelo final. A maior mortalidade média foi observada após o corte da cana (evento e) nos tratamentos PI (26%) e C (18%) (Figura 27). A variável explicativa fipronil foi significativa no modelo de larvas no quarto instar (Tabela 27). As menores porcentagens de larvas que atingiram o quarto instar de desenvolvimento foram observadas após a aplicação do fipronil (evento i): 78%, 70% e

88% nos mesocosmos PE1 (30,7 ng fipronil g⁻¹), PI1 (172,8 ng fipronil g⁻¹) e C4 (62,3 ng fipronil g⁻¹), respectivamente. A porcentagem de deformidades do mentum aumentou consideravelmente após a aplicação de 2,4-D (evento j) em todos os tratamentos, especialmente no tratamento PI (Figura 26C).

Tabela 27 - Resultados do modelo misto linear (LMM) avaliando os efeitos das variáveis explicativas na série temporal de experimentos para a espécie *Chironomus sancticaroli*. Os valores da estimativa do coeficiente (*estimate*), do desvio padrão (D.P.) e do p-valor são descritos. O intercepto representa o tratamento PE. *valores de p significativos ($p < 0,05$).

<i>Endpoint</i>	Modelo final	Efeitos fixos	<i>Estimate</i>	D.P	p-valor
Mortalidade	m9	(Intercept)	-2,173	0,167	0,000
Deformidades do mentum	m9	(Intercept)	-2,595	0,382	0,000
Larvas no quarto instar	m6	(Intercept)	2,630	0,307	0,000
		F	-0,152	0,075	0,041*
Comprimento do corpo	m9	(Intercept)	10,452	0,330	6,58 x10 ⁻⁸
Biomassa fresca	m9	(Intercept)	3,373	0,184	1,70 x 10 ⁻⁶
Biomassa seca livre de cinzas	m9	(Intercept)	0,453	0,026	2,18 x 10 ⁻⁶

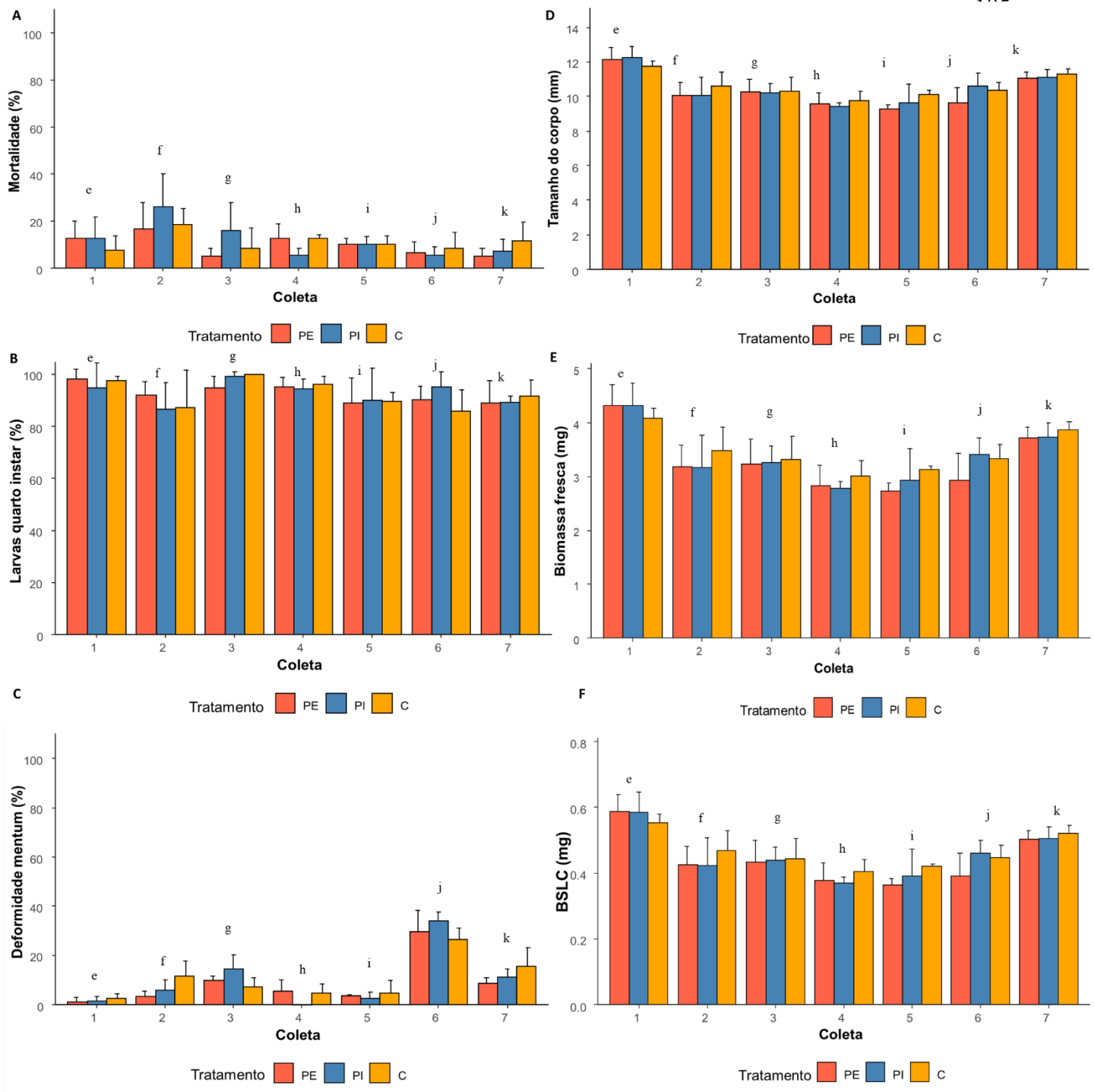


Figura 27 - A) Mortalidade; B) Larvas no quarto instar; C) Deformidades do mentum; D) Comprimento do corpo; E) Biomassa fresca; F) Biomassa seca livre de cinzas (BSLC) da espécie *Chironomus sancticaroli* após exposição a diferentes eventos de manejo do solo. PE = pastagem extensiva; PI = pastagem intensiva; C = cana-de-açúcar; f = após corte da cana (PI/C); g = após fertilizante (C); h = após vinhaça (C); i = após fipronil (C); j = após 2,4-D; k = após pastagem do gado (PE/PI).

4 DISCUSSÃO

A distribuição de agrotóxicos no ambiente está diretamente associada às suas características físico-químicas (Kolanthasamy; Pandi; Gajendran, 2022). Na presente pesquisa, o herbicida 2,4-D foi detectado somente na água e estava ausente no sedimento. A alta solubilidade do 2,4-D (677 mg L^{-1} a $25 \text{ }^\circ\text{C}$) e o baixo coeficiente de partição octanol/água ($\log K_{ow}$ 2,81) (Kim et al., 2021) sugerem que esse herbicida pode ter baixa precipitação no sedimento (Freitas et al., 2022a). Em contrapartida, o fipronil foi detectado em ambas as matrizes ambientais avaliadas, água e sedimento. Esse agrotóxico é pouco a moderadamente solúvel em água ($1,9 \text{ mg L}^{-1}$ a $25 \text{ }^\circ\text{C}$) e tem afinidade moderada pelo carbono orgânico ($\log K_{ow}$ 3,9 - 4,1), situando-se entre os agrotóxicos altamente insolúveis, como o DDT ($\log K_{ow}$ 6,2), e os solúveis, como a atrazina ($\log K_{ow}$ 2,6) (Gunasekara et al., 2007).

Os agrotóxicos 2,4-D e fipronil foram detectados na água dos mesocosmos do tratamento PE, embora não tenham sido aplicados nesse tratamento. A deriva de agrotóxicos em terras não agrícolas tem sido um problema comum em regiões intensamente cultivadas, pois seus resíduos não ficam restritos ao local de aplicação (Cech et al., 2023). Os agrotóxicos podem ser levados para áreas próximas durante a aplicação (por exemplo, devido à evaporação de gotículas de pulverização, movimento do ar e volatilização) (FOCUS, 2008) ou depois (por exemplo, por lixiviação e erosão do solo, escoamento superficial e transporte pelo vento) (Linhart et al., 2019; Zivan; Bohbot-Raviv; Dubowski, 2017). Estima-se que cerca de 70% das terras agrícolas na América do Sul estejam contaminadas por mais de um agrotóxico ao mesmo tempo (Tang et al., 2021).

Em áreas agrícolas intensivas, como pastagens intensificadas e culturas de cana-de-açúcar, os agrotóxicos podem atingir os corpos d'água em concentrações mais altas (Islam et al., 2018; Tang et al., 2021). Neste estudo, as concentrações de 2,4-D e fipronil foram maiores no segundo ciclo da cana-de-açúcar (máximo de $97,97 \mu \text{ L}^{-1}$ e $0,21 \mu \text{ L}^{-1}$, respectivamente) do que no primeiro ciclo da cana-de-açúcar (máximo de $5,3 \mu \text{ L}^{-1}$ e $0,065 \mu \text{ L}^{-1}$, respectivamente). Isso sugere que o transporte de agrotóxicos para a água pode aumentar à medida que os ciclos de cultivo se sobrepõem, uma vez que o manejo repetitivo do solo em áreas agrícolas tende a aumentar o escoamento superficial (Gatiboni et al., 2003; Martinelli; Filoso, 2008). O valor máximo de 2,4-D ($97,97 \mu \text{ L}^{-1}$) registrado durante o experimento é vinte e quatro vezes e 3,2

vezes maior do que o valor permitido para corpos d'água Classe 1 ($4 \mu \text{L}^{-1}$) e 2 ($30 \mu \text{L}^{-1}$), respectivamente, de acordo com as diretrizes de água potável da resolução CONAMA 357/2005 (BRASIL, 2005). Apesar de sua toxicidade comprovada para várias espécies não-alvo (Moreira et al., 2023; Pinto et al., 2023; Silva et al., 2020), não há valor regulatório para o fipronil no Brasil; porém, a concentração máxima na água observada nesta pesquisa ($0,21 \mu \text{g L}^{-1}$) está acima da concentração máxima permitida pela União Europeia ($0,1 \mu \text{g L}^{-1}$) (Oliveira; Agostinetto; Siegloch, 2023).

Apesar do risco potencial ao meio ambiente e à saúde humana, os efeitos da exposição a combinações crescentes de agrotóxicos e outros xenobióticos permanecem pouco compreendidos (Islam et al., 2018). Em ambientes naturais, os agrotóxicos estão sujeitos a uma combinação de fatores físicos, químicos e biológicos (Kolanthasamy; Pandi; Gajendran, 2022). Recentemente, vários estudos descreveram os efeitos tóxicos causados pelo 2,4-D, fipronil e vinhaça em uma variedade de espécies não-alvo de diferentes níveis tróficos, compartimentos aquáticos e padrões de vida, como *E. sativa* (Freitas et al., 2022a; Ogura et al., 2022a), *C. silvestrii* (Silva et al., 2020, 2021), *Daphnia magna* (Moreira et al., 2023), *Hyaella meinerti* (Pinto et al., 2021a, 2021b, 2022), *C. sancticaroli* (Pinto et al., 2021c, 2023), *Leptodactylus fuscus* e *Lithobates catesbeianus* (Freitas et al., 2022b), *Scinax fuscovarius* e *Physalaemus nattereri* (Giroto et al., 2022), e *Danio rerio* (Moreira et al., 2022). No entanto, a maioria das pesquisas que avaliaram a toxicidade desses contaminantes está restrita a experimentos de laboratório. Os estudos em escala de campo podem obter respostas que os estudos de laboratório não conseguem acessar, como a avaliação conjunta entre os parâmetros de qualidade da água, análises químicas e ecotoxicológicas (Charalampous et al., 2015).

No presente estudo, a germinação, o crescimento da parte aérea e da raiz da espécie *E. sativa* foram afetados principalmente após a aplicação do 2,4-D nos tratamentos PI e C (Figura 26). Os resultados obtidos por Freitas et al. (2022) mostraram que o 2,4-D foi capaz de reduzir o crescimento da parte aérea e da raiz de *E. sativa*, em uma concentração abaixo dos padrões de qualidade da água no Brasil ($< 30 \mu \text{L}^{-1}$; BRASIL, 2005). Ogura et al. (2022a) também relataram alta fitotoxicidade relacionada ao herbicida 2,4-D e à mistura de 2,4-D e fipronil, que causou inibição completa do crescimento do broto e da raiz de *E. sativa* mesmo em baixas concentrações ($0,2 \mu \text{g L}^{-1}$). Os resultados desses estudos sugerem que a irrigação de culturas com água contaminada com resíduos de 2,4-D dentro das concentrações detectadas na presente pesquisa

pode causar fitotoxicidade, afetar o desenvolvimento da planta e reduzir a produtividade da cultura. Por outro lado, *E. sativa* não apresentou fitotoxicidade para o fipronil (concentrações até $0,21 \mu\text{g L}^{-1}$), estando de acordo com os resultados obtidos por Ogura et al. (2022a) que também não observaram efeitos em concentrações até $42,5 \mu\text{g L}^{-1}$.

Embora o modo de ação do 2,4-D seja direcionado às plantas, outras espécies podem ser afetadas pela presença desse agrotóxico em baixas concentrações. Na presente pesquisa, foram observados aumento da imobilidade e redução da sobrevivência de fêmeas e r de *C. silvestrii* nos tratamentos PI e C, especialmente após a aplicação de 2,4-D (evento c, e, j). Embora essas alterações tenham sido observadas após a aplicação do 2,4-D, elas foram estatisticamente associadas à presença do fipronil ($p < 0,05$) (Tabela 2). Isso sugere que a mistura entre os dois agrotóxicos (fipronil e 2,4-D) pode induzir efeitos tóxicos diferentes dos esperados. Por exemplo, Silva et al. (2020) relataram que a toxicidade aguda da mistura dos agrotóxicos 2,4-D e fipronil leva a efeitos antagônicos em baixas concentrações e sinergismo em altas concentrações, e a mudança do antagonismo para o sinergismo ocorre em doses superiores à EC_{50} ($169 \pm 18 \text{ mg a.i. L}^{-1}$ para 2,4-D e $3,9 \pm 0,50 \mu\text{g a.i. L}^{-1}$ para fipronil). Embora as concentrações máximas de 2,4-D ($0 - 97 \mu\text{g L}^{-1}$) e fipronil ($0,21 \mu\text{g L}^{-1}$) observadas no presente estudo seja menor do que os valores de CE_{50} reportados por Silva et al. (2020), ainda assim efeitos tóxicos foram observados.

Moreira et al. (2023) avaliaram a resposta de evitação do cladóceros *D. magna* aos agrotóxicos 2,4-D, fipronil e suas misturas e observaram que os organismos tendem a não migrar para áreas contaminadas com esses agrotóxicos, especialmente o fipronil e a mistura de ambos. Esse resultado sugere que os agrotóxicos podem limitar as áreas colonizadas pelos organismos, tornar os habitats desfavoráveis e potencialmente causar a extinção local das espécies, mesmo antes de os efeitos crônicos serem detectados. O fipronil também foi relatado como capaz de reduzir a velocidade de natação e a distância percorrida por *D. magna* (concentrações entre 0,1 e $100 \mu\text{g/L}$) e causar alterações fisiológicas nesses organismos, como a frequência cardíaca, a atividade das garras pós-abdominais e os movimentos dos membros torácicos (Bownik; Szabelak, 2021).

Em um estudo realizado nos mesmos mesocosmos desta pesquisa, Giroto et al. (2022) relataram alterações funcionais em espécies de girinos nativos (*S. fuscovarius* e *P. nattereri*) por meio da análise de biomarcadores bioquímicos após 7 dias de exposição in situ nos tratamentos PI e C. Ambas as espécies de girinos apresentaram valores elevados de

malondialdeído (MDA) nos tratamentos PI e C em comparação com o tratamento PE, evidenciando estresse oxidativo em concentrações abaixo de $0,11 \mu\text{g L}^{-1}$ e $0,0031 \mu\text{g L}^{-1}$ para 2,4-D e fipronil, respectivamente. Esse desequilíbrio pode favorecer a ocorrência de peroxidação lipídica em ambas as espécies, indicando uma possível falha de defesa na proteção dos tecidos do girino contra danos (Giroto et al., 2022).

Com relação aos organismos bentônicos, eles têm como rotas de exposição aos contaminantes tanto a água quanto o sedimento. No presente estudo, a menor porcentagem de sobrevivência da espécie *C. sancticarolli* (80%) foi observada na maior concentração de fipronil detectada ($402,6 \text{ ng g}^{-1}$ – mesocosmo C1), enquanto 88% das larvas atingiram o quarto instar de desenvolvimento. Pinto et al. (2023) observaram que a exposição às amostras de sedimento com a presença de fipronil (concentração de $26,2 \text{ ng g}^{-1}$) diminuiu a sobrevivência larval de *C. sancticarolli*, reforçando a sensibilidade dos quironomídeos a este inseticida, mesmo quando associado ao sedimento. Apesar disso, não foram observados efeitos prejudiciais significativos ($p > 0,05$) sobre a espécie *C. sancticarolli* nas concentrações de fipronil medidas no sedimento (de 0 a $402,6 \text{ ng g}^{-1}$) para os *endpoints* mortalidade, deformidades do mentum, comprimento do corpo, biomassa fresca e BSLC no presente estudo.

Entretanto, a frequência de larvas que atingiram o quarto instar diminuiu com a presença do fipronil em concentrações abaixo de $402,6 \text{ ng g}^{-1}$ no presente estudo. A redução das larvas que atingem o quarto instar e, conseqüentemente, os efeitos observados nas taxas de emergência devido à exposição ao fipronil também foi observada por Pinto et al. (2023). O atraso no crescimento e no desenvolvimento desses organismos pode ser atribuído à neurotoxicidade do fipronil (Dias; Vasseur; Bonzom, 2008) e a sua capacidade de agir como um desregulador endócrino (Leemans et al., 2019).

Em relação à matriz água, baixos valores de CE_{50} ($0,42$ a $3,7 \mu\text{g de fipronil L}^{-1}$) para fipronil foram relatados para dípteros (Ali; Nayar; Gu, 1998; Monteiro et al., 2019; Pinto et al., 2021c; Stevens et al., 2011; Stratman et al., 2013), confirmando que esse grupo é sensível ao fipronil mesmo em baixas concentrações. Pinto et al. (2021c) relataram $CE_{10} = 0,48 \mu\text{g L}^{-1}$ e CE_{50} de $3,70 \mu\text{g L}^{-1}$ para o fipronil sobre a espécie *C. sancticarolli*, valores acima dos observados no presente estudo (até $0,21 \mu\text{g L}^{-1}$). Monteiro et al. (2019) observaram efeitos sobre a espécie *C. riparius* após exposição crônica (28 dias) ao fipronil, que resultou na redução do crescimento e da emergência de larvas com menor concentração de efeito observado (LOEC) de

0,081 $\mu\text{g L}^{-1}$. O peso corporal dos adultos dessa espécie, que está ligado diretamente ao desempenho de voo e à fecundidade dos mosquitos, também foi afetado (LOEC = 0,040 $\mu\text{g L}^{-1}$) (Carron, 2007; Monteiro et al., 2019; Sibley; Ankley; Benoit, 2001).

No ambiente natural, os organismos são expostos a vários estressores, vias de exposição e receptores (Van Den Brink et al., 2016). No presente estudo, a imobilidade de *C. silvestrii* foi registrada esporadicamente nos mesocosmos do tratamento PE, especialmente no inverno e no início da estação chuvosa (amostragens 6 a 12) (Figura 25). Não foi possível associar a mortalidade verificada nesse tratamento à presença dos contaminantes determinados. No entanto, hipotetiza-se que as condições observadas nos mesocosmos no inverno – a redução do volume dos mesocosmos e da temperatura da água, o aumento da decomposição de macrófitas, das concentrações de nitrato e da concentração de clorofila a (Freitas et al., 2023) – podem ter propiciado o florescimento de cianobactérias. A presença de cianobactérias tem sido relatada em águas doces tropicais no final do período de inverno (inverno seco) e no início da estação chuvosa (Jardim et al., 2014). As florações de cianobactérias geralmente são acompanhadas pela produção de toxinas capazes de causar sérios problemas aos organismos aquáticos, o que pode estar associado a sua decomposição e à síntese de metabólitos secundários bioativos, além da depleção de oxigênio dissolvido (Vo et al., 2020). A literatura reporta, ainda, que a abundância de cianobactérias é inversamente proporcional à abundância de zooplâncton (Ger Ali et al., 2016), uma vez que muitas espécies são difíceis de digerir, têm baixo valor nutricional e ausência de constituintes necessários para o desenvolvimento do zooplâncton (Martin-Creuzburg; Elert; Hoffmann, 2008), além da produção de toxinas e formas filamentosas.

Além disso, enfatiza-se que os efeitos observados neste estudo podem ser intensificados, uma vez que a depleção de oxigênio causada pela eutrofização dos corpos d'água é um problema recorrente e muitas vezes concomitante à presença de agrotóxicos e outros xenobióticos, sendo este um cenário provável (Sula et al., 2020). Freitas et al. (2023) observaram acidificação (pH entre 4-5) e depleção de oxigênio (atingindo valores próximos a 0 mg L^{-1}) ao longo do tempo nos mesmos mesocosmos avaliados neste estudo. Dessa forma, esperam-se efeitos piores do que os observados com base em bioensaios de toxicidade padrão, pois o oxigênio dissolvido constitui uma variável essencial para o estabelecimento de comunidades aquáticas e está relacionado à capacidade dos ecossistemas de processar nutrientes (Dodds, 2006). Níveis entre 40-50% de saturação de oxigênio já são capazes de alterar a biocenose aquática, resultando em perda de

biodiversidade (Holmstrup et al., 2010). Os resultados relatados por Sula et al. (2020) apontam evidências de que a hipóxia aumenta os efeitos tóxicos de agrotóxicos e PCBs no peixe *Carassius carassiu*, sobrecarregando seu metabolismo energético e sistema endócrino e causando alterações histopatológicas. Em uma mesma perspectiva, Van der Geest et al. (2002) observaram uma redução significativa nos valores de CL₅₀ do cobre em cenários de hipóxia (50% O₂) em comparação com a normóxia (100% O₂) para a mosca *Ephoron virgo*. Portanto, os resultados discutidos aqui alertam para a necessidade de complementação dos testes de toxicidade com experimentos que abranjam condições mais realistas encontradas nos ecossistemas, melhorando, assim a assertividade na avaliação de risco ecológico.

5 CONCLUSÕES

Os organismos e as condições avaliadas neste estudo revelaram que a presença de diferentes agentes estressores no ambiente pode alterar os valores de toxicidade. Baixas concentrações de 2,4-D e fipronil foram capazes de alterar a fecundidade, a sobrevivência das fêmeas e a taxa intrínseca de aumento da população de *C. silvestrii* nos tratamentos PI e C em comparação com o tratamento PE. Para essa espécie, também foram observados padrões sazonais, com aumento da mortalidade durante os períodos de inverno seco, provavelmente associado à floração de cianobactérias nos mesocosmos.

Da mesma forma, a dicotiledônea *E. sativa* teve a germinação, o crescimento da parte aérea e das raízes afetados após a aplicação do 2,4-D. Para essa espécie, os efeitos observados no segundo ciclo da cana-de-açúcar foram maiores do que no primeiro ciclo, uma vez que a concentração de 2,4-D seguiu esse mesmo padrão. Para a espécie *C. sancticarolli*, a concentração de fipronil não causou alterações nos endpoints avaliados, com exceção da porcentagem de larvas que atingiram o quarto instar, que foi menor no tratamento PI e C e esteve associado à presença de fipronil. Além disso, todos os *endpoints* foram afetados pelo efeito do tempo, sugerindo que os efeitos cumulativos da exposição ao fipronil podem ser significativos, mesmo em baixas concentrações.

De maneira geral, os efeitos observados para o tratamento C foram maiores do que os observados para os tratamentos PI e PE, respectivamente. Além disso, os efeitos observados sob as condições avaliadas nesta pesquisa podem ser intensificados à medida que ciclos repetidos de

cana-de-açúcar são conduzidos na mesma paisagem. Pesquisas futuras precisam considerar os mecanismos fisiológicos, comportamentais e moleculares dos organismos que podem ser alterados como resultado da mistura de agrotóxicos e sua combinação com variáveis ambientais (por exemplo, oxigênio dissolvido, pH e temperatura) que afetam diretamente o comportamento desses contaminantes no ambiente.

REFERÊNCIAS

AGROFIT. **Sistema de Agrotóxicos Fitossanitários**. Disponível em:

<http://agrofit.agricultura.gov.br/agrofit_cons/principal_agrofit_cons>. Acesso em: 02 jul. 2023

ALI, A.; NAYAR, J. K.; GU, W. D. Toxicity of a phenyl pyrazole insecticide, fipronil, to mosquito and chironomid midge larvae in the laboratory. **Journal of the American Mosquito Control Association**, v. 14, n. 2, p. 216–218, 1998.

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

AMERICAN SOCIETY FOR TESTING AND MATERIALS. Standard guide for conducting acute toxicity testing on test materials with fishes, macroinvertebrates, and amphibians, West Conshohocken, PA, pp. E729-E796, ASTM, 2001.

ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS. NBR 13373: Ecotoxicologia aquática — toxicidade crônica — método de ensaio com *Ceriodaphnia* spp (Crustacea, Cladocera). Rio de Janeiro: ABNT, 2017.

BATES, D.; MACHLER, M.; BOLKER, B.M.; WALKER, S.C. Fitting linear mixed-effects models using lme4. **J. Stat. Softw**, 67, 2015. <https://doi.org/10.18637/jss.v067.i01>.

BEKETOV, M. A.; LIESS, M. Ecotoxicology and macroecology - Time for integration.

Environmental Pollution, v. 162, p. 247–254, 2012. Disponível em:

<<http://dx.doi.org/10.1016/j.envpol.2011.11.011>>.

BENLI, A. Ç. K.; SARIKAYA, R.; SEPICI-DINCEL, A.; SELVI, M.; ŞAHIN, D.; ERKOÇ, F. Investigation of acute toxicity of (2,4-dichlorophenoxy)acetic acid (2,4-D) herbicide on crayfish (*Astacus leptodactylus* Esch. 1823). **Pesticide Biochemistry and Physiology**, v. 88, n. 3, p. 296–299, 2007.

BENTO, C. B.; BRAGA, J.; VERÔNICA, G.; GABRIEL, D. M.; BOTERO, W. G.; FERNANDES, A. P.; MARTINELLI, L. A.; CAMARGO, L. Soil metal concentrations after five years of pasture-to- sugarcane conversion. n. Appenroth 2010, 2021.

BENTO, C. B.; FILOSO, S.; PITOMBO, L. M.; CANTARELLA, H.; ROSSETTO, R.; MARTINELLI, L. A.; DO CARMO, J. B. Impacts of sugarcane agriculture expansion over low-intensity cattle ranch pasture in Brazil on greenhouse gases. **Journal of Environmental Management**, v. 206, p. 980–988, 2018. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.jenvman.2017.11.085>>.

BOWNIK, A.; SZABELAK, A. Short-term effects of pesticide fipronil on behavioral and physiological endpoints of *Daphnia magna*. **Environmental Science and Pollution Research**, p. 33254–33264, 2021.

BURNHAM, K. P.; ANDERSON, D. R. (ed.). *Model Selection and Multimodel Inference*. New York, NY: Springer, 488 p., 2004.

BRENNAN, A. A.; HARWOOD, A. D.; YOU, J.; LANDRUM, P. F.; LYDY, M. J. Degradation of fipronil in anaerobic sediments and the effect on porewater concentrations. **Chemosphere**, v. 77, n. 1, p. 22–28, 2009. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.chemosphere.2009.06.019>>.

CARRON, A. <2007 - Correlation between wing measurements and dry body weight in male and female *Ochlerotatus* (*Ochlerota*.pdf>. v. 24, n. December, p. 4–8, 2007.

CECH, R.; ZALLER, J. G.; LYSSIMACHOU, A.; CLAUSING, P.; HERTOGE, K.; LINHART, C. Pesticide drift mitigation measures appear to reduce contamination of non-agricultural areas, but hazards to humans and the environment remain. **Science of the Total Environment**, v. 854, n. September 2022, p. 158814, 2023. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2022.158814>>.

COMPANHIA DE TECNOLOGIA DE SANEAMENTO AMBIENTAL. **Sistema Infoaguas**. São Paulo: CETESB, 2022. Disponível em: <https://sistemainfoaguas.cetesb.sp.gov.br/Home>. Acesso em: 02 jul. 2023

CHARALAMPOUS, N.; KINDOU, A.; VLASTOS, D.; TSARPALI, V.; ANTONOPOULOU, M.; KONSTANTINOI, I.; DAILIANIS, S. A multidisciplinary assessment of river surface water quality in areas heavily influenced by human activities. **Archives of Environmental Contamination and Toxicology**, v. 69, n. 2, p. 208–222, 2015. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1007/s00244-015-0152-9>>.

CHRISTOFOLETTI, C. A.; ESCHER, J. P.; CORREIA, J. E.; MARINHO, J. F. U.; FONTANETTI, C. S. Sugarcane vinasse: Environmental implications of its use. **Waste Management**, v. 33, n. 12, p. 2752–2761, 2013. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.wasman.2013.09.005>>.

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. Eutrophication and trophic state in rivers and streams. **Limnology and Oceanography**, v. 51, n. 1 II, p. 671–680, 2006.

DOLEZAL, A. G.; ST, A. L.; ZHANG, G.; TOTH, A. L.; NEAL, M. E. O. Native habitat mitigates feast – famine conditions faced by honey bees in an agricultural landscape. v. 116, n. 50, p. 25147–25155, 2019.

FILOSO, S.; DO CARMO, J. B.; MARDEGAN, S. F.; LINS, S. R. M.; GOMES, T. F.; MARTINELLI, L. A. Reassessing the environmental impacts of sugarcane ethanol production in Brazil to help meet sustainability goals. **Renewable and Sustainable Energy Reviews**, v. 52, p. 1847–1856, 2015.

FOCUS (2008). “Pesticides in Air: Considerations for Exposure Assessment”. Report of the FOCUS Working Group on Pesticides in Air, EC Document Reference SANCO/10553/2006 Rev 2 June 2008.

FONSECA, A. L.; ROCHA, O. The life-cycle of *Ceriodaphnia silvestrii* Daday , 1902 , a Neotropical endemic species (Crustacea , Cladocera , Daphnidae). Materials and methods Zooplankton sampling. **Growth (Lakeland)**, v. 16, n. 4, p. 319–328, 2004a.

FONSECA, A. L.; ROCHA, O. Laboratory cultures of the native species *Chironomus*. **Acta Limnologica Brasiliensia**, v. 16, n. 2, p. 153–161, 2004b.

FREITAS, I. B. F.; JOS, P.; FERNANDA, L.; LOPES, D. P.; GABRIEL, D. M.; PAULA, M.; YOSHII, C.; GIROTTO, L.; VER, G.; SORIGOTTO, L. R.; BRAGA, J.; CAROLINA, C.; CESAR, L.; ANT, L. Soil management effects of extensive pastures , intensive pastures and sugarcane crops on the availability of metals and nutrients in freshwater : A realistic mesocosm approach. **Agriculture, Ecosystems and Environment**, v. 350, n. February, 2023.

FREITAS, I. B. F.; OGURA, A. P.; CUNHA, D. G. F.; COSSOLIN, A. S.; FERREIRA, M. de S.; GOULART, B. V.; MONTAGNER, C. C.; ESPÍNDOLA, E. L. G. The Longitudinal Profile of a Stream Contaminated With 2,4-D and its Effects on Non-Target Species. **Archives of Environmental Contamination and Toxicology**, n. Gamble 2009, 2022a. Disponível em: <<https://doi.org/10.1007/s00244-021-00903-6>>.

FREITAS, J. S.; PINTO, T. J. da S.; YOSHII, M. P. C.; SILVA, L. C. M. da; LOPES, L. F. de P.; OGURA, A. P.; GIROTTO, L.; MONTAGNER, C. C.; ALHO, L. de O. G.; GEBARA, R. C.; SCHIESARI, L.; ESPÍNDOLA, E. L. G. Realistic exposure to fipronil, 2,4-D, vinasse and

their mixtures impair larval amphibian physiology. **Environmental Pollution**, v. 299, n. September 2021, 2022b.

GATIBONI, L. C.; SAGGIN, A.; BRUNETTO, G.; HORN, D.; FLORES, J. P. C.; RHEINHEIMER, D. dos S.; KAMINSKI, J. Alterações nos atributos químicos de solo arenoso pela calagem superficial no sistema plantio direto consolidado. **Ciência Rural**, v. 33, n. 2, p. 283–290, 2003.

GER ALI, K.; URRUTIA-CORDERO, P.; FROST, P. C.; HANSSON, L.; SARNELLE, O.; WILSON, A. E.; LU, M. The interaction between cyanobacteria and zooplankton in a more eutrophic world. v. 54, p. 128–144, 2016.

GIMENO-GARCÍA, E.; ANDREU, V.; BOLUDA, R. Heavy metals incidence in the application of inorganic fertilizers and pesticides to rice farming soils. **Environmental Pollution**, v. 92, n. 1, p. 19–25, 1996.

GIROTTO, L.; FREITAS, I. B. F.; YOSHII, M. P. C.; GOULART, B. V.; MONTAGNER, C. C.; SCHIESARI, L. C.; ESPÍNDOLA, E. L. G.; FREITAS, J. S. Using mesocosms to evaluate the impacts of pasture intensification and pasture-sugarcane conversion on tadpoles in Brazil. **Environmental Science and Pollution Research**, n. 0123456789, 2022. Disponível em: <<https://doi.org/10.1007/s11356-022-23691-5>>.

GÜCKER, B.; BOËCHAT, I. G.; GIANI, A. Impacts of agricultural land use on ecosystem structure and whole-stream metabolism of tropical Cerrado streams. **Freshwater Biology**, v. 54, n. 10, p. 2069–2085, 2009.

GUNASEKARA, A. S.; TRUONG, T.; GOH, K. S.; SPURLOCK, F.; TJEERDEMA, R. S. Environmental fate and toxicology of fipronil. **Journal of Pesticide Science**, v. 32, n. 3, p. 189–199, 2007.

GOLTERMAN, H.L.; CLYMO, R.S.; OHNSTAD, M.A.M. Methods for chemical and physical

analysis of freshwater. **Blackwell Scientific**, p. 213, 1978.

GOULART, B.V., VIZIOLI, B.D.C., ESPINDOLA, E.L.G., MONTAGNER, C.C. Matrix effect challenges to quantify 2,4-D and fipronil in aquatic systems. **Environ. Monit. Assess.** 192, 797, 2020. <https://doi.org/10.1007/s10661-020-08776-3>.

HOBBS, N. T.; HILBORN, R. Alternatives to statistical hypothesis testing in ecology: a guide to self-teaching. **Ecological Applications**, v. 16, n. 1, p. 5–19, 2006.

HOLMSTRUP, M.; BINDESBØL, A.; JANNEKE, G.; DUSCHL, A.; SCHEIL, V.; KÖHLER, H.; LOUREIRO, S.; SOARES, A. M. V. M.; FERREIRA, A. L. G.; KIENLE, C.; GERHARDT, A.; LASKOWSKI, R.; KRAMARZ, P. E.; BAYLEY, M.; SVENDSEN, C.; SPURGEON, D. J. Science of the Total Environment Interactions between effects of environmental chemicals and natural stressors : A review. v. 408, p. 3746–3762, 2010.

IBAMA - INSTITUTO BRASILEIRO DO MEIO AMBIENTE E DOS RECURSOS NATURAIS RENOVÁVEIS. **Relatório Semestral de Agrotóxicos**. Disponível em: <www.ibama.gov.br/agrotoxicos/relatorios-de-comercializacao-deagrotoxicos>. Acesso em: 24 jul. 2023.

IEA - INSTITUTO DE ECONOMIA AGRÍCOLA. Relação de troca produtos/insumos, 2018. Disponível em: <<http://www.iea.agricultura.sp.gov.br/out/index.php>>. Acesso em: 24 jul. 2023.

ISLAM, F.; WANG, J.; FAROOQ, M. A.; KHAN, M. S. S.; XU, L.; ZHU, J.; ZHAO, M.; MUÑOS, S.; LI, Q. X.; ZHOU, W. Potential impact of the herbicide 2,4-dichlorophenoxyacetic acid on human and ecosystems. **Environment International**, v. 111, n. September 2017, p. 332–351, 2018. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.envint.2017.10.020>>.

JARDIM, F. A.; SPERLING, E. Von; FERNANDA, B.; JARDIM, D. M.; CRISTINA, K.; ALMEIDA, D. B. Fatores determinantes das florações de cianobactérias na água do Rio Doce , Minas Gerais , Brasil. p. 207–218, 2014.

KJELDAHL, J. A New Method for the Determination of Nitrogen in Organic Matter. **Zeitschrift für Analytische Chemie**. 22, 366–382, 1883.

KIM, S.; CHEN, J.; CHENG, T.; GINDULYTE, A.; HE, J.; HE, S.; LI, Q.; SHOEMAKER, B. A.; THIESSEN, P. A.; YU, B.; ZASLAVSKY, L.; ZHANG, J.; BOLTON, E. E. PubChem in 2021: New data content and improved web interfaces. **Nucleic Acids Research**, v. 49, n. D1, p. D1388–D1395, 2021.

KOLANTHASAMY, E.; PANDI, A.; GAJENDRAN, V. Factors Affecting the Toxicity of Pesticides : An Overview Chapter - 1 Factors Affecting the Toxicity of Pesticides : An Overview. n. March, 2022.

KOROLEFF, F. Determination of nutrients. In: Grasshof, K. (Ed.), *Methods of seawater analysis*. Verlag. Chemie, Weinheim, p. 117–181, 1976.

KUHLMANN, M. L.; HAYASHIDA, C. Y.; ARAÚJO, R. P. A. Using Chironomus (Chironomidae : Diptera) mentum deformities in environmental assessment . **Acta Limnologica Brasiliensia**, v. 12, p. 55–61, 2000.

LE, S.; JOSSE, J.; HUSSON, F. FactoMineR: An R Package for Multivariate Analysis. **J. Stat. Softw**, v 25 (1), p. 1–18, 2008. <https://doi.org/10.18637/jss.v025.i01>.

LEEMANS, M.; COUDERQ, S.; DEMENEIX, B.; FINI, J. B. Pesticides With Potential Thyroid Hormone-Disrupting Effects: A Review of Recent Data. **Frontiers in Endocrinology**, v. 10, n. December, 2019.

LINHART, C.; NIEDRIST, G. H.; NAGLER, M.; NAGRANI, R.; TEMML, V.; BARDELLI, T.; WILHALM, T.; RIEDL, A.; ZALLER, J. G.; CLAUSING, P.; HERTOGE, K. Pesticide contamination and associated risk factors at public playgrounds near intensively managed apple and wine orchards. **Environmental Sciences Europe**, v. 31, n. 1, 2019. Disponível em: <<https://doi.org/10.1186/s12302-019-0206-0>>.

MACKERETH, F.J.H.; HERON, J.; TALLING, J.F. Water analysis: some revised methods for limnologists. **Freshwater Biological Association Scientific Publishers**, 1978.

MAGALHÃES, D. D. P.; FERRÃO, S. A ecotoxicologia como ferramenta no biomonitoramento de ecossistemas aquáticos. v. 12, n. 3, p. 355–381, 2008.

MALAJ, E.; VON DER OHE, P. C.; GROTE, M.; KÜHNE, R.; MONDY, C. P.; USSEGLIO-POLATERA, P.; BRACK, W.; SCHÄFER, R. B. Organic chemicals jeopardize the health of freshwater ecosystems on the continental scale. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, v. 111, n. 26, p. 9549–9554, 2014.

MARINHO M. C.; LAGE O. M.; SOUSA C.D.; CATITA J.; ANTUNES S. C. Assessment of *Rhodopirellula rubra* as a supplementary and nutritional food source to the microcrustacean *Daphnia magna*. **Antonie van Leeuwenhoek** 112, 1231–1243, 2019. <https://doi.org/10.1007/s10482-019-01255-x>

MARTIN-CREUZBURG, D.; ELERT, E. Von; HOFFMANN, K. H. Nutritional constraints at the cyanobacteria – *Daphnia magna* interface : The role of sterols. v. 53, n. 2, p. 456–468, 2008.

MARTINELLI, L. a.; FILOSO, S. Expansion of Sugarcane Ethanol Production. **Ecological Applications**, v. 18, n. 4, p. 885–898, 2008.

MONTEIRO, H. R.; PESTANA, J. L. T.; NOVAIS, S. C.; LESTON, S.; RAMOS, F.; SOARES, A. M. V. M.; DEVREESE, B.; LEMOS, M. F. L. Assessment of fipronil toxicity to the freshwater midge *Chironomus riparius*: Molecular, biochemical, and organismal responses. **Aquatic Toxicology**, v. 216, n. September, p. 105292, 2019. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.aquatox.2019.105292>>.

MORAIS, G. dos S.; VIEIRA, T. B.; SANTOS, G. S.; BAIKA, L. M.; CESTARI, M. M.; GRASSI, M. T.; NAVARRO DA SILVA, M. A. Biological, biochemical and genotoxic effects of Sb in the midge *Chironomus sancticaroli* Strixino and Strixino, 1981 (Diptera: Chironomidae).

Ecotoxicology and Environmental Safety, v. 176, n. October 2018, p. 196–203, 2019.

Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2019.03.080>>.

MOREIRA, R. A.; CORDERO-DE-CASTRO, A.; POLO-CASTELLANO, C.; PINTO, T. J. S.; DIAS, M. A.; MONTAGNER, C. C.; ESPÍNDOLA, E. L. G.; ARAÚJO, C. V. M.; BLASCO, J. Avoidance responses by *Danio rerio* reveal interactive effects of warming, pesticides and their mixtures. **Science of the Total Environment**, v. 847, n. July, 2022.

MOREIRA, R. A.; POLO-CASTELLANO, C.; CORDERO-DE-CASTRO, A.; DIAS, M. A.; PINTO, T. J. S.; MONTAGNER, C. C.; ESPÍNDOLA, E. L. G.; BLASCO, J.; ARAÚJO, C. V. M. Short and long-term exposure to the pesticides fipronil and 2,4-D: Effects on behavior and life history of *Daphnia magna*. **Chemosphere**, v. 310, n. July 2022, 2023.

OGURA, A. P.; MOREIRA, R. A.; DA SILVA, L. C. M.; NEGRO, G. S.; FREITAS, J. S.; DA SILVA PINTO, T. J.; LOPES, L. F. de P.; YOSHII, M. P. C.; GOULART, B. V.; MONTAGNER, C. C.; ESPÍNDOLA, E. L. G. Irrigation with Water Contaminated by Sugarcane Pesticides and Vinasse Can Inhibit Seed Germination and Crops Initial Growth. **Archives of Environmental Contamination and Toxicology**, v. 82, n. 3, p. 330–340, 2022. Disponível em: <<https://doi.org/10.1007/s00244-022-00914-x>>.

OLIVEIRA, D. M. De; AGOSTINETTO, L.; SIEGLOCH, A. E. Comparison of the drinking water standard for pesticides of the Brazil with other countries. **Heliyon**, v. 9, n. 3, p. e13783, 2023. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2023.e13783>>.

PANIZZI, S.; SUCIU, N. A.; TREVISAN, M. Combined ecotoxicological risk assessment in the frame of European authorization of pesticides. **Science of the Total Environment**, v. 580, p. 136–146, 2017. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.scitotenv.2016.10.154>>.

PINTO, T. J. da S.; FREITAS, J. S.; MOREIRA, R. A.; SILVA, L. C. M. da; YOSHII, M. P. C.; LOPES, L. F. de P.; GOULART, B. V.; VANDERLEI, M. R.; ATHAYDE, D. B.; FRAGA, P. D.; OGURA, A. P.; SCHIESARI, L.; MONTAGNER, C. C.; DAAM, M. A.; ESPINDOLA, E.

L. G. Functional responses of *Hyaella meinerti* after exposure to environmentally realistic concentrations of 2,4-D, fipronil, and vinasse (individually and in mixture). **Aquatic Toxicology**, v. 231, n. April 2020, 2021a.

PINTO, T. J. da S.; MOREIRA, R. A.; DA SILVA, L. C. M.; YOSHII, M. P. C.; GOULART, B. V.; FRAGA, P. D.; DA SILVA ROLIM, V. L.; MONTAGNER, C. C.; DAAM, M. A.; ESPINDOLA, E. L. G. Toxicity of fipronil and 2,4-D formulations (alone and in a mixture) to the tropical amphipod *Hyaella meinerti*. **Environmental Science and Pollution Research**, v. 28, n. 28, p. 38308–38321, 2021b.

PINTO, T. J. da S.; MOREIRA, R. A.; FREITAS, J. S. schmidt; DA SILVA, L. C. M.; YOSHII, M. P. C.; DE PALMA LOPES, L. F.; OGUURA, A. P.; DE MELLO GABRIEL, G. V.; ROSA, L. M. T.; SCHIESARI, L.; DO CARMO, J. B.; MONTAGNER, C. C.; DAAM, M. A.; ESPINDOLA, E. L. G. Responses of *Chironomus sancticaroli* to the simulation of environmental contamination by sugarcane management practices: Water and sediment toxicity. **Science of the Total Environment**, v. 857, n. July 2022, 2023.

PINTO, T. J. da S.; MOREIRA, R. A.; SILVA, L. C. M. da; YOSHII, M. P. C.; GOULART, B. V.; FRAGA, P. D.; MONTAGNER, C. C.; DAAM, M. A.; ESPINDOLA, E. L. G. Impact of 2,4-D and fipronil on the tropical midge *Chironomus sancticaroli* (Diptera: Chironomidae). **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 209, 2021c.

PINTO, T. J. da 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. Chronic environmentally relevant levels of pesticides disrupt energy reserves, feeding rates, and life-cycle responses in the amphipod *Hyaella meinerti*. **Aquatic Toxicology**, v. 245, n. September 2021, 2022.

POUDYAL, S.; THOMAS FERNANDEZ, R.; OWEN, J.; CREGG, B. Dose-dependent phytotoxicity of pesticides in simulated nursery runoff on landscape nursery plants. **Water (Switzerland)**, v. 11, n. 11, 2019.

R CORE TEAM, 2022. R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. URL <https://www.R-project.org/>

RAMASUBRAMANIAN, T.; PARAMASIVAM, M. Determination and dissipation of fipronil and its metabolites in / on sugarcane crop. **International Journal of Environmental Analytical Chemistry**, v. 00, n. 00, p. 1–16, 2017. Disponível em: <<https://doi.org/10.1080/03067319.2017.1377519>>.

REIS, C. E. R.; HU, B. Vinasse from sugarcane ethanol production: Better treatment or better utilization? **Frontiers in Energy Research**, v. 5, n. APR, p. 1–7, 2017.

REVELLE, W. Psych: Procedures for Personality and Psychological Research, Northwestern University, Evanston, Illinois, USA, 2022. <https://CRAN.R-project.org/package=psych> Version = 2.2.5.).

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.

RODRIGUES REIS, C. E.; FURTADO CARVALHO, A. K.; BENTO, H. B. S.; DE CASTRO, H. F. Integration of microbial biodiesel and bioethanol industries through utilization of vinasse as substrate for oleaginous fungi. **Bioresource Technology Reports**, v. 6, n. November 2018, p. 46–53, 2019. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.biteb.2018.12.009>>.

SIBLEY, P. K.; ANKLEY, G. T.; BENOIT, D. A. Factors affecting reproduction and the importance of adult size on reproductive output of the midge *Chironomus tentans*. **Environmental Toxicology and Chemistry**, v. 20, n. 6, p. 1296–1303, 2001.

SILVA, L. C. M.; MOREIRA, R. A.; PINTO, T. J. S.; OGURA, A. P.; YOSHII, M. P. C.; LOPES, L. F. P.; MONTAGNER, C. C.; GOULART, B. V.; DAAM, M. A.; ESPÍNDOLA, E. L.

G. Acute and chronic toxicity of 2,4-D and fipronil formulations (individually and in mixture) to the Neotropical cladoceran *Ceriodaphnia silvestrii*. **Ecotoxicology**, v. 29, n. 9, p. 1462–1475, 2020. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1007/s10646-020-02275-4>>.

SILVA, L. C. M.; MOREIRA, R. A.; PINTO, T. J. S.; VANDERLEI, M. R.; ATHAYDE, D. B.; LOPES, L. F. P.; OGURA, A. P.; YOSHII, M. P. C.; FREITAS, J. S.; MONTAGNER, C. C.; GOULART, B. V.; SCHIESARI, L.; DAAM, M. A.; ESPÍNDOLA, E. L. G. Lethal and sublethal toxicity of pesticides and vinasse used in sugarcane cultivation to *Ceriodaphnia silvestrii* (Crustacea: Cladocera). **Aquatic Toxicology**, v. 241, n. June, 2021.

STEVENS, M. M.; BURDETT, A. S.; MUDFORD, E. M.; HELLIWELL, S.; DORAN, G. The acute toxicity of fipronil to two non-target invertebrates associated with mosquito breeding sites in Australia. **Acta Tropica**, v. 117, n. 2, p. 125–130, 2011. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.actatropica.2010.11.002>>.

STRATMAN, K. N.; WILSON, P. C.; OVERHOLT, W. A.; CUDA, J. P.; NETHERLAND, M. D. Toxicity of Fipronil to the Midge, *Cricotopus lebetis* Sublette. **Journal of Toxicology and Environmental Health - Part A: Current Issues**, v. 76, n. 12, p. 716–722, 2013.

SULA, E.; VALBONA, A.; BARCELO, D.; FAGGIO, C. Combined effects of moderate hypoxia , pesticides and PCBs upon crucian carp fish , *Carassius carassius* , from a freshwater lake- in situ ecophysiological approach. v. 228, n. April, 2020.

TANG, F. H. M.; LENZEN, M.; MCBRATNEY, A.; MAGGI, F. Risk of pesticide pollution at the global scale. **Nature Geoscience**, v. 14, n. 4, p. 206–210, 2021. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1038/s41561-021-00712-5>>.

TANIWAKI, R. H.; CASSIANO, C. C.; FILOSO, S.; FERAZ, S. F. de B.; CAMARGO, P. B. de; MARTINELLI, L. A. Impacts of converting low-intensity pastureland to high-intensity bioenergy cropland on the water quality of tropical streams in Brazil. **Science of the Total Environment**, v. 584–585, p. 339–347, 2017.

UNITED STATES ENVIRONMENTAL PROTECTION AGENCY. Ecological effects test guidelines, OPPTS 850.4200, seed germination/root elongation toxicity test. EPA 712-C-96-154. Prevention, Pesticides and Toxic Substances. Washington, 1996a.

USEPA. Methods for measuring the toxicity and bioaccumulation of sediment-associated contaminants with freshwater invertebrates, 2nd ed. Office of Research and Development, U.S. Environmental Protection Agency, Washington, DC, 2000.

VAN DEN BRINK, P. J.; CHOUNG, C. B.; LANDIS, W.; MAYER-PINTO, M.; PETTIGROVE, V.; SCANES, P.; SMITH, R.; STAUBER, J. New approaches to the ecological risk assessment of multiple stressors. **Marine and Freshwater Research**, v. 67, n. 4, p. 429–439, 2016.

VAN DER GEEST, G. H.; SOPPE, W. J.; GREVE, G. D.; KROON, A.; KRAAK, M. H. S. Combined effects of lowered oxygen and toxicants (copper and diazinon) on the mayfly *Ephoron virgo*. v. 21, n. 2, p. 431–436, 2002.

VO, T.; BUI, B.; WIEGAND, C.; DINH, K. V. Environmental Technology & Innovation Responses of a tropical micro-crustacean, *Daphnia lumholtzi*, upon exposures to dissolved toxins and living cells of cyanobacteria. **Environmental Technology & Innovation**, v. 19, p. 100973, 2020. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.eti.2020.100973>>.

ZIVAN, O.; BOHBOT-RAVIV, Y.; DUBOWSKI, Y. Primary and secondary pesticide drift profiles from a peach orchard. **Chemosphere**, v. 177, p. 303–310, 2017. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.chemosphere.2017.03.014>>.

CAPÍTULO 4

Avaliação de risco ecológico para o diagnóstico de impactos ambientais oriundos de pastagens extensivas, pastagens intensivas e plantações de cana-de-açúcar: uma perspectiva sobre a perda de serviços ecossistêmicos

Isabele Baima Ferreira Freitas*, Paul J. Van den Brink, Thandy Junio da Silva Pinto, Evaldo Luiz Gaeta Espíndola, Maria Paula Cardoso Yoshii, Lais Giroto, Lais Roberta Sorigotto, Natan Guilherme dos Santos, Danillo Badolato Athayde, Gabriele Verônica de Mello Gabriel, Bianca Veloso Goulart, Janaina Braga do Carmo, Cassiana Montagner, Maria Stela Maioli Castilho Noll, Luis Cesar Schiesari, Luiz Antônio Martinelli

RESUMO

A crescente pressão para aumentar a produtividade agrícola e produzir bioenergia em larga escala representa uma grande ameaça ao meio ambiente devido à mudança no uso da terra, o potencial de perda de biodiversidade e o uso excessivo de fertilizantes e agrotóxicos. Neste estudo, avaliou-se o risco ecológico e a perda de serviços ecossistêmicos causado pelo manejo do solo em sistemas de pastagem extensiva (PE), pastagem intensiva (PI) e cana-de-açúcar (C). A avaliação de risco ecológico (ARE) foi construída a partir o método da tríade, que consiste na análise de três linhas de evidência: química, ecológica e ecotoxicológica. A avaliação da perda de serviços ecossistêmicos foi desenvolvida a partir da construção de cadeias lógicas consistentes e baseadas em evidências para demonstrar os efeitos mais amplos da contaminação por metais e agrotóxicos nos serviços ecossistêmicos fornecidos por dois grupos de espécies-chave: plantas não alvo e invertebrados aquáticos. Os resultados obtidos na ARE evidenciaram que o risco foi maior nos tratamentos C e PI em comparação com o tratamento PE, sendo maior no tratamento PI devido ao aumento da concentração de alumínio e pelo agrotóxico 2,4-D, enquanto no tratamento C os principais responsáveis pelo aumento do risco foram os metais alumínio, potássio, manganês e os agrotóxicos 2,4-D e fipronil. As cadeias lógicas demonstraram efeitos nos serviços ecossistêmicos, com redução da qualidade do solo e da água e perda de

biodiversidade. Por fim, objetivos de proteção específicos foram desenvolvidos para cada grupo de espécie-chave, de acordo com os requisitos legais da legislação europeia.

Palavras-chaves: 2,4-D. Fipronil. Metais. Alumínio. Vinhaça.

1 INTRODUÇÃO

A agricultura tem um papel importante no fornecimento de alimentos e de bioenergia para a sociedade (Zhang et al., 2007). No entanto, as práticas agrícolas convencionais, como o uso de fertilizantes e agrotóxicos, são responsáveis também por diminuir a provisão de diversos serviços ecossistêmicos que são fornecidos pelos ecossistemas terrestres e aquáticos (El Chami; Daccache; El Moujabber, 2020). No Brasil, a conversão de pastagens extensivas em pastagens intensivas e cultivo de cana-de-açúcar vem sendo relatada como uma importante fonte difusa de nutrientes, metais e agrotóxicos (Freitas et al., 2023). Isso se deve ao fato de que pastagens intensificadas e culturas de cana-de-açúcar pressupõem um manejo intensivo do solo, como preparo do solo; aplicação de fertilizantes – NPK; de agrotóxicos – especialmente 2,4-D e fipronil; e fertirrigação com vinhaça da cana-de-açúcar (Freitas et al., 2023).

Como consequência, os agroquímicos e seus resíduos são frequentemente detectados nas águas superficiais em concentrações acima do permitido, contribuindo para a perda de biodiversidade e alterações em espécies de diferentes níveis tróficos (Krebs et al., 1999). As perturbações antrópicas no ambiente aquático podem ser analisadas por meio da Avaliação de Risco Ecológico (ARE). A ARE é uma ferramenta utilizada para avaliar os impactos de diferentes estressores químicos presentes no meio ambiente e consiste em uma análise integrada da probabilidade de risco nos ecossistemas (Jensen; Mesman, 2006; Ogura et al., 2022b). O método da tríade é uma das abordagens da ARE e considera o risco proveniente de três linhas de evidência (LE): 1) LE química (caracterização química dos contaminantes); 2) LE ecotoxicológica (realização de bioensaios, em laboratório ou em campo, para determinação da toxicidade dos contaminantes); 3) LE ecológica (caracterização da comunidade biológica que está exposta à contaminação) (Jensen; Mesman, 2006). A análise integrada dessas três linhas de evidência estima o risco de exposição, mais detalhadamente, a que o ecossistema está sujeito e

gera informações substanciais que podem auxiliar no processo de tomada de decisão pelos gestores ambientais (Jensen; Mesman, 2006).

Aliado à ARE, é possível classificar também as perdas de serviços ecossistêmicos (SE) em determinado cenário. O conceito de SE é resultado de complexas interações entre os compartimentos bióticos e abióticos de um ecossistema (Schäfer et al., 2012) e constitui um eficiente meio de comunicação entre os diferentes grupos tomadores de decisão e avaliadores de risco (Nienstedt et al., 2012). Os SEs são divididos em quatro categorias: serviços de provisionamento (produção de bens), como alimentos e água; serviços reguladores (processos de suporte à vida), como a regulação da qualidade do clima e da água; serviços culturais (condições que satisfazem a vida), como valores estéticos e de recreação; e serviços de sustentação (processos de suporte à vida), como o processo de formação do solo, fotossíntese e ciclagem de nutrientes (Millennium Ecosystem Assessment, 2005).

A abordagem de serviços ecossistêmicos é bastante difundida na legislação da união europeia, em que diversos documentos preveem o uso e aplicação desse conceito (Millennium Ecosystem Assessment, 2005) como um instrumento para derivar objetivos específicos de proteção para diferentes grupos de espécies consideradas chave no ecossistema (EFSA, 2010; Nienstedt et al., 2012). Recentemente, a abordagem de serviços ecossistêmicos vem sendo conectada à construção de cadeias lógicas, evidenciadas pela literatura publicada, que identificam as ligações entre pressões ambientais, mudanças nos atributos do ecossistema e os efeitos sobre os serviços ecossistêmicos relacionados (Hayes et al., 2018; Van Den Brink et al., 2021). Essa abordagem permite uma avaliação robusta dos possíveis impactos, indicando efeitos primários, secundários e terciários entre a exposição ao contaminante e os serviços ecossistêmicos afetados (Hayes et al., 2018).

Considerando o cenário de expansão das áreas de pastagem e cana-de-açúcar no Brasil (Oliveira et al., 2019), o objetivo deste estudo foi avaliar o risco ecológico, a partir do método da tríade (Jensen; Mesman, 2006), a que ecossistemas aquáticos inseridos em sistemas de pastagens extensivas (PE), pastagens intensivas (PI) e cana-de-açúcar (C) estão submetidos. A fim de obter resultados mais robustos, a caracterização do risco ecológico foi seguida da construção de cadeias lógicas de efeito-consequência (Hayes et al., 2018). Após a identificação de serviços ecossistêmicos importantes por meio das cadeias lógicas, objetivos de proteção específicos foram desenvolvidos baseados nas proposições da legislação da união europeia (EFSA, 2010). Este

estudo contribui para uma visão mais holística sobre os impactos ambientais relacionados ao manejo do solo em áreas de PE, PI e C.

2 MATERIAL E MÉTODOS

2.1 Área de estudo e uso do solo

As características da área experimental e o manejo do solo conduzidos nos tratamentos PE, PI e C estão descritos no Capítulo 1/Tópico 5 desta tese. A Figura 28 resume as etapas discutidas no presente capítulo.

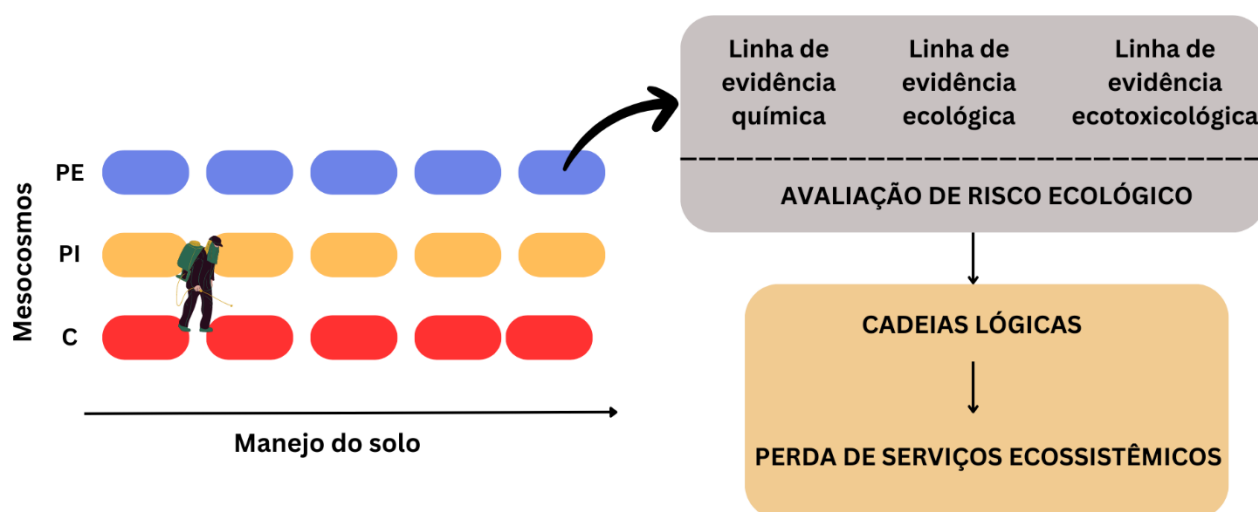


Figura 28 – Etapas discutidas no Capítulo 4

2.2 Avaliação de risco ecológico

A caracterização do risco foi realizada a partir da análise de três linhas de evidência (química, ecológica e ecotoxicológica), que foram analisadas de forma integrada para obter o risco ecológico final (Jensen; Mesman, 2006) (Tabela 28), considerando a matriz aquática. Os parâmetros usados para calcular o risco nas linhas de evidência química, ecológica e ecotoxicológica foram, respectivamente: **1)** concentração de agrotóxicos (2,4-D, fipronil), concentração de metais (Al, Ba, Cd, Co, Cu, Mn, Ni, Pb, Zn), oxigênio dissolvido, pH e turbidez (FREITAS et al., 2023); **2)** dominância (índice de Simpson), diversidade (índice de Shannon) e

equitabilidade de Pilou (DOS SANTOS et al., 2023 – comunicação pessoal; comunidade zooplancônica); clorofila a, nitrogênio total, fósforo total, índice de estado trófico e potássio (Freitas et al., 2023); 3) *C. silvestrii* (mortalidade - teste agudo; e sobrevivência de fêmeas - teste crônico) e *E. sativa* (germinação) (resultados descritos no capítulo 3).

Na linha de evidência química, os valores de referência utilizados foram aqueles disponíveis na resolução CONAMA 357/05 (Brasil, 2005) para corpos d'água de Classe 1 (abastecimento para consumo humano, proteção das comunidades aquáticas, recreação e irrigação). Na linha de evidência ecológica, foram usados os valores de referência da CONAMA 357/05 para os componentes químicos, enquanto para os índices ecológicos os valores de referência foram os obtidos no tratamento PE. Na linha de evidência ecotoxicológica, os valores de referência foram os obtidos para o tratamento PE. Os cálculos de risco (Tabela 28) consideraram os resultados obtidos após os eventos de manejo do solo (Tabela 29). A classificação de risco após a integração das três linhas de evidência foi expressa de zero a um: **risco baixo** (0,000-0,250), **risco moderado** (0,251-0,500), **risco alto** (0,501-0,750) ou **risco muito alto** (0,751-1,000). O modelo conceitual do risco adotado para a ARE em cenário de riscos potenciais decorrentes do manejo do solo em área de PE, PI e C está representado na Figura 29.

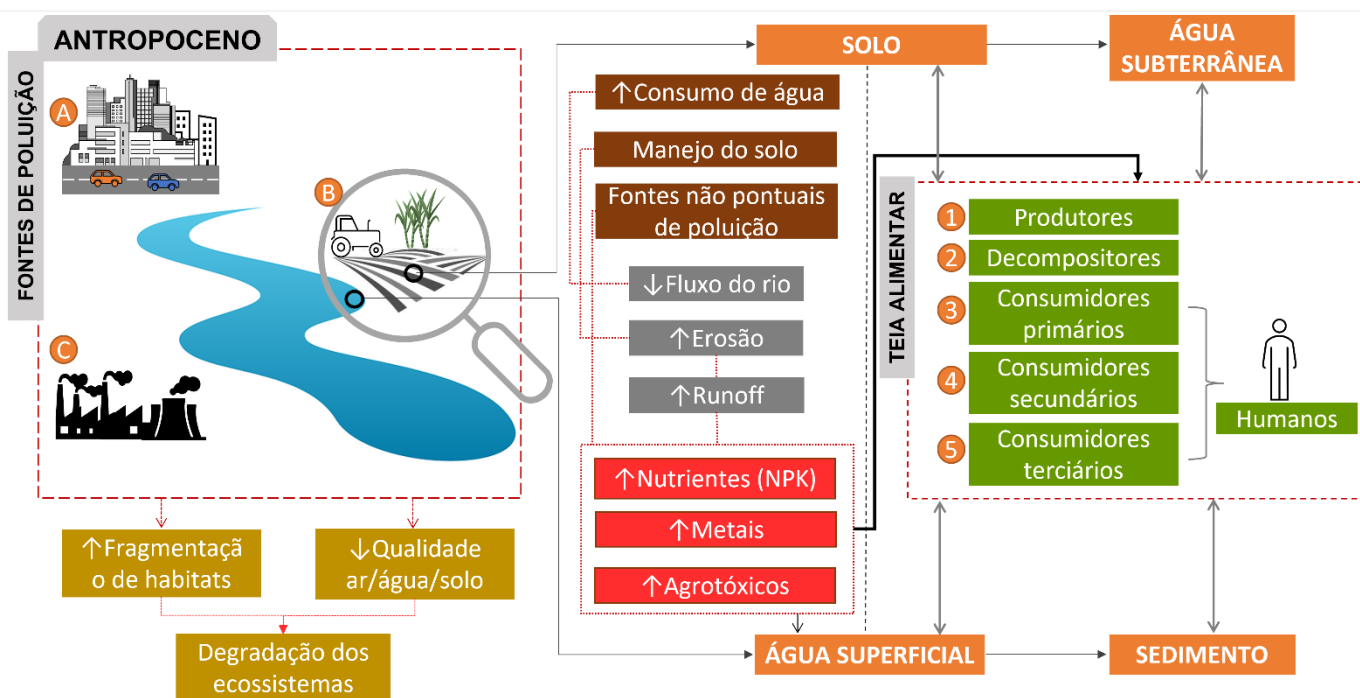


Figura 29 – Modelo conceitual adotado para a Avaliação de Risco Ecológico, representando as principais fontes de poluição e impactos da era do Antropoceno, com foco nas atividades agropecuárias.

Tabela 28 - Estrutura de avaliação de risco ambiental baseada na tríade da linha de evidência (LE) química, ecotoxicológica e ecológica. Após cálculos individuais, o risco integrado foi estimado com base no modelo de avaliação de risco de Jensen & Mesman (2006).

LE química		
R1	Concentração medida	
R2	Valor de referência	CONAMA 357 (BRASIL, 2005)
R3	Pressão tóxica de cada parâmetro	$\frac{R1}{R2}$
R4	Cálculo do risco	$1 - \frac{1}{1 + R3}$
R5	Correção das concentrações em relação ao valor de referência	$\frac{R4 - R4_{ref}}{1 - R4_{ref}}$
R6	Risco combinado para todos os parâmetros	$1 - ((1 - R5)_1 \times (1 - R5)_2 \times \dots \times (1 - R5)_n)$
LE ecológica		
R1	Média entre o valor medido e a referência	
R2	Cálculo dos valores de log absolutos	$ABS(\log((R1)))$
R3	Cálculo da soma de todos os valores multiplicados por -1	$1 - * \sum R2$
R4	Número de <i>endpoints</i>	n
R5	Divisão da soma pelo número de <i>endpoints</i>	$\frac{R3}{R4}$
R6	Cálculo do valor médio geométrico (risco integrado)	$1 - 10^{R5}$
LE ecotoxicológica		
R1	Divisão dos valores de teste (%) por 100	$\frac{x(\%)}{100}$
R2	Derivação do risco	$\frac{R1 - R_{ref}}{1 - R_{ref}}$
R1	Integração de dados ecotoxicológicos	$\log(1 - x)$
R2	Média dos testes	$Average(x_1 \dots x_n)$
R3	Risco ecotoxicológico integrado	$1 - 10^X$
Risco integrado		
x	Valores de risco para cada linha de evidência	
R1	Cálculo do logaritmo de (1-risco)*	$\log(1 - x)$
R2	Média dos valores de R1	$Average(x_1 \dots x_n)$
R3	Risco integrado final	$1 - (10^{R2})$

Tabela 29 - Coletas consideradas na elaboração da Avaliação de Risco Ecológico e descrição das etapas de manejo do solo nos tratamentos de pastagem extensiva (PE), pastagem intensiva (PI) e cana-de-açúcar (C) durante os dois ciclos da cana-de-açúcar (o primeiro estabelecimento da cultura - 1º; e a rebrota da cana-de-açúcar - 2º).

Ciclo da cana	Coleta	Evento	Tratamento
1ºSC	1 (18/12/18)	Fertilizante/Fipronil	PI/C
	2 (16/01/19)	Fertilizante/Fipronil	PI/C
	3 (04/02/19)	2,4-D	PI/C
	4 (06/08/19)	2,4-D	PI
	5 (22/10/19)	Corte da cana	C
2ºSC	6 (30/10/19)	Fertilizante	PI/C
	7 (11/11/19)	Vinhaça	C
	8 (26/11/19)	Fipronil	C
	9 (10/12/19)	2,4-D	PI/C

2.3 Cadeias lógicas e serviços ecossistêmicos

Após a caracterização do risco, foram desenvolvidas cadeias lógicas para identificar os impactos da presença de agrotóxicos (2,4-D e fipronil) e metais (alumínio) em águas superficiais sobre os serviços ecossistêmicos fornecidos por dois grupos de espécies-chave — plantas não-alvo e invertebrados aquáticos. As cadeias lógicas foram projetadas para levantar a hipótese de cadeias causais de efeitos entre o serviço ecossistêmico selecionado e os estressores (método descrito em Hayes et al., 2018). As cadeias lógicas começam com uma exposição aos contaminantes, resultando em uma diminuição do fator-chave sensível. Esse efeito direto se transforma em efeitos subsequentes em cascata, que resultam na alteração de um processo final e afetam o serviço ecossistêmico (Figura 30). Cada elo das cadeias é apoiado por evidências científicas publicadas, como forma de comprovar os efeitos descritos ao longo das cadeias lógicas.

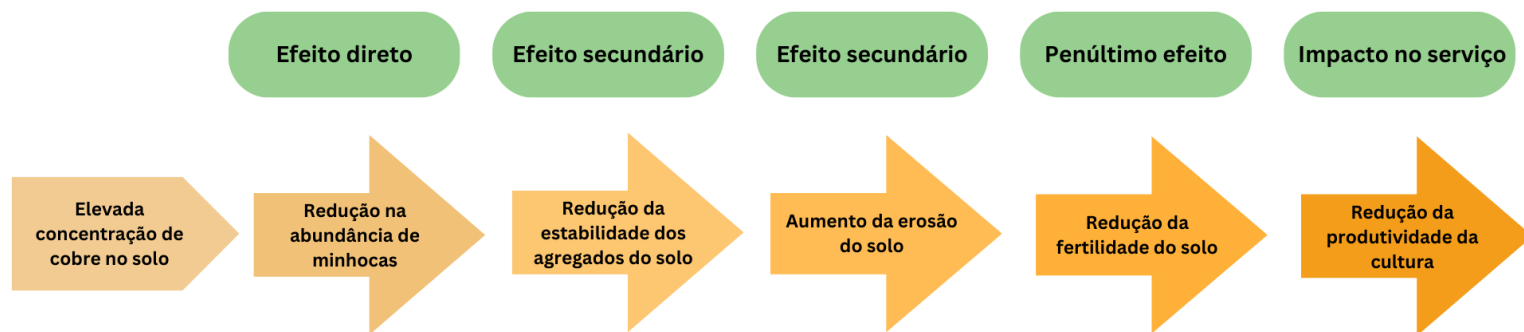


Figura 30 – Demonstração da estrutura de uma cadeia lógica de impacto, desde o efeito direto até os impactos em um serviço final do ecossistema, usando como exemplo os possíveis impactos de concentrações elevadas de cobre na produção agrícola.

Fonte: Adaptado de Hayes et al. (2019)

Após o desenvolvimento das cadeias lógicas, foi possível identificar os serviços ecossistêmicos mais importantes afetados pelo manejo do solo em pastagens extensivas, pastagens intensivas e cana-de-açúcar. Em seguida, foram desenvolvidos objetivos de proteção específicos para espécies-chave com base nos requisitos legais da legislação europeia (EFSA, 2016). A EFSA descreve quatro etapas no procedimento para desenvolver objetivos de proteção específicos usando o conceito de serviços ecossistêmicos, que incluem: **1)** selecionar a lista de serviços ecossistêmicos relevantes no ecossistema; **2)** identificar como os estressores podem afetar os serviços ecossistêmicos selecionados; **3)** selecionar os principais fatores determinantes desses serviços ecossistêmicos; **4)** desenvolver objetivos de proteção específicos por meio de cinco dimensões – *entidade ecológica* (indivíduo, população, comunidade), *atributo* (comportamento, sobrevivência, reprodução), *magnitude* (pequena, média, grande), *escala espacial* (no campo, borda do campo, campo próximo, área protegida, bacia hidrográfica, paisagem, região, continente) e *escala temporal* (dias, semanas, meses, estações, anos, décadas, gerações, rotações). Este procedimento é de suma importância para o desenvolvimento de uma avaliação de risco ambiental mais robusta e assertiva, considerando que os avaliadores de risco precisam ser capazes de quantificar o que proteger, onde proteger e por quanto tempo proteger (Nienstedt et al., 2012).

3 RESULTADOS

3.1 Avaliação de risco ecológico

O risco da LE ecológica se manteve entre baixo e moderado em todos os tratamentos; porém foi observado risco mais elevado para o tratamento PI e C, em relação ao tratamento PE (Figura 31A). No tratamento PI, foi observado aumento do risco de baixo para moderado nas coletas 5 (após corte da cana), associado aos valores de clorofila *a*, nitrogênio total e potássio; e 6 (após fertilizante), associado aos valores de clorofila *a*, nitrogênio total, fósforo total e potássio. No tratamento C, a mesma tendência (risco baixo para moderado) foi observada nas coletas 7 (após vinhaça), associada ao aumento dos valores de clorofila *a*, potássio, e fósforo total; e 8 (após fipronil), associada aos valores de clorofila *a* e potássio. Quanto à LE ecotoxicológica, o risco observado foi baixo em todos os tratamentos para todas as coletas avaliadas (Figura 31B).

Dentre as LE avaliadas, a química foi a responsável pelos maiores índices de risco, especialmente nos tratamentos PI e C. O risco da LE química considerou tanto a presença isolada de agrotóxicos (Figura 31C) e metais (Figura 31D) quanto a junção de ambos (Figura 31E). Esta abordagem permitiu inferir qual dos dois grupos de contaminantes teve maior contribuição para o aumento do risco ecológico. O risco químico variou de moderado a muito alto nos tratamentos PI e C em todas as coletas (Figura 31C). O tratamento PI apresentou risco alto após a aplicação de 2,4-D (coletas 3, 4 e 9) e após o fipronil (coleta 8); e muito alto após corte da cana (coleta 5) e após aplicação de fertilizantes (coleta 6) (Figura 31C). O tratamento C apresentou risco alto após fipronil (coleta 8); e muito alto nas coletas 1 (após fertilizantes/fipronil), 5 (após corte da cana), 7 (após vinhaça) e 9 (após 2,4-D) (Figura 31C). O aumento do risco químico no tratamento PI esteve associado especialmente às concentrações de metais, enquanto no tratamento C foi associado a ambas as concentrações de metais e agrotóxicos.

No tratamento PI, o maior risco químico (muito alto) foi observado nas coletas 5 (após corte da cana) e associado ao aumento das concentrações de alumínio, cádmio e cobre; e 6, associado aos valores de alumínio e manganês (após fertilizante). No tratamento C, o risco muito alto observado na coleta 9 (após 2,4-D) foi associado ao aumento das concentrações de 2,4-D, alumínio e manganês. Nesta coleta, a maior concentração de 2,4-D foi registrada ($97 \mu\text{g L}^{-1}$). Na integração dos riscos, observou-se que os maiores índices foram obtidos quando na presença de

metais (Figura 31G). O risco integrado total (Figura 31H) se manteve baixo no tratamento PE em todas as coletas, variou de baixo a alto no tratamento PI, e de baixo a muito alto no tratamento C.

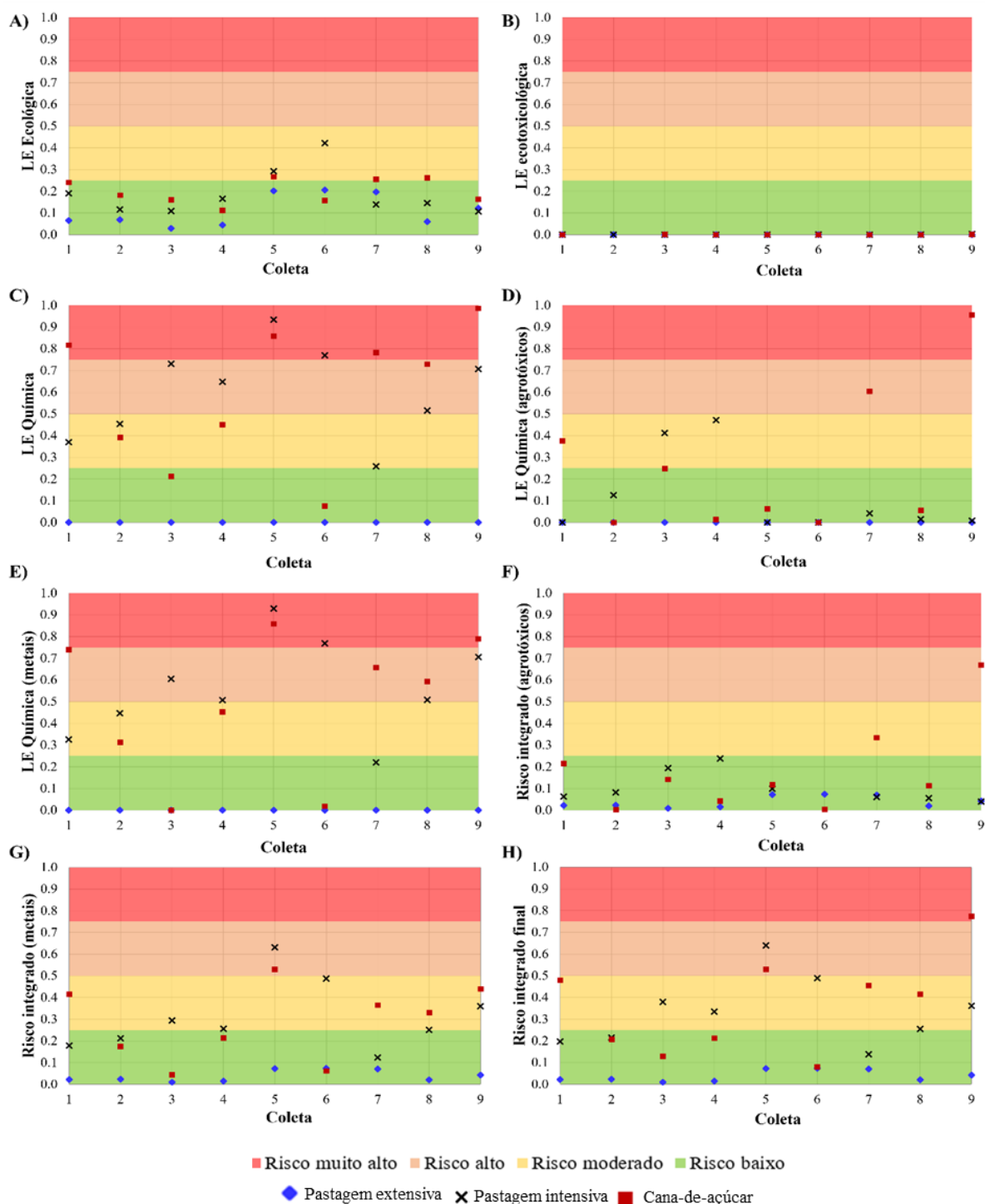


Figura 31 - Avaliação de risco ecológico para as Linhas de Evidência (LE): **A)** ecológica, **B)** ecotoxicológica e **C)** química - **D)** metais e **E)** agrotóxicos -, indicando os riscos de baixo a extremamente alto para as datas de amostragem. O risco integrado representa o risco final das três linhas de evidência (ecológica, ecotoxicológica e química) calculadas considerando **F)** agrotóxicos, **G)** metais e **H)** ambos. Coletas 1 e 2 – após fertilizante e fipronil (PI/C); coleta 3 - após 2,4-D (PI/C); coleta 4 – após 2,4-D (PI); coleta 5 – após corte da cana; coleta 6 – após fertilizante (PI/C); coleta 7 – após vinhaça (C); coleta 8 – após fipronil (C); coleta 9 – após 2,4-D (PI/C).

3.2 Cadeias lógicas e serviços ecossistêmicos

As cadeias lógicas baseadas em evidências demonstraram os impactos provenientes da exposição a metais – representado pelo alumínio, metal que mais influenciou o risco químico na ARE –; e agrotóxicos – representado pelo 2,4-D e fipronil. As Figuras 32 e 33 representam as cadeias de impacto após a exposição das espécies-chave plantas não alvo e invertebrados aquáticos aos metais e agrotóxicos, respectivamente. A partir da relação entre causa e efeito delineada nas cadeias lógicas, objetivos de proteção específicos foram determinados para cada grupo de espécie-chave, de acordo com os requisitos legais da legislação europeia, e estão descritos na Tabela 30. Os serviços ecossistêmicos identificados para cada espécie-chave foram divididos em quatro categorias: provisão, suporte, cultural e regulação.

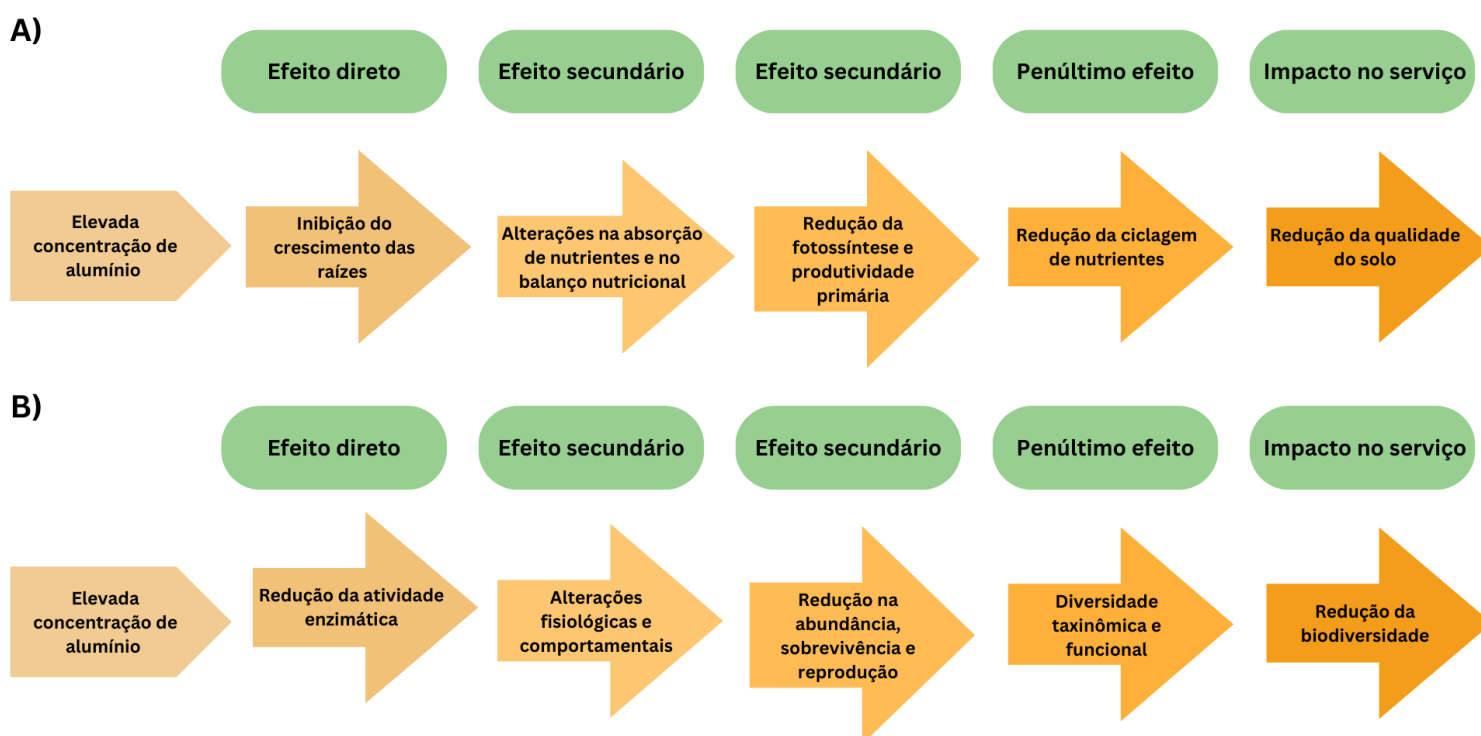


Figura 32 - Cadeia lógica de impactos para os grupos de espécie-chave **A)** Plantas não-alvo e **B)** Invertebrados aquáticos, oriundos da exposição a concentrações elevadas de metais (alumínio).

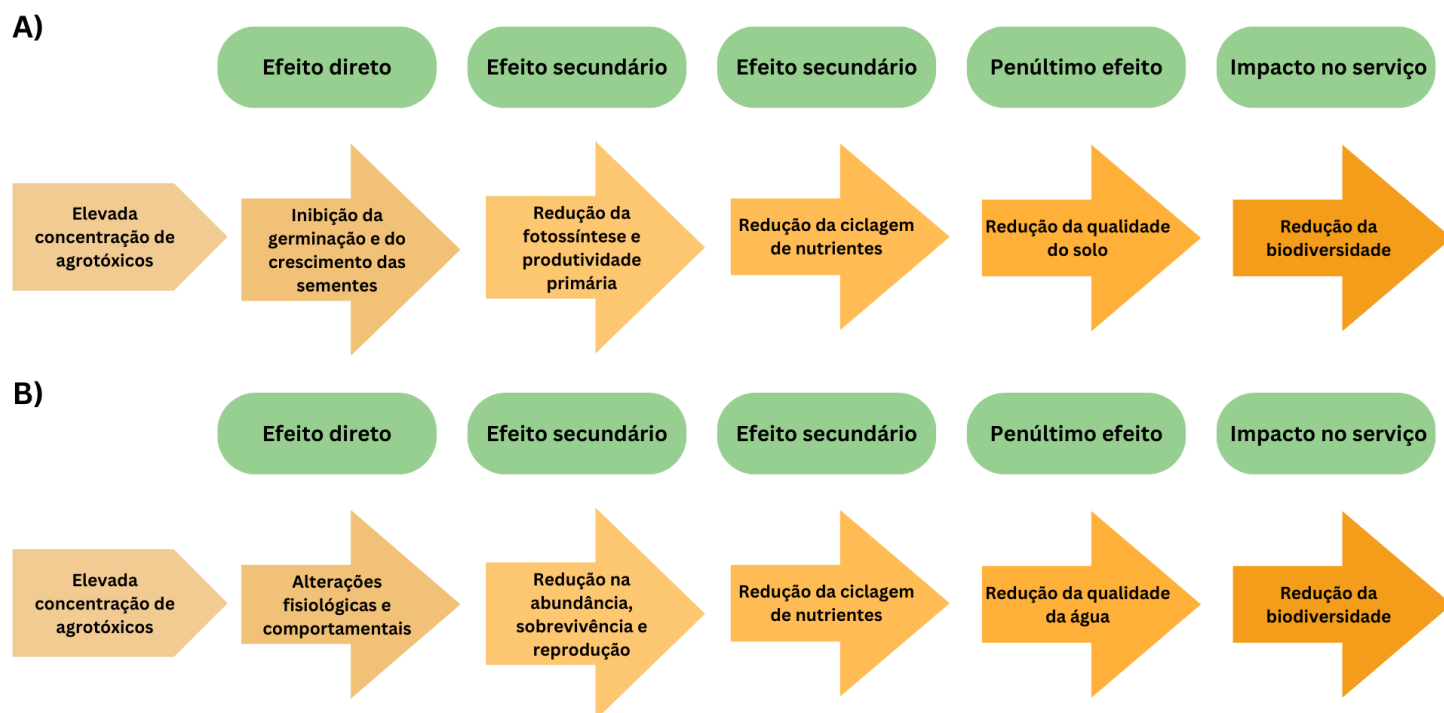


Figura 33 - Cadeia lógica de impactos para os grupos de espécie-chave **A)** Plantas não-alvo e **B)** Invertebrados aquáticos, oriundos da exposição a concentrações elevadas de agrotóxicos (2,4-D e fipronil).

Tabela 30 - Estrutura de serviços ecossistêmicos baseados em metas de proteção específicas para os grupos de espécies-chave plantas não-alvo e invertebrados aquáticos possivelmente afetados pelo manejo do solo em pastagens extensivas, pastagens intensivas e culturas de cana-de-açúcar. As metas de proteção específicas baseiam-se nos requisitos legais derivados da legislação europeia e são especificadas em termos de entidade ecológica, atributo, magnitude do impacto e escala espaço-temporal do impacto (EFSA, 2010).

Espécie-chave	Categoria	Serviço ecossistêmico	Requerimento legal	Objetivo de proteção específico	Entidade ecológica	Atributo	Escala		
							Magnitude	Espacial	Temporal
Plantas não alvo	Provisão	Alimentos; Recursos genéticos; Biodiversidade	Sem diminuição da produtividade	Em curto prazo, nenhum efeito sobre a biomassa de grupos funcionais e espécies-chave	População a grupos funcionais	Biomassa afetada pela germinação/crescimento	Efeito pequeno a médio em agroecossistemas (dependente da população)	Borda do campo a paisagem/bacia hidrográfica	Dias a semanas na borda do campo; dias em áreas protegidas e bacias hidrográficas
	Regulação	Regulação da água; Regulação da qualidade do ar							
	Cultural	Educação e inspiração; Valores estéticos							
	Suporte	Fotossíntese; Produção primária; Ciclagem de nutrientes; Ciclagem de água; Formação e retenção do solo							
Invertebrados aquáticos (água doce)	Provisão	Recursos genéticos; Biodiversidade	Nenhum efeito letal e subletal; Nenhum efeito comportamental	A curto prazo, nenhum efeito na abundância, sobrevivência, reprodução e diversidade taxonômica e funcional de grupos funcionais e espécies-chave	Grupos funcionais	Abundância/biomassa; Sobrevivência/crescimento; Reprodução; Diversidade taxonômica e funcional	Efeito pequeno a médio em agroecossistemas (dependente da população)	Borda do campo a bacia hidrográfica	Dias a semanas na borda do campo; dias em áreas protegidas e bacias hidrográficas
	Regulação	Regulação de pragas e doenças; Purificação de água							
	Cultural	Educação e inspiração; Valores estéticos							
	Suporte	Ciclagem de nutrientes							

4 DISCUSSÃO

O manejo convencional do solo em áreas de conversão de pastagem em cana-de-açúcar alteram as suas propriedades físicas e químicas do solo e interferem na disponibilidade de nutrientes, metais e agrotóxicos, contribuindo potencialmente para o carreamento desses contaminantes para a água doce (Freitas et al., 2023). Os resultados obtidos no presente estudo demonstram que este tipo de manejo está estreitamente relacionado com o aumento do risco ecológico, principalmente nos tratamentos PI e C, em que as intervenções no solo foram conduzidas em maior escala. Metais, como o alumínio, antes imobilizados no solo e com uma taxa de dissolução e carreamento baixa, passam a ser perdidos em escalas maiores devido ao manejo e revolvimento do solo conduzido em larga escala em monoculturas (Bjerregaard; Andersen; Andersen, 2021).

Em ambos os tratamentos PI e C, a obtenção de risco químico muito alto esteve associado principalmente às concentrações de alumínio. Do total das amostras coletadas nos mesocosmos do presente estudo, 98% foram superiores a 0.1 mg L^{-1} (Freitas et al., 2023), estando fora dos padrões de qualidade da água e água potável da resolução CONAMA 357/2005 (BRASIL, 2005). O alumínio é um constituinte natural do latossolo vermelho-amarelo (solo da área de estudo) (Freitas et al., 2023), é encontrado na maioria dos solos e rochas, é o terceiro elemento mais abundante e o metal mais comum na crosta terrestre (EPA, 2018). O alumínio pode ser transportado para a água por meio de processos naturais, como o desgaste das rochas, e como resultado de atividades antrópicas, como a mineração e uso do solo (EPA, 2018).

As perdas de alumínio podem causar diversos danos as comunidades aquáticas, devido a sua toxicidade em altas concentrações, a sua capacidade de se complexar com outros compostos e comprometer a atividade de enzimas importantes, afetar a capacidade de algumas espécies de regular íons, como sais, e inibir funções respiratórias (Shugalei et al., 2013). Uma das principais causas relatadas da morte de peixes em lagos e rios acidificados está relacionada aos efeitos das espécies tóxicas de Al sobre as funções das brânquias, com subsequente perda de sais do sangue e distúrbios nas trocas gasosas (Bjerregaard; Andersen; Andersen, 2021). Outros estudos relatam os efeitos tóxicos do alumínio, como alterações na sobrevivência, no crescimento e na morfologia de *D. rerio* (Capriello et al., 2021; Monaco; Grimaldi; Ferrandino, 2017); e na

sobrevivência e reprodução de *P. promelas* (Cardwell et al., 2018), dos caramujos *L. stagnalis* e do cladóceros *D. magna* (Gensemer et al., 2018).

A biodisponibilidade do alumínio depende de parâmetros químicos específicos da água, como pH, dureza e carbono orgânico dissolvido (Gensemer et al., 2018). O parâmetro químico mais importante para o alumínio é o pH, pois a especiação e a solubilidade desse metal ocorre em função dele; por exemplo, a presença de alumínio na fase aquosa predomina em pH baixo (~4,0) (Bjerregaard; Andersen; Andersen, 2021). No entanto, as diretrizes regulatórias de qualidade da água são, em sua maioria, apresentadas como um valor único, desconsiderando esses parâmetros. Isso pode levar a uma proteção excessiva ou insuficiente para os organismos aquáticos (Bjerregaard; Andersen; Andersen, 2021).

A vinhaça da cana-de-açúcar também é relatada como fonte potencial de metais em sua composição, como potássio, cádmio, sódio, magnésio e ferro (Christofolletti et al., 2013). A vinhaça também é caracterizada por seu pH ácido, alta demanda bioquímica de oxigênio e condutividade. No presente estudo, o risco ecológico observado no tratamento C passou de baixo a muito alto após a aplicação de vinhaça (Figura 31). Isso ocorreu como consequência do aumento das concentrações de manganês, cobalto e potássio, bem como a redução do pH e do oxigênio dissolvido (Freitas et al., 2023). Diversas pesquisas alertam para os efeitos tóxicos da vinhaça da cana-de-açúcar em organismos não-alvo. Por exemplo, Silva et al. (2021) reportaram 100% de mortalidade de *C. silvestrii* em mesocosmos contaminados com vinhaça da cana-de-açúcar e com a mistura de vinhaça e o inseticida fipronil. Nesse estudo, a diminuição do pH e o aumento da condutividade após a aplicação de vinhaça também influenciaram na mortalidade desta espécie devido ao aumento do estresse fisiológico. Efeitos similares também foram observados para a espécie *H. meinerti*, com 100% de mortalidade após a contaminação nos tratamentos contendo vinhaça e fipronil (isolados e em mistura) (Pinto et al., 2021b).

O aumento nas concentrações de Mn e Co provenientes da vinhaça também pode causar toxicidade nos organismos aquáticos. Os efeitos tóxicos do Mn incluem a sua bioacumulação no fígado e nas brânquias e alterações cerebrais no peixe *Astyanax lacustris* (Gnocchi et al., 2023), bem como alterações genotóxicas, bioquímicas e comportamentais no peixe *D. rerio* (Marins et al., 2019). Similarmente, a presença de Co induziu à bradicardia e à alterações morfológicas no peixe *D. rerio*, como inibição da insuflação da bexiga natatória, edema do saco vitelino e edema do pericárdio (Alves et al., 2022).

No tratamento C, o risco muito alto esteve associado principalmente a concentração de 2,4-D. A maior concentração detectada deste agrotóxico ($97.97 \mu\text{g L}^{-1}$ – coleta 7) foi 24 vezes maior que a concentração máxima permitida para corpos d'água de Classe 1 ($4 \mu\text{g L}^{-1}$), de acordo com os padrões de qualidade da água e água potável da resolução CONAMA 357/2005 (BRASIL, 2005). Apesar do elevado risco apontado na LE química, o risco observado para a LE ecotoxicológica foi baixo em todos os tratamentos e coletas. Similarmente, o risco ecológico avaliado no Reservatório do Lajeado (Araraquara, Brasil) – cuja bacia hidrográfica tem como principais usos do solo a cultura de cana-de-açúcar e pastagens – foi maior na linha de evidência química (Ogura et al., 2022), atrelado principalmente aos metais (manganês, ferro, chumbo e zinco), enquanto o risco na linha de evidência ecotoxicológica se manteve de baixo a moderado (Ogura et al., 2022).

O baixo risco detectado na LE ecotoxicológica expõe a sensibilidade dos modelos de avaliação de risco ecológico aos *endpoints* usados no cálculo do risco. A utilização de endpoints padronizados da ecotoxicologia, como sobrevivência (efeitos agudos) e reprodução (efeitos crônicos), na ARE pode subestimar o risco a que a comunidade aquática está exposta. Por exemplo, alguns estudos relatam efeitos subletais causados pelo agrotóxico 2,4-D, como alterações citotóxicas, genotóxicas e mutagênicas em plantas, bem como alterações histológicas, fisiológicas e comportamentais em animais em concentrações abaixo de $30 \mu\text{g L}^{-1}$ (Marcato; Souza; Fontanetti, 2017). Esses resultados alertam que *endpoints* mais sensíveis precisam ser considerados na ARE.

Os efeitos tóxicos observados nos organismos não-alvo levam à perda das funções ecológicas desempenhadas por eles e, conseqüentemente, afetam os serviços ecossistêmicos que eles fornecem. Considerando as monoculturas, as práticas agrícolas características dessas áreas produzem sistemas simplificados que resultam na exaustão do solo, no empobrecimento nutricional, na contaminação da água, do solo e do ar (Suarez; Gwozdz, 2023), afetando também a provisão de serviços ecossistêmicos, como o controle de pragas (Grab et al., 2018), a polinização (Aizen et al., 2019) e a ciclagem de nutrientes (Feng et al., 2023; Soto-Jimenez; Paez-Osuna; Bojorquez-Leyva, 2003).

Neste contexto, a construção de cadeias lógicas de efeito vem sendo cada vez mais usadas para avaliar os benefícios e custos das perturbações ambientais, pois oferecem um meio de contabilizar as externalidades que normalmente não são consideradas na tomada de decisões

(Maltby et al., 2018). No presente estudo, a poluição por metais (alumínio) e agrotóxicos (2,4-D e fipronil) mostrou uma rede de impactos originados de efeitos diretos em plantas não alvo e invertebrados aquáticos. Enquanto a poluição por agrotóxicos mostrou potencial de conduzir a efeitos letais e subletais nas espécies-chave avaliadas e, conseqüentemente, a redução na qualidade do sistema solo/água, a poluição por metais refletiu o potencial de alterar a diversidade funcional e taxinômica das comunidades.

Ambas as exposições foram potencialmente relacionadas à redução da biodiversidade. Para os invertebrados aquáticos (constituem a comunidade zooplanctônica), os efeitos em cadeia observados exercem pressão sobre o funcionamento adequado dos ecossistemas, uma vez que este grupo de espécies exerce função fundamental na condução do fluxo de energia, dos produtores primários para os consumidores de níveis tróficos superiores, e no transporte e regeneração de nutrientes pelo seu elevado metabolismo (Lomartire; Marques; Gonçalves, 2021). No caso das plantas não alvo, uma redução na sua germinação e crescimento acarreta a diminuição da fotossíntese e da produtividade primária, aumento da erosão do solo, e redução da ciclagem de nutrientes (Blanco; Lal, 2010); estes efeitos intermediários diminuem a qualidade do solo e torna-o cada vez mais suscetível à ocorrência de pragas e dependente da utilização de agroquímicos (Dolezal et al., 2019).

Hayes et al. (2018) mostraram uma cascata de impactos decorrentes da contaminação do cobre nos ecossistemas do solo e de mercúrio nas águas doces por meio do uso de cadeias lógicas, resultando na diminuição da provisão de importantes serviços ecossistêmicos, como a redução da disponibilidade de alimentos (e.g., pesca), do valor de amenidade, da produção agrícola e animal, da qualidade da água potável e purificação do solo, bem como regulação climática e de enchentes. Similarmente, Van den Brink et al. (2021) utilizaram modelos ecológicos aliados a cadeias lógicas para prever a perda de serviços ecossistêmicos após a exposição a um inseticida organofosforado utilizado em pomares de macieiras e identificaram impactos nos serviços ecossistêmicos de regulação da qualidade do solo, controle de pragas, polinização e recreação.

Os resultados obtidos na presente pesquisa alertam também para o fato de que corpos d'água inseridos em culturas de cana-de-açúcar e pastagens intensificadas podem ser potenciais fontes de emissões de gases de efeito estufa devido a uma combinação de altas concentrações de carbono e nitrogênio e baixas concentrações de oxigênio dissolvido, o que favorece a

decomposição, a metanogênese e a desnitrificação (Schiesari et al., 2023). Estes efeitos são observados com mais intensidade em corpos d'água próximos de culturas de cana-de-açúcar, considerando que já foi provado que a estabilidade ambiental é menor em ecossistemas aquáticos circundados por plantações de cana-de-açúcar em comparação com pastagens intensificadas e pastagens extensivas com base em dados físico-químicos, nutrientes, agrotóxicos, fitoplâncton e análise da comunidade (Schiesari et al., 2023).

A adoção de práticas de manejo mais sustentáveis tem se mostrado uma importante estratégia para manutenção da produtividade das culturas ao mesmo tempo em que promovem a conservação do solo, água e ar, a provisão de serviços ecossistêmicos, a resiliência e a qualidade de habitats para biodiversidade e a segurança alimentar (Chavarria et al., 2018; Pretty et al., 2006). Teixeira et al. (2021) demonstraram que o manejo agroecológico em áreas de pastagens e culturas de café resultaram em aumento da diversidade vegetal, melhoria da qualidade do solo e aumento da biomassa microbiana do solo. Além disso, estes autores observaram que a maior intensidade de capina e maior uso de agroquímicos nos sistemas de cafeicultura convencional não resultaram em aumento da qualidade do solo ou produtividade do café em comparação com o manejo agroecológico, evidenciando que os agroecossistemas são capazes de diminuir a dependência do uso de agroquímicos nas culturas e podem prover múltiplos serviços ecossistêmicos.

5 CONCLUSÕES

O cultivo intensivo do solo resulta em grandes perdas de solo, água, fertilizantes, corretivos, agrotóxicos e metais pesados, os quais podem se acumular no sedimento carreado, tendo como consequência a contaminação dos corpos d'água. Este estudo forneceu evidências de que o manejo do solo em PE, PI e C acarretam diferentes índices de risco ecológico. Verificou-se que o risco ecológico foi maior nos tratamentos C e PI, nessa ordem, em comparação com o tratamento PE. A contaminação por alumínio e pelo agrotóxico 2,4-D foram os principais responsáveis pelo aumento do risco nos tratamentos PI, enquanto a contaminação pelos metais alumínio, potássio, manganês e pelos agrotóxicos 2,4-D e fipronil foram os principais responsáveis pelo aumento do risco no tratamento C.

Destaca-se a importância de utilizar organismos e *enpoints* sensíveis na ARE, a fim de prever com maior acurácia os efeitos dos contaminantes. A construção de cadeias lógicas de efeitos comprovados demonstrou como o alumínio e os agrotóxicos 2,4-D e fipronil podem influenciar os serviços ecossistêmicos fornecidos por plantas não alvo e por invertebrados aquáticos. A adoção dessa abordagem demonstra que considerar apenas os efeitos diretos da contaminação da água e do solo por metais e agrotóxicos subestima consideravelmente os impactos totais desses poluentes. Essa abordagem é transferível e pode ser replicada para outros metais, agrotóxicos e contaminantes emergentes. A perda desses serviços ecossistêmicos pode afetar também o bem-estar humano, uma vez que todos os processos da natureza estão conectados.

REFERÊNCIAS

AIZEN, M. A.; AGUIAR, S.; BIESMEIJER, J. C.; GARIBALDI, L. A.; INOUE, D. W.; JUNG, C.; MARTINS, D. J.; MEDEL, R.; MORALES, C. L.; NGO, H.; PAUW, A.; PAXTON, R. J.; SÁEZ, A.; SEYMOUR, C. L. Global agricultural productivity is threatened by increasing pollinator dependence without a parallel increase in crop diversification. **Global Change Biology**, v. 25, n. 10, p. 3516–3527, 2019.

ALVES, A. C. F.; SAIKI, P. T. O.; DA SILVA BRITO, R.; SCALIZE, P. S.; ROCHA, T. L. How much are metals for next-generation clean technologies harmful to aquatic animal health? A study with cobalt and nickel effects in zebrafish (*Danio rerio*). **Journal of Hazardous Materials Advances**, v. 8, n. August, p. 100160, 2022. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.hazadv.2022.100160>>.

BJERREGAARD, P.; ANDERSEN, C. B. I.; ANDERSEN, O. Ecotoxicology of metals-sources, transport, and effects on the ecosystem. **Handbook on the Toxicology of Metals**, 2021.

BLANCO, H.; LAL, R. **Principles of soil conservation and management**. 1–617 p, 2010.

BRASIL. Ministério do Meio Ambiente. Resolução CONAMA nº 357, de 15 de junho 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**, 17 mar. n. 53, p. 58-63, 2005.

CAPRIELLO, T.; MONTEIRO, S. M.; FÉLIX, L. M.; DONIZETTI, A.; ALIPERTI, V.; FERRANDINO, I. Apoptosis, oxidative stress and genotoxicity in developing zebrafish after aluminium exposure. **Aquatic Toxicology**, v. 236, n. May, 2021.

CARDWELL, A. S.; ADAMS, W. J.; GENSEMER, R. W.; NORDHEIM, E.; SANTORE, R. C.; RYAN, A. C.; STUBBLEFIELD, W. A. Chronic toxicity of aluminum, at a pH of 6, to freshwater organisms: Empirical data for the development of international regulatory standards/criteria. **Environmental Toxicology and Chemistry**, v. 37, n. 1, p. 36–48, 2018.

CHAVARRIA, D. N.; PÉREZ-BRANDAN, C.; SERRI, D. L.; MERILES, J. M.; RESTOVICH, S. B.; ANDRIULO, A. E.; JACQUELIN, L.; VARGAS-GIL, S. Response of soil microbial communities to agroecological versus conventional systems of extensive agriculture. **Agriculture, Ecosystems and Environment**, v. 264, n. April, p. 1–8, 2018. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.agee.2018.05.008>>.

CHRISTOFOLETTI, C. A.; ESCHER, J. P.; CORREIA, J. E.; MARINHO, J. F. U.; FONTANETTI, C. S. Sugarcane vinasse: Environmental implications of its use. **Waste Management**, v. 33, n. 12, p. 2752–2761, 2013. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.wasman.2013.09.005>>.

DOLEZAL, A. G.; ST, A. L.; ZHANG, G.; TOTH, A. L.; NEAL, M. E. O. Native habitat mitigates feast – famine conditions faced by honey bees in an agricultural landscape. v. 116, n. 50, p. 25147–25155, 2019.

EL CHAMI, D.; DACCACHE, A.; EL MOUJABBER, M. What are the impacts of sugarcane production on ecosystem services and human well-being? A review. **Annals of Agricultural Sciences**, v. 65, n. 2, p. 188–199, 2020. Disponível em:

<<https://doi.org/10.1016/j.aoas.2020.10.001>>.

EUROPEAN FOOD SAFETY AUTHORITY - EFSA Panel on Plant Protection Products and their Residues (PPR). Scientific Opinion on the development of specific protection goal options for environmental risk assessment of pesticides, in particular in relation to the revision of the Guidance Documents on Aquatic and Terrestrial Ecotoxicology (SANCO/3268/2001 and SANCO/10329/2002). **EFSA Journal**, 8(10):1821. 2010. <https://doi.org/10.2903/j.efsa.2010.1821>.

EUROPEAN FOOD SAFETY AUTHORITY - EFSA Scientific Committee. Guidance to develop specific protection goals options for environmental risk assessment at EFSA, in relation to biodiversity and ecosystem services. **EFSA Journal**, 2016. <https://doi.org/10.2903/j.efsa.2016.4499>

FENG, L.; GAO, Z.; MA, H.; HE, S.; LIU, Y.; JIANG, J.; ZHAO, Q.; WEI, L. Carbonate-bound Pb percentage distribution in agricultural soil and its toxicity: Impact on plant growth, nutrient cycling, soil enzymes, and functional genes. **Journal of Hazardous Materials**, v. 451, n. February, p. 131205, 2023. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2023.131205>>.

FREITAS, I. B. F.; JOS, P.; FERNANDA, L.; LOPES, D. P.; GABRIEL, D. M.; PAULA, M.; YOSHII, C.; GIROTTO, L.; VER, G.; SORIGOTTO, L. R.; BRAGA, J.; CAROLINA, C.; CESAR, L.; ANT, L. Soil management effects of extensive pastures , intensive pastures and sugarcane crops on the availability of metals and nutrients in freshwater : A realistic mesocosm approach. **Agriculture, Ecosystems and Environment**, v. 350, n. February, 2023.

GENSEMER, R. W.; GONDEK, J. C.; RODRIQUEZ, P. H.; ARBILDUA, J. J.; STUBBLEFIELD, W. A.; CARDWELL, A. S.; SANTORE, R. C.; RYAN, A. C.; ADAMS, W. J.; NORDHEIM, E. Evaluating the effects of pH, hardness, and dissolved organic carbon on the toxicity of aluminum to freshwater aquatic organisms under circumneutral conditions. **Environmental Toxicology and Chemistry**, v. 37, n. 1, p. 49–60, 2018.

GNOCCHI, K. G.; BOLDRINI-FRANÇA, J.; PASSOS, L. S.; GOMES, A. S.; COPPO, G. C.;

PEREIRA, T. M.; CHIPPARI-GOMES, A. R. Multiple biomarkers response of *Astyanax lacustris* (Teleostei: Characidae) exposed to manganese and temperature increase. **Environmental Toxicology and Pharmacology**, v. 100, n. April, p. 104124, 2023. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.etap.2023.104124>>.

GRAB, H.; DANFORTH, B.; POVEDA, K.; LOEB, G. Landscape simplification reduces classical biological control and crop yield. **Ecological Applications**, v. 28, n. 2, p. 348–355, 2018.

HAYES, F.; SPURGEON, D. J.; LOFTS, S.; JONES, L. Evidence-based logic chains demonstrate multiple impacts of trace metals on ecosystem services. **Journal of Environmental Management**, v. 223, n. May, p. 150–164, 2018. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.jenvman.2018.05.053>>.

JENSEN, J.; MESMAN, M. Ecological Risk Assessment of Contaminated Land—Decision Support for Site Specific Investigations. 2006.

KREBS, J. R.; WILSON, J. D.; BRADBURY, R. B.; GAVIN, M. The second silent spring? n. 3, p. 1–8, 1999.

LOMARTIRE, S.; MARQUES, J. C.; GONÇALVES, A. M. M. The key role of zooplankton in ecosystem services: A perspective of interaction between zooplankton and fish recruitment. **Ecological Indicators**, v. 129, 2021.

MALTBY, L.; VAN DEN BRINK, P. J.; FABER, J. H.; MARSHALL, S. Advantages and challenges associated with implementing an ecosystem services approach to ecological risk assessment for chemicals. **Science of the Total Environment**, v. 621, p. 1342–1351, 2018. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2017.10.094>>.

MARCATO, A. C. de C.; SOUZA, C. P. de; FONTANETTI, C. S. Herbicide 2, 4-D : A Review of Toxicity on Non-Target Organisms. **Water Air Soil Pollut**, 2017.

MARINS, K.; LAZZAROTTO, L. M. V.; BOSCHETTI, G.; BERTONCELLO, K. T.; SACHETT, A.; SCHINDLER, M. S. Z.; CHITOLINA, R.; REGGINATO, A.; ZANATTA, A. P.; SIEBEL, A. M.; MAGRO, J. D.; ZANATTA, L. Iron and manganese present in underground water promote biochemical, genotoxic, and behavioral alterations in zebrafish (*Danio rerio*). **Environmental Science and Pollution Research**, v. 26, n. 23, p. 23555–23570, 2019.

MILLENNIUM ECOSYSTEM ASSESSMENT. Ecosystems and human well-being: Biodiversity synthesis. World Resources Institute, 100 p, 2005.

MONACO, A.; GRIMALDI, M. C.; FERRANDINO, I. Aluminium chloride-induced toxicity in zebrafish larvae. **Journal of Fish Diseases**, v. 40, n. 5, p. 629–635, 2017.

NIENSTEDT, K. M.; BROCK, T. C. M.; VAN WENSEM, J.; MONTFORTS, M.; HART, A.; AAGAARD, A.; ALIX, A.; BOESTEN, J.; BOPP, S. K.; BROWN, C.; CAPRI, E.; FORBES, V.; KÖPP, H.; LIESS, M.; LUTTIK, R.; MALTBY, L.; SOUSA, J. P.; STREISSL, F.; HARDY, A. R. Development of a framework based on an ecosystem services approach for deriving specific protection goals for environmental risk assessment of pesticides. **Science of the Total Environment**, v. 415, p. 31–38, 2012. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.scitotenv.2011.05.057>>.

OGURA, A. P.; PINTO, T. J. da S.; DA SILVA, L. C. M.; SELLA, C. F.; FERREIRA, F. B. de C.; DE CARVALHO, P. S.; DE MENEZES-OLIVEIRA, V. B.; MONTAGNER, C. C.; OSÓRIO, A. de L.; ESPÍNDOLA, E. L. G. Environmental analysis of the eutrophication and spread of aquatic macrophytes in a tropical reservoir: a case study in Brazil. **Environmental Science and Pollution Research**, v. 29, n. 59, p. 89426–89437, 2022. Disponível em: <<https://doi.org/10.1007/s11356-022-22070-4>>.

OLIVEIRA, D. M. S.; CHERUBIN, M. R.; FRANCO, A. L. C.; SANTOS, A. S.; GELAIN, J. G.; DIAS, N. M. S.; DINIZ, T. R.; ALMEIDA, A. N.; FEIGL, B. J.; DAVIES, C. A.; PAUSTIAN, K.; KARLEN, D. L.; SMITH, P.; CERRI, C. C.; CERRI, C. E. P. Is the expansion of sugarcane over pasturelands a sustainable strategy for Brazil's bioenergy industry?

Renewable and Sustainable Energy Reviews, v. 102, n. December 2018, p. 346–355, 2019.

Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.rser.2018.12.012>>.

PINTO, T. J. da S.; FREITAS, J. S.; MOREIRA, R. A.; SILVA, L. C. M. da; YOSHII, M. P. C.; LOPES, L. F. de P.; GOULART, B. V.; VANDERLEI, M. R.; ATHAYDE, D. B.; FRAGA, P. D.; OGURA, A. P.; SCHIESARI, L.; MONTAGNER, C. C.; DAAM, M. A.; ESPINDOLA, E. L. G. Functional responses of *Hyalella meinerti* after exposure to environmentally realistic concentrations of 2,4-D, fipronil, and vinasse (individually and in mixture). **Aquatic Toxicology**, v. 231, n. April 2020, 2021.

PRETTY, J. N.; NOBLE, A. D.; BOSSIO, D.; DIXON, J.; HINE, R. E.; DE VRIES, F. W. T. P.; MORISON, J. I. L. Resource-conserving agriculture increases yields in developing countries. **Environmental Science and Technology**, v. 40, n. 4, p. 1114–1119, 2006.

SCHÄFER, R. B.; BUNDSCHUH, M.; ROUCH, D. A.; SZÖCS, E.; VON DER OHE, P. C.; PETTIGROVE, V.; SCHULZ, R.; NUGEGODA, D.; KEFFORD, B. J. Effects of pesticide toxicity, salinity and other environmental variables on selected ecosystem functions in streams and the relevance for ecosystem services. **Science of the Total Environment**, v. 415, p. 69–78, 2012. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.scitotenv.2011.05.063>>.

SCHIESARI, L.; SAITO, V. S.; FERREIRA, J.; FREITAS, L. S.; GOEBBELS, A. J.; LEITE, J. P. C. B.; OLIVEIRA, J. C.; PELINSON, R. M.; QUERIDO, B. B.; CARMO, J.; ESPÍNDOLA, E. L. G.; GUEDES-MUNIN, N. C.; MONTAGNER, C.; ROSSETTO, R.; TANIWAKI, R.; MARTINELLI, L. A. Community reorganization stabilizes freshwater ecosystems in intensively managed agricultural fields. **Journal of Applied Ecology**, v. 60, p. 1327-1339, 2023. Disponível em: <https://doi.org/10.1111/1365-2664.14423>

SHUGALEI, I. V.; GARABADZHIU, A. V.; ILYUSHIN, M. A.; SUDARIKOV, A. M. Some aspects of the effect of aluminum and its compounds on living organisms. **Russian Journal of General Chemistry**, v. 83, n. 13, p. 2633–2646, 2013.

SILVA, L. C. M.; MOREIRA, R. A.; PINTO, T. J. S.; VANDERLEI, M. R.; ATHAYDE, D. B.;

LOPES, L. F. P.; OGURA, A. P.; YOSHII, M. P. C.; FREITAS, J. S.; MONTAGNER, C. C.; GOULART, B. V.; SCHIESARI, L.; DAAM, M. A.; ESPÍNDOLA, E. L. G. Lethal and sublethal toxicity of pesticides and vinasse used in sugarcane cultivation to *Ceriodaphnia silvestrii* (Crustacea: Cladocera). **Aquatic Toxicology**, v. 241, n. June, 2021.

SOTO-JIMENEZ, M. F.; PAEZ-OSUNA, F.; BOJORQUEZ-LEYVA, H. Nutrient cycling at the sediment-water interface and in sediments at Chiricahueto marsh: A subtropical ecosystem associated with agricultural land uses. **Water Research**, v. 37, n. 4, p. 719–728, 2003.

SUAREZ, A.; GWOZDZ, W. On the relation between monocultures and ecosystem services in the Global South : A review. **Biological Conservation**, v. 278, n. November 2022, p. 109870, 2023. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.biocon.2022.109870>>.

TEIXEIRA, H. M.; BIANCHI, F. J. J. A.; CARDOSO, I. M.; TITTONELL, P.; PEÑA-CLAROS, M. Impact of agroecological management on plant diversity and soil-based ecosystem services in pasture and coffee systems in the Atlantic forest of Brazil. **Agriculture, Ecosystems and Environment**, v. 305, n. August 2020, 2021.

UNITED STATES ENVIRONMENTAL PROTECTION AGENCY (EPA). Aquatic Life Ambient Water Quality Criteria for Aluminum in Freshwater. Federal Register, v. 83, N° 245, 2018.

VAN DEN BRINK, P. J.; ALIX, A.; THORBEEK, P.; BAVECO, H.; AGATZ, A.; FABER, J. H.; BROWN, A. R.; MARSHALL, S.; MALTBY, L. The use of ecological models to assess the effects of a plant protection product on ecosystem services provided by an orchard. **Science of the Total Environment**, v. 798, p. 149329, 2021. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2021.149329>>.

ZHANG, W.; RICKETTS, T. H.; KREMEN, C.; CARNEY, K.; SWINTON, S. M. Ecosystem services and dis-services to agriculture. **Ecological Economics**, v. 64, n. 2, p. 253–260, 2007.

CAPÍTULO 5

Considerações finais e sugestões para trabalhos futuros

1 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Os impactos negativos da agricultura desenvolvida sem práticas conservacionistas têm sido relatados ao longo dos anos (FOLEY et al., 2005; GÜCKER; BOËCHAT; GIANI, 2009; SIQUEIRA; LACERDA; SAITO, 2015), mas apenas recentemente mais esforços foram direcionados para a compreensão de processos específicos, como a conversão de pastagens em tipos mais intensivos de agricultura (BENTO et al., 2021b; FILOSO et al., 2015; TANIWAKI et al., 2017). Apesar desses avanços, os resultados apresentados nesta pesquisa demonstraram que os impactos de várias etapas de manejo da terra em pastagens intensivas e culturas de cana-de-açúcar sobre a qualidade da água, os efeitos ecotoxicológicos e o risco ecológico ainda não são totalmente compreendidos e são mais complexos do que os relatados anteriormente na literatura.

Os resultados discutidos aqui indicaram que:

- A intensificação das pastagens e o cultivo da cana-de-açúcar resultaram na deterioração da qualidade da água, com redução do pH e do OD ao longo do tempo nos tratamentos PI e C, bem como aumento das concentrações de fósforo total, nitrogênio total, alumínio, potássio, manganês;
- As amostras de água e sedimento dos mesocosmos causaram efeitos sobre as espécies testadas, portanto foram afetadas pelo tipo de manejo do solo referente a cada tratamento. No entanto, nem sempre os tratamentos com maior manejo foram aqueles que implicaram em maior efeito, o que demonstra a complexidade dos sistemas e a dificuldade em se quantificar de forma mais efetiva os reais efeitos das atividades antropogênicas, como ocorrido nesta pesquisa;
- O risco ecológico decorrente do manejo do solo nas áreas experimentais aumentou nos tratamentos C e PI, relacionados principalmente à linha de evidência química. O risco no tratamento PI variou de moderado a muito alto, e o aumento do risco esteve associado aos metais alumínio, cádmio, cobre, manganês. No tratamento C, o risco variou de baixo a

muito alto e o seu aumento esteve relacionado com o aumento das concentrações de 2,4-D, alumínio e manganês.

- A construção de cadeias lógicas de efeitos comprovados demonstrou que a exposição ao alumínio e aos agrotóxicos 2,4-D e fipronil podem resultar na perda de serviços ecossistêmicos fornecidos por plantas não alvo e por invertebrados aquáticos, resultando na perda de biodiversidade;

Os efeitos observados nas condições avaliadas nesta pesquisa podem ser ainda mais intensos, considerando os efeitos cumulativos dos ciclos repetidos da cana-de-açúcar na mesma área e o uso de maquinário pesado. A agricultura de precisão precisa ser amplamente distribuída no campo para que o aumento da produção e as mudanças no uso da terra sejam conduzidos com maior eficiência e sustentabilidade dos recursos econômicos e ambientais, minimizando assim a erosão e a degradação do solo, a poluição da água doce e a perda de serviços essenciais do ecossistema. Além disso, se faz necessário o desenvolvimento e ampliação de sistemas de agricultura mais sustentáveis, como os sistemas agroflorestais (SAFs), que promovem o consórcio entre culturas de importância agrônômica e as plantas da floresta, bem como a recuperação vegetal e do solo.

Entretanto, a aplicação de práticas agrícolas mais sustentáveis dependerá de informações científicas sobre as causas e os efeitos dos impactos ambientais da produção de cana-de-açúcar, como as discutidos neste estudo. Além disso, é essencial que as informações teóricas sejam apropriadas pelo governo e pelos produtores de cana-de-açúcar para que os ganhos da produção de cana-de-açúcar superem seus custos.

2 SUGESTÕES PARA TRABALHOS FUTUROS

Considerando trabalhos futuros, sugere-se a abordagem dos seguintes tópicos.

- Selecionar uma área de referência com base em critérios mais representativos de um ecossistema não impactado, como sistemas agroflorestais, pois este fator influencia diretamente na avaliação do risco;
- Considerar a contaminação das águas subterrâneas, especialmente o acúmulo de metais e agrotóxicos nestes ambientes;

- Desenvolver experimentos *in situ* em mesocosmos para utilização na Avaliação de Risco Ecológico, obtendo, assim, resultados mais realistas;
- Avaliar o uso de *endpoints* mais sensíveis na Avaliação de Risco Ecológico, como os avaliados a nível molecular, uma vez que estes efeitos são observados antes mesmo de efeitos agudos e crônicos serem detectados.

REFERÊNCIAS

BENTO, C. B.; BRANDANI, C. B.; FILOSO, S.; MARTINELLI, L. A.; CARMO, J. B. do. Effects of extensive-to-intensive pasture conversion on soil nitrogen availability and CO₂ and N₂O fluxes in a Brazilian oxisol. **Agriculture, Ecosystems and Environment**, v. 321, n. March, p. 107633, 2021. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.agee.2021.107633>>.

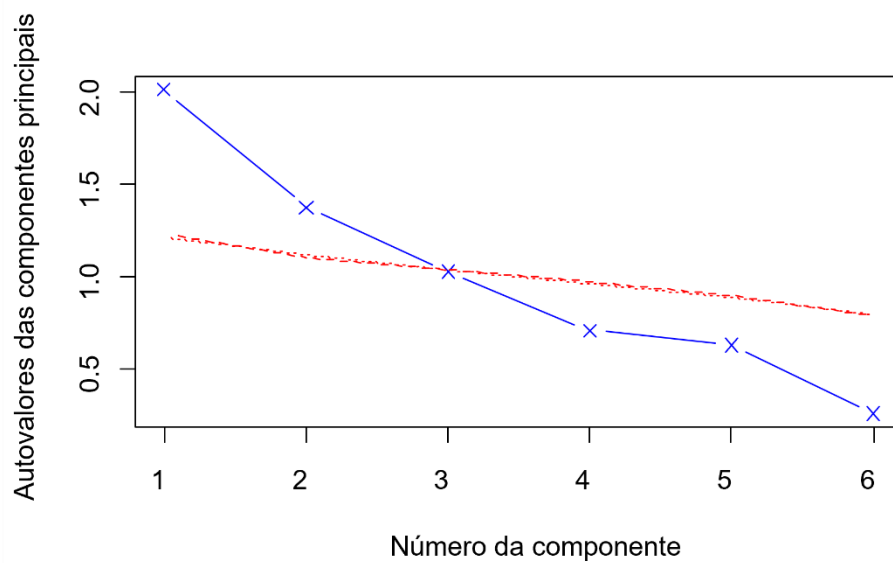
FILOSO, S.; DO CARMO, J. B.; MARDEGAN, S. F.; LINS, S. R. M.; GOMES, T. F.; MARTINELLI, L. A. Reassessing the environmental impacts of sugarcane ethanol production in Brazil to help meet sustainability goals. **Renewable and Sustainable Energy Reviews**, v. 52, p. 1847–1856, 2015.

FOLEY, J. A.; DEFRIES, R.; ASNER, G. P.; BARFORD, C.; BONAN, G.; CARPENTER, S. R.; CHAPIN, F. S.; COE, M. T.; DAILY, G. C.; GIBBS, H. K.; HELKOWSKI, J. H.; HOLLOWAY, T.; HOWARD, E. A.; KUCHARIK, C. J.; MONFREDA, C.; PATZ, J. A.; PRENTICE, I. C.; RAMANKUTTY, N.; SNYDER, P. K. Global consequences of land use. n. July, p. 1–5, 2005. Disponível em: <papers2://publication/uuid/3A51D126-7B17-4AC8-BB51-64A1D4C120BE>.

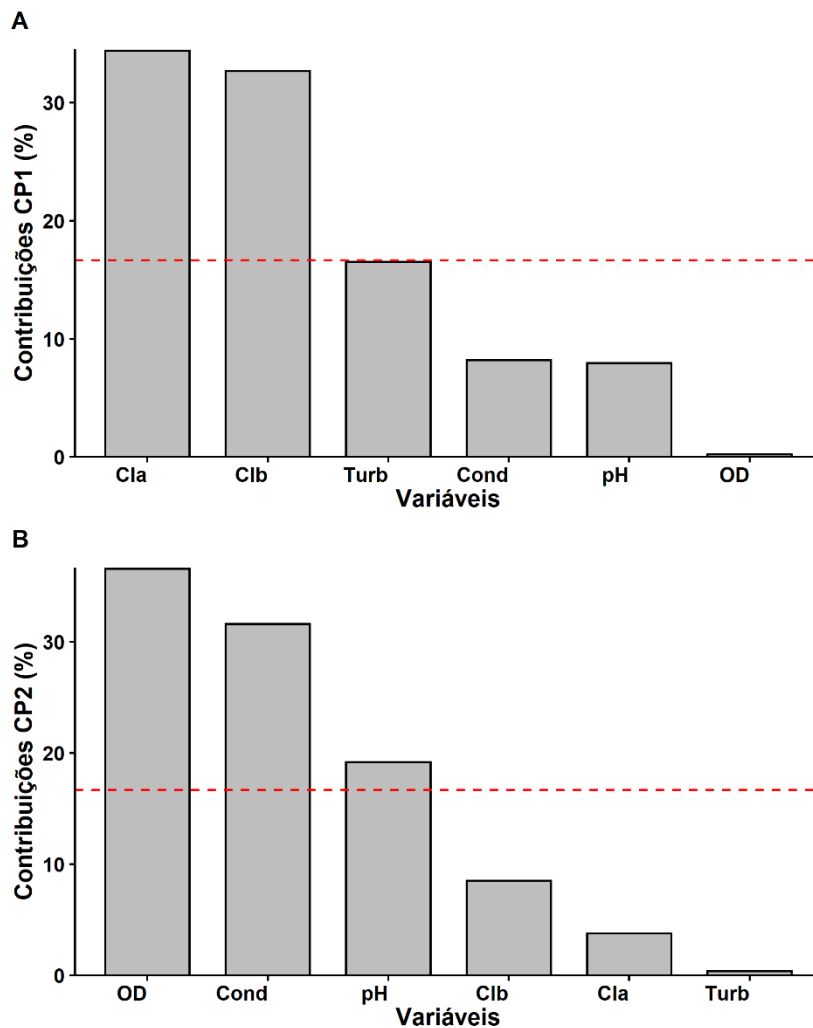
GÜCKER, B.; BOËCHAT, I. G.; GIANI, A. Impacts of agricultural land use on ecosystem structure and whole-stream metabolism of tropical Cerrado streams. **Freshwater Biology**, v. 54, n. 10, p. 2069–2085, 2009.

SIQUEIRA, T.; LACERDA, C. G. T.; SAITO, V. S. How Does Landscape Modification Induce Biological Homogenization in Tropical Stream Metacommunities ? v. 47, n. 4, p. 509–516, 2015.

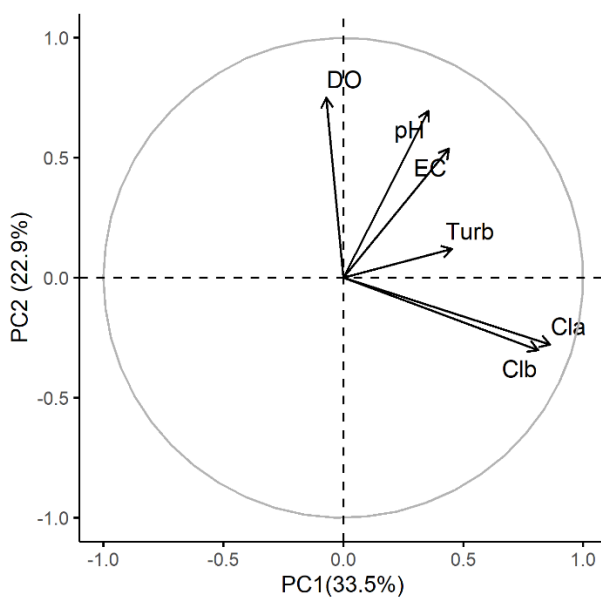
TANIWAKI, R. H.; CASSIANO, C. C.; FILOSO, S.; FERRAZ, S. F. de B.; CAMARGO, P. B. de; MARTINELLI, L. A. Impacts of converting low-intensity pastureland to high-intensity bioenergy cropland on the water quality of tropical streams in Brazil. **Science of the Total Environment**, v. 584–585, p. 339–347, 2017.

APÊNDICE A - Material suplementar do Capítulo 2

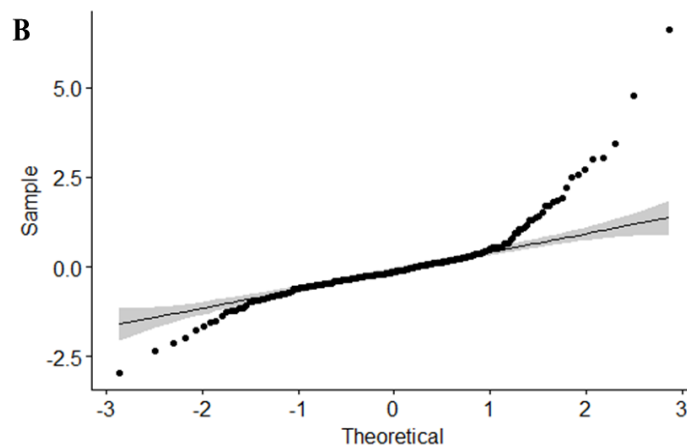
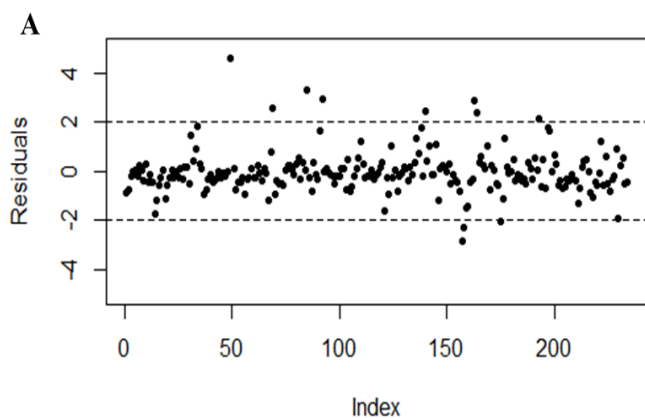
Apêndice A1 - Análise *Parallel* da análise de componentes principais (PCA) dos parâmetros *in-situ* nos mesocosmos durante o experimento. As CPs retidas (1 e 2) estão localizadas acima da linha vermelha.



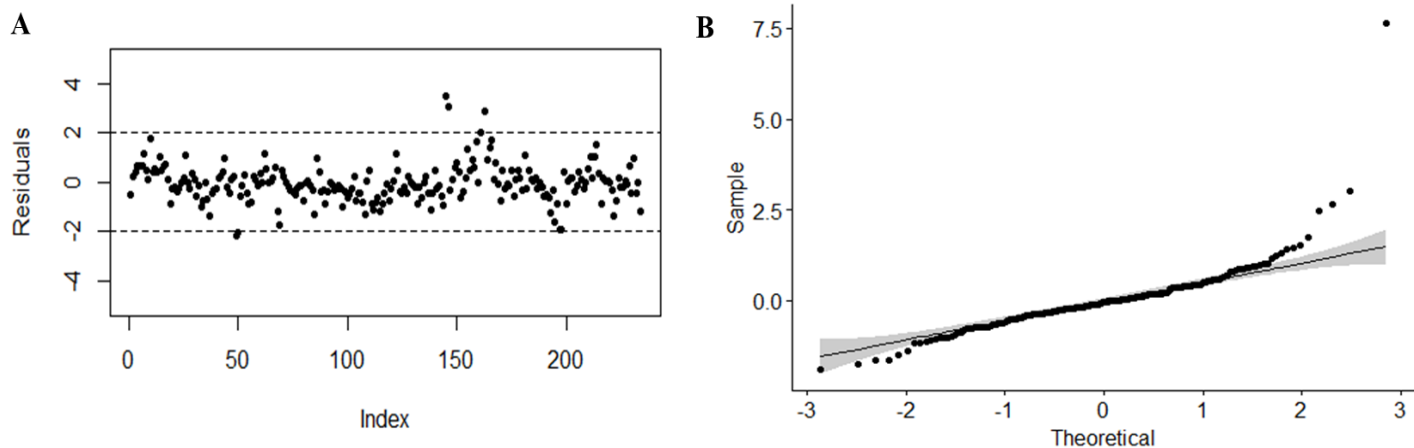
Apêndice A2 - Contribuições das variáveis (%) para: **A)** CP1; e **B)** CP2. As variáveis analisadas foram potencial hidrogeniônico (pH), oxigênio dissolvido (OD), condutividade elétrica (Cond), turbidez (Turb), clorofila a (Cla) e clorofila b (Clb). A linha vermelha de referência corresponde ao valor esperado se a contribuição fosse uniforme.



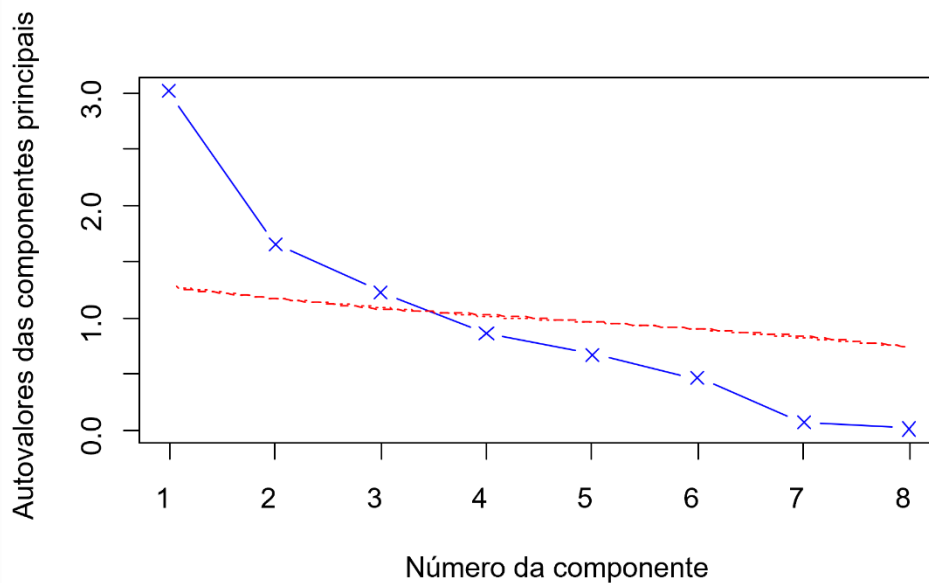
Apêndice A3 - Representação e direção das variáveis para os parâmetros *in-situ*, considerando CP1 versus CP2. As variáveis analisadas foram potencial hidrogeniônico (pH), oxigênio dissolvido (OD), condutividade elétrica (Cond), turbidez (Turb), clorofila a (Cla) e clorofila b (Clb). As setas representam a magnitude e a direção da contribuição de cada variável.



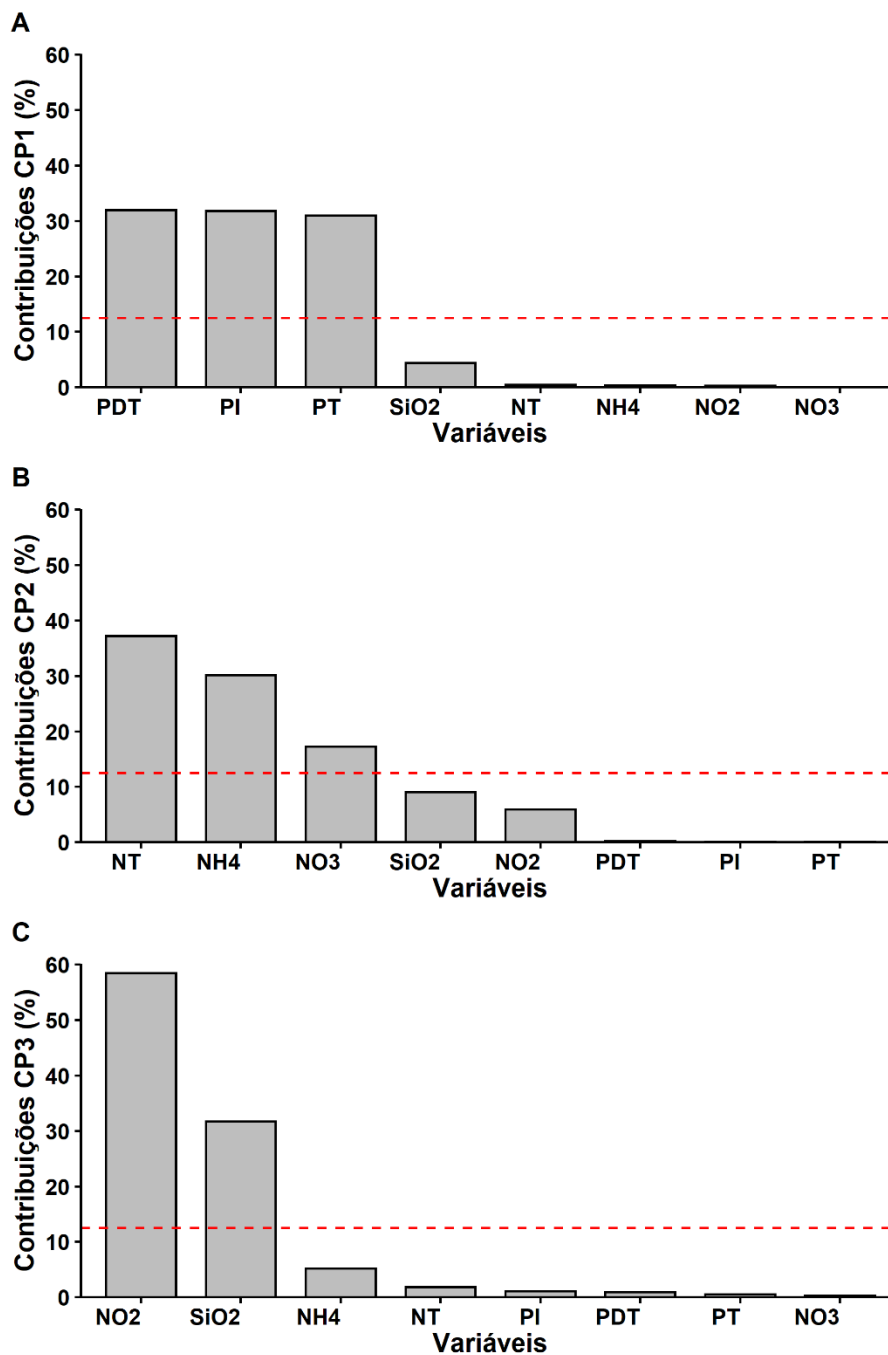
Apêndice A4 - Representação dos resíduos gerados pelo Modelo Misto Linear (LMM) usando a CP1 dos parâmetros *in-situ* como variável resposta. **A**) Representação da probabilidade normal de resíduos; **B**) Gráfico de resíduos *versus* valores ajustados.



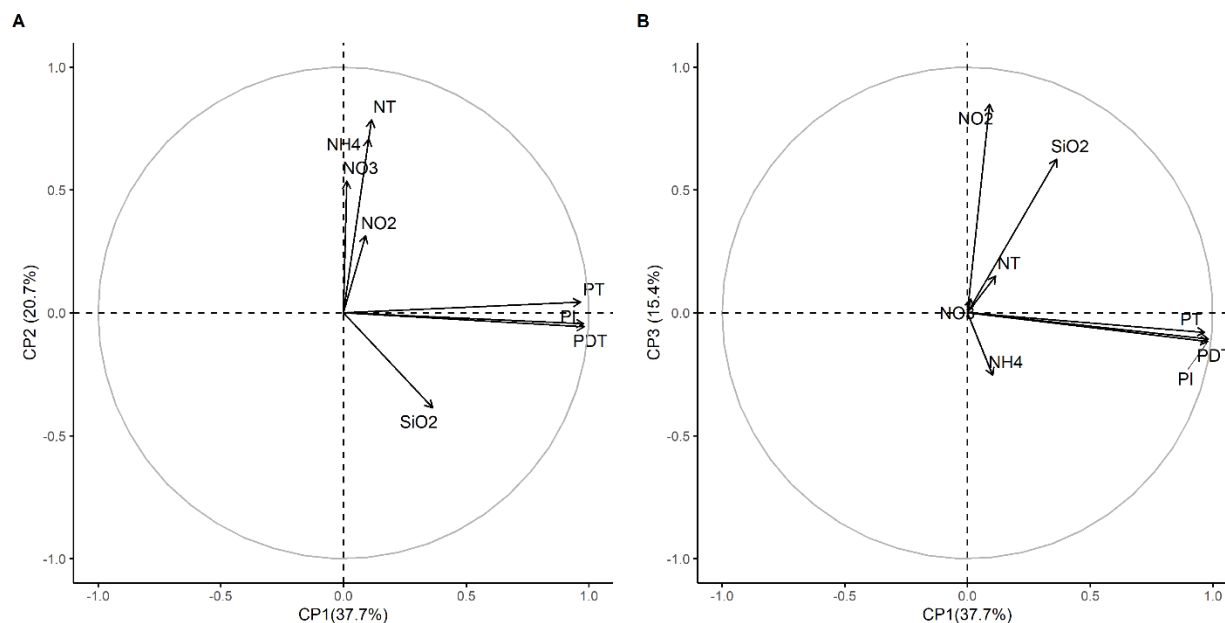
Apêndice A5 - Representação dos resíduos gerados pelo Modelo Misto Linear (LMM) usando a CP2 dos parâmetros *in-situ* como variável resposta. A) Representação da probabilidade normal de resíduos; B) Gráfico de resíduos *versus* valores ajustados.



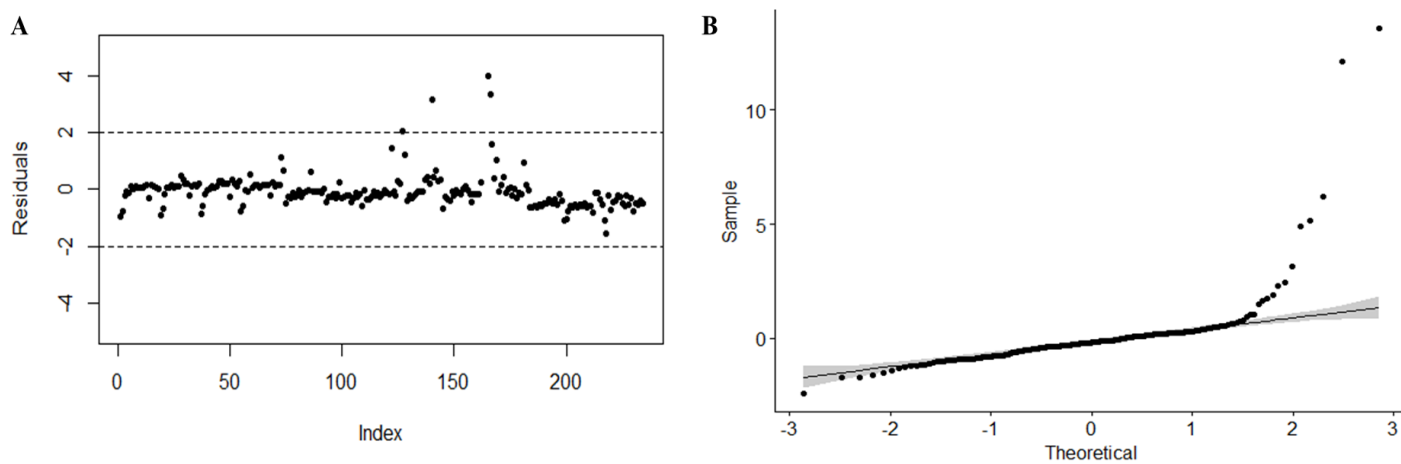
Apêndice A6 - Análise *Parallel* da análise de componentes principais (PCA) dos nutrientes nos mesocosmos durante o experimento. As CPs retidas (1, 2 e 3) estão localizadas acima da linha vermelha.



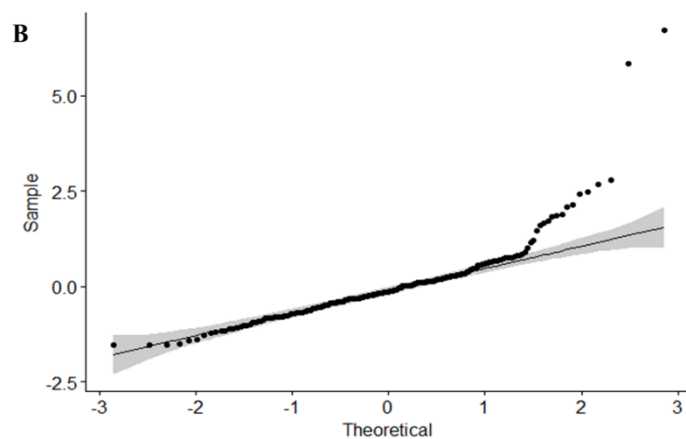
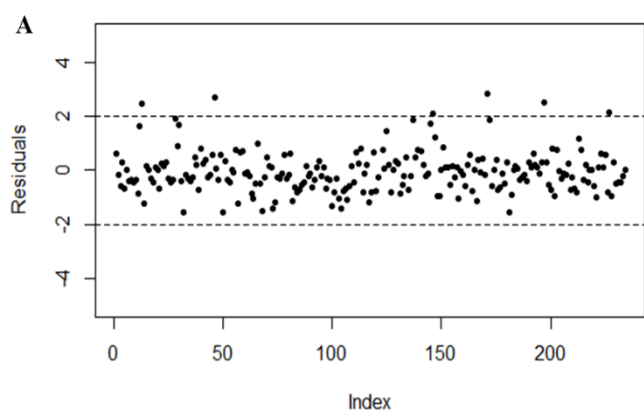
Apêndice A7 - Contribuições das variáveis (%) para: **A)** CP1; **B)** CP2; e **C)** CP3. As variáveis analisadas foram: fósforo total (PT); fósforo total dissolvido (PTD); fósforo inorgânico total (PI); nitrogênio total (NT); íon amônio (NH₄⁺); nitrito (NO₂⁻); nitrato (NO₃⁻); e silicato (SiO₂).



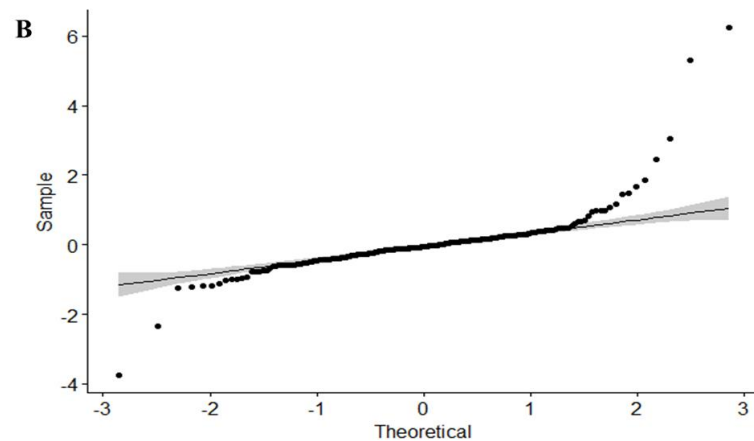
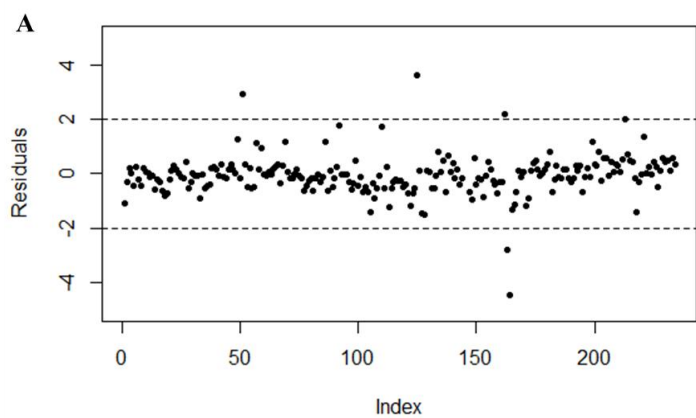
Apêndice A8 - Representação e direção das variáveis para os nutrientes, considerando A) CP1 *versus* CP2 e B) CP1 *versus* CP3. As variáveis analisadas foram: fósforo total (PT); fósforo total dissolvido (PTD); fósforo inorgânico total (PI); nitrogênio total (NT); íon amônio (NH_4^+); nitrito (NO_2^-); nitrato (NO_3^-); e silicato (SiO_2). As setas representam a magnitude e a direção da contribuição de cada variável.



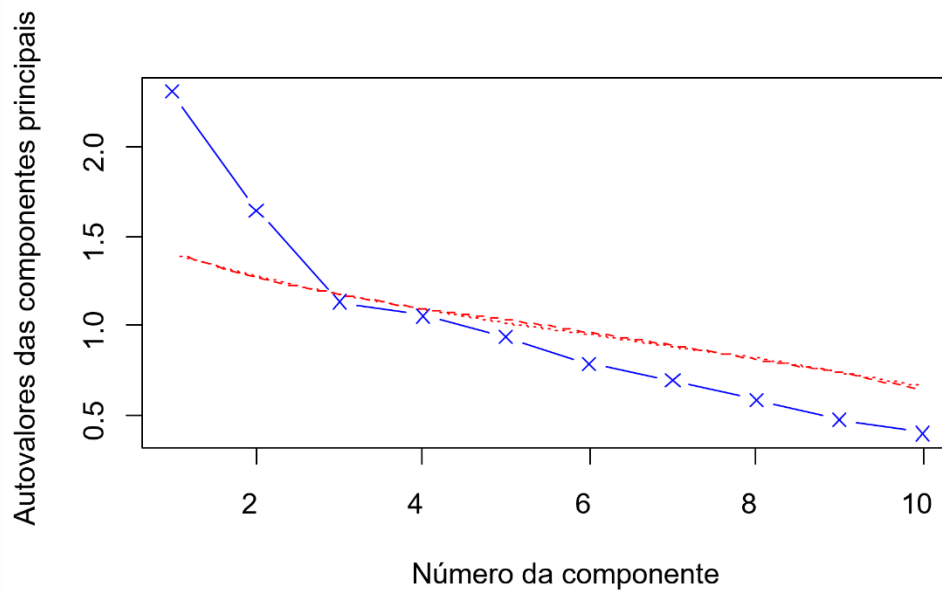
Apêndice A9 - Representação dos resíduos gerados pelo Modelo Misto Linear (LMM) usando a CP1 dos nutrientes como variável resposta. A) Representação da probabilidade normal de resíduos; B) Gráfico de resíduos *versus* valores ajustados.



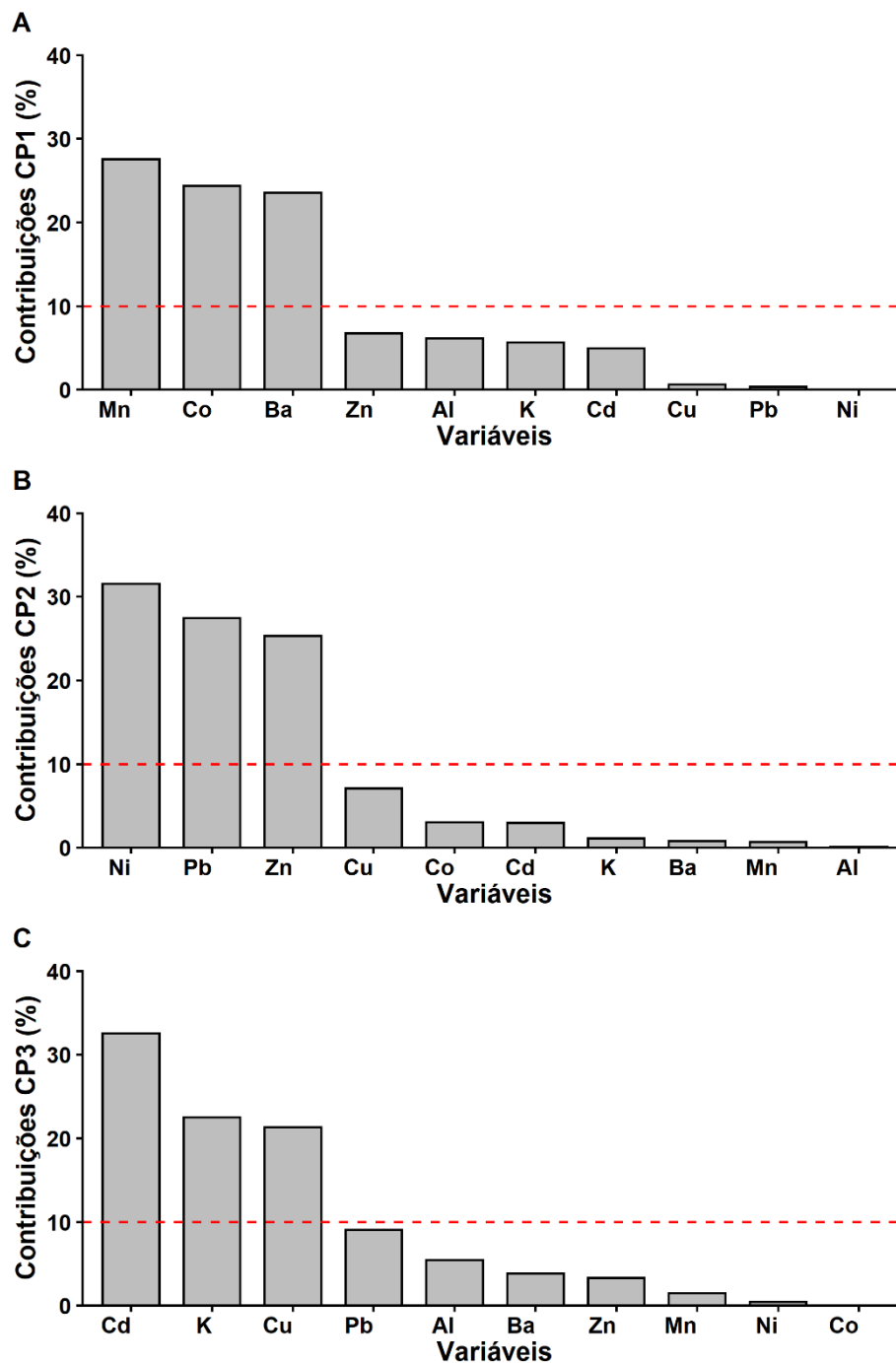
Apêndice A10 - Representação dos resíduos gerados pelo Modelo Misto Linear (LMM) usando a CP2 dos nutrientes como variável resposta. A) Representação da probabilidade normal de resíduos; B) Gráfico de resíduos *versus* valores ajustados.



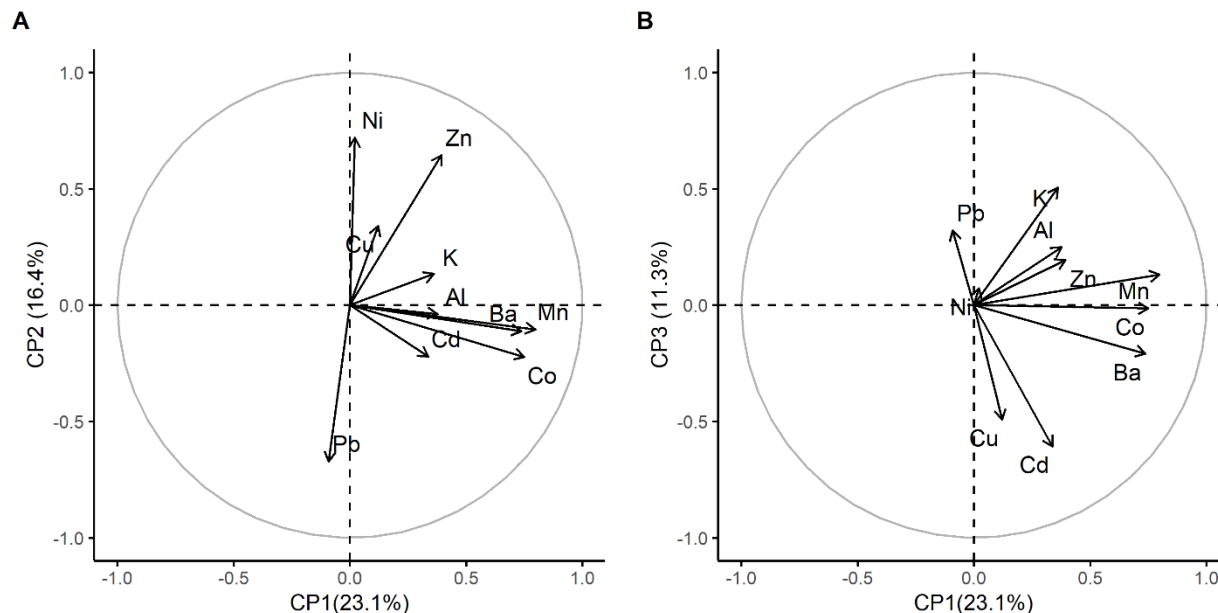
Apêndice A11 - Representação dos resíduos gerados pelo Modelo Misto Linear (LMM) usando a CP3 dos nutrientes como variável resposta. A) Representação da probabilidade normal de resíduos; B) Gráfico de resíduos *versus* valores ajustados.



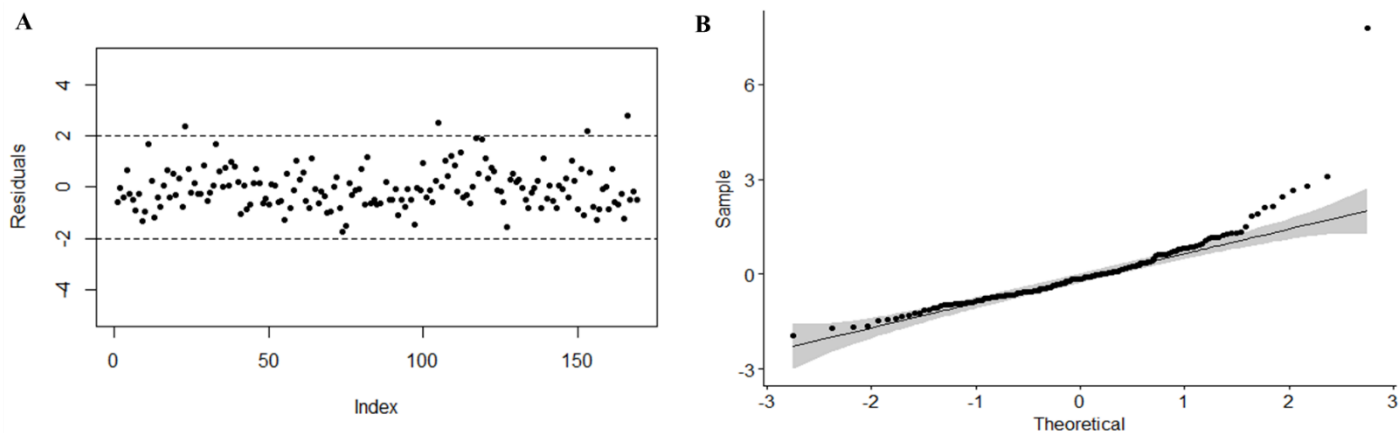
Apêndice A12 - Análise *Parallel* da análise de componentes principais (PCA) dos nutrientes nos mesocosmos durante o experimento. As CPs retidas (1, 2 e 3) estão localizadas acima da linha vermelha.



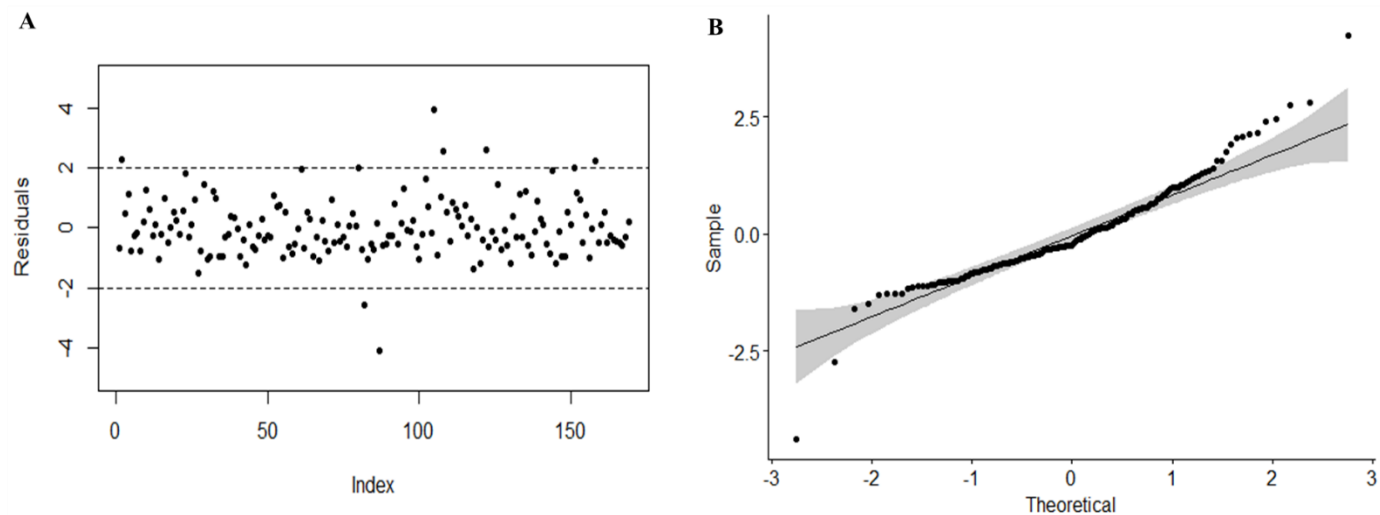
Apêndice A13 - Contribuições das variáveis (%) para: A) CP1; B) CP2; e C) CP3. As variáveis analisadas foram: alumínio (Al); manganês (Mn); chumbo (Pb); níquel (Ni); potássio (K); cobre (Cu); zinco (Zn); cádmio (Cd); cobalto (Co); e bário (Ba).



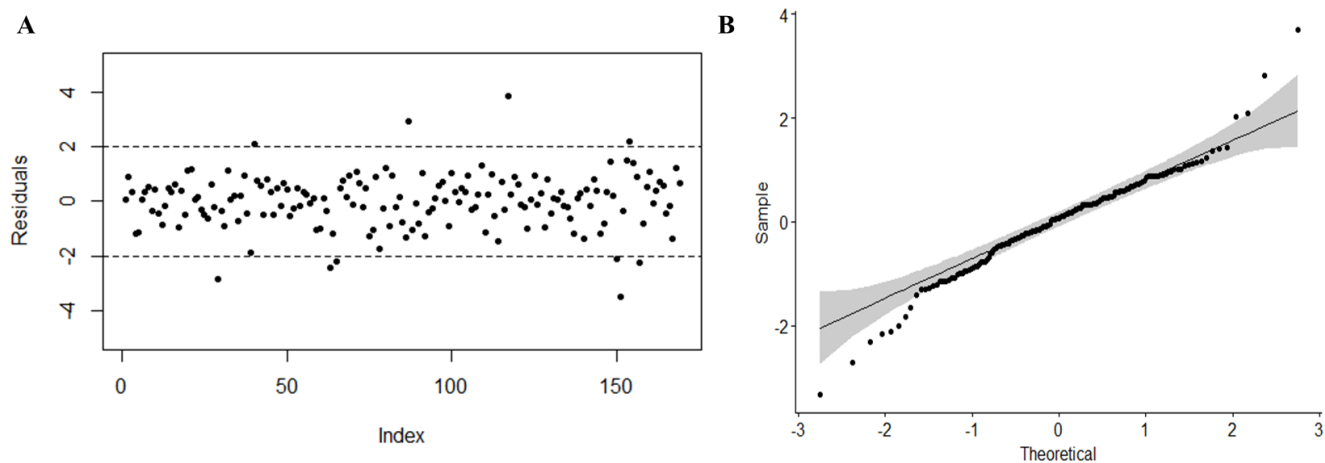
Apêndice A14 - Representação e direção das variáveis para os metais, considerando A) CP1 *versus* CP2 e B) CP1 *versus* CP3. As variáveis analisadas foram: alumínio (Al); manganês (Mn); chumbo (Pb); níquel (Ni); potássio (K); cobre (Cu); zinco (Zn); cádmio (Cd); cobalto (Co); e bário (Ba). As setas representam a magnitude e a direção da contribuição de cada variável.



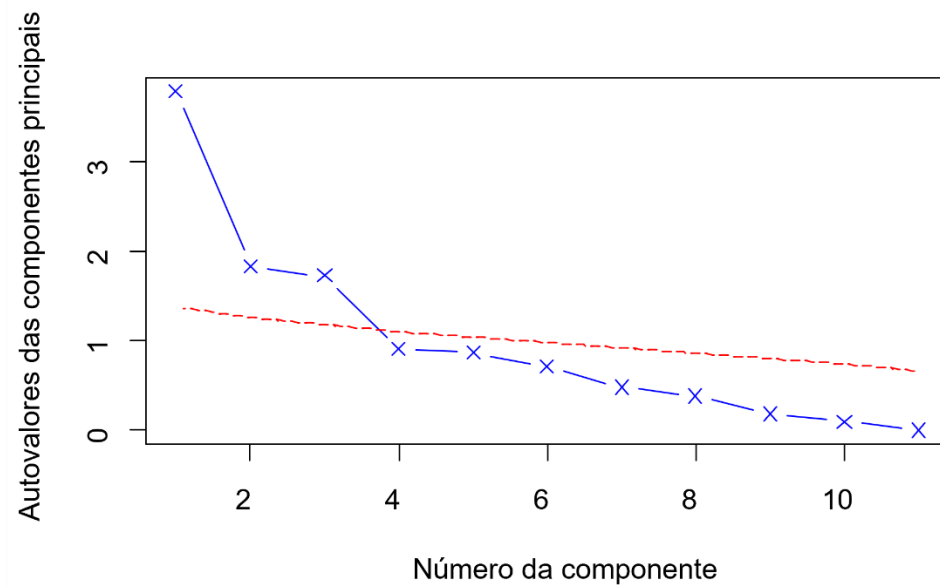
Apêndice A15 - Representação dos resíduos gerados pelo Modelo Misto Linear (LMM) usando a CP1 dos metais como variável resposta. A) Representação da probabilidade normal de resíduos; B) Gráfico de resíduos *versus* valores ajustados.



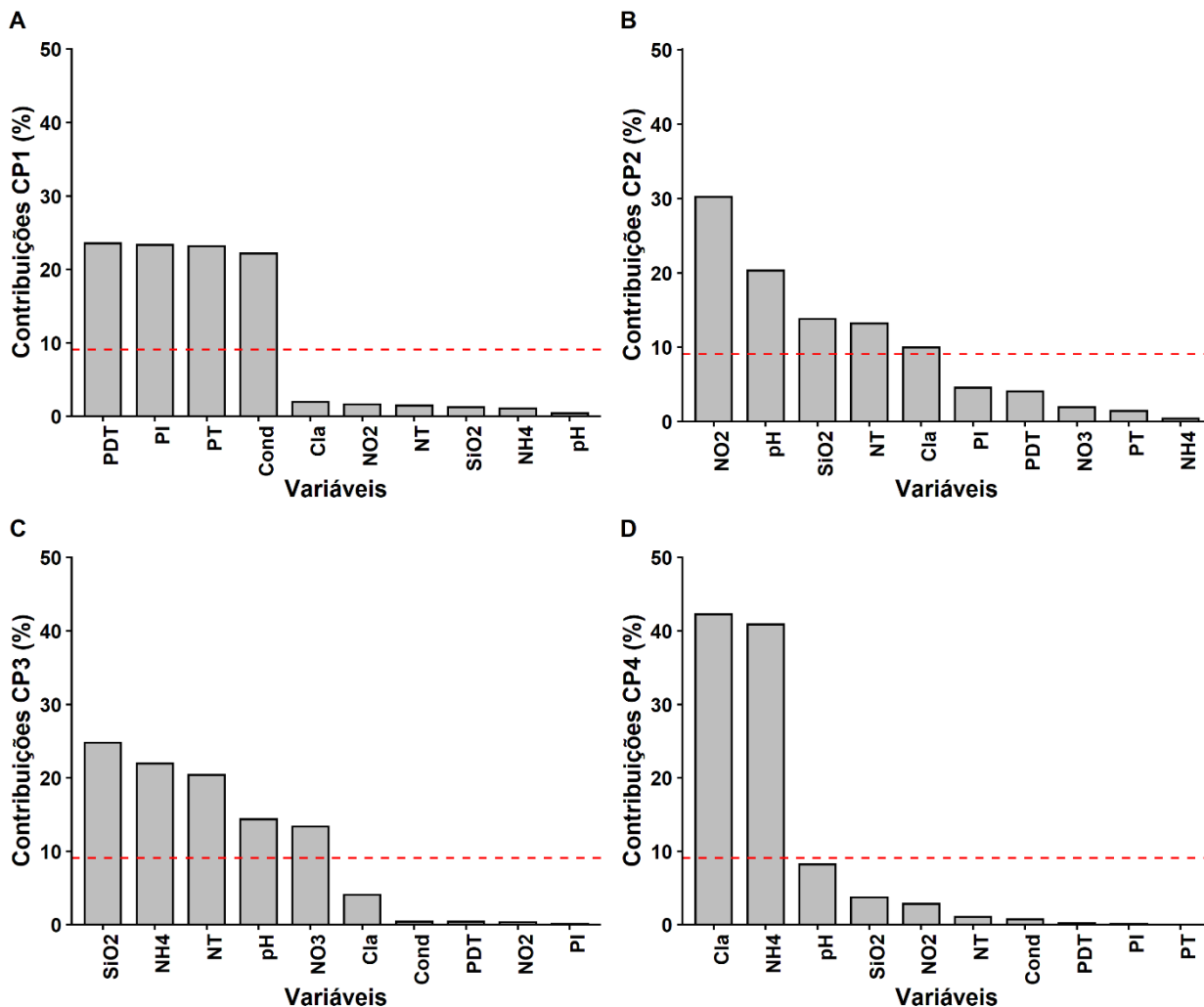
Apêndice A16 - Representação dos resíduos gerados pelo Modelo Misto Linear (LMM) usando a CP2 dos metais como variável resposta. **A)** Representação da probabilidade normal de resíduos; **B)** Gráfico de resíduos *versus* valores ajustados.



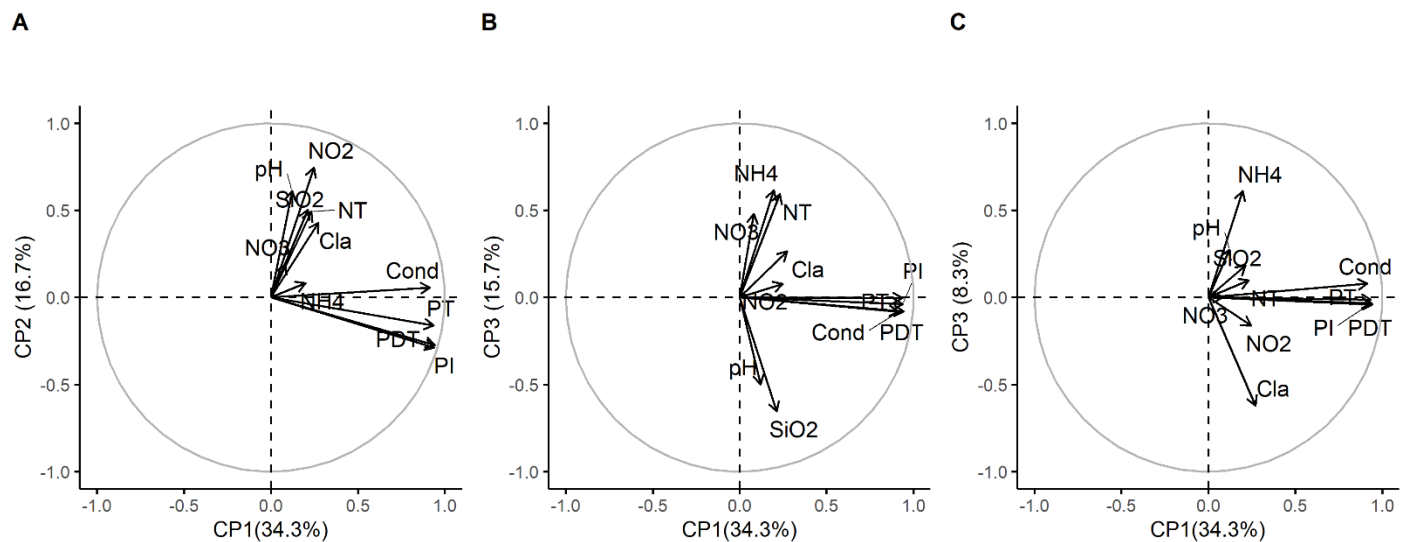
Apêndice A17 - Representação dos resíduos gerados pelo Modelo Misto Linear (LMM) usando a CP3 dos metais como variável resposta. **A)** Representação da probabilidade normal de resíduos; **B)** Gráfico de resíduos *versus* valores ajustados.

APÊNDICE B - Material suplementar do capítulo 3

Apêndice B1 - Análise *Parallel* da análise de componentes principais (PCA) dos parâmetros utilizados nos modelos lineares generalizados mistos (GLMM). As CPs retidas (1,2 e 3) estão localizadas acima da linha vermelha.



Apêndice B2 - Contribuições das variáveis (%) para: A) CP1; B) CP2; C) CP3; e D) CP4. As variáveis analisadas foram potencial hidrogeniônico (pH), oxigênio dissolvido (OD), condutividade elétrica (Cond), turbidez (Turb), clorofila a (Cla); fósforo total (PT); fósforo total dissolvido (PTD); fósforo inorgânico total (PI); nitrogênio total (NT); íon amônio (NH_4^+); nitrito (NO_2^-); nitrato (NO_3^-); e silicato (SiO_2). A linha vermelha de referência corresponde ao valor esperado se a contribuição fosse uniforme.



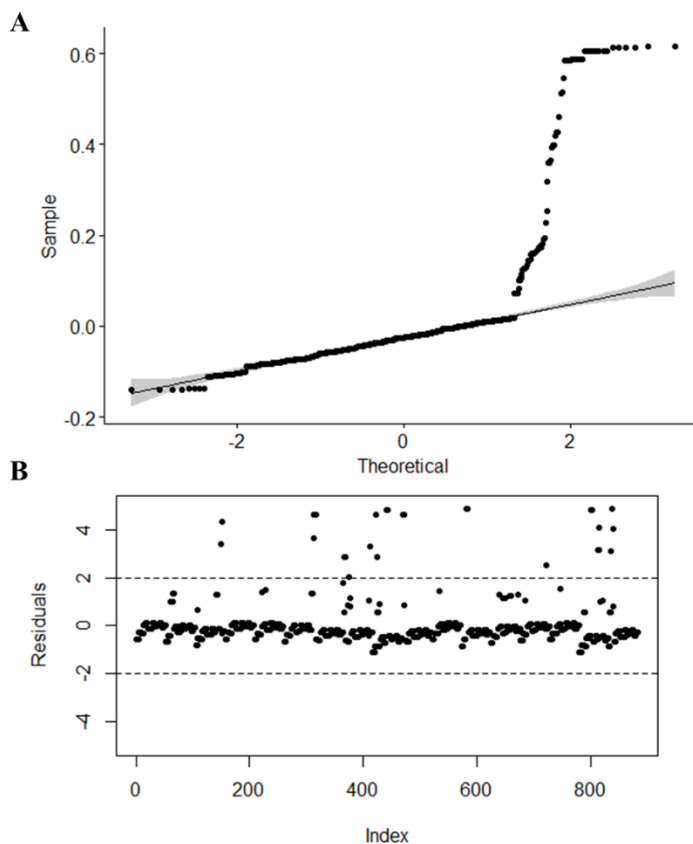
Apêndice B3 - Representação e direção das variáveis, considerando A) CP1 versus CP2 e B) CP1 versus CP3; C) CP1 versus CP4. As variáveis analisadas foram potencial hidrogeniônico (pH), oxigênio dissolvido (OD), condutividade elétrica (Cond), turbidez (Turb), clorofila a (Cla); fósforo total (PT); fósforo total dissolvido (PTD); fósforo inorgânico total (PI); nitrogênio total (NT); íon amônio (NH₄⁺); nitrito (NO₂⁻); nitrato (NO₃⁻); e silicato (SiO₂). A linha vermelha de referência corresponde ao valor esperado se a contribuição fosse uniforme.

Apêndice B4 - Resultados do modelo linear generalizado (GLM) para as variáveis resposta da espécie *Ceriodaphnia silvestrii* (imobilidade, fecundidade, sobrevivência das fêmeas e taxa intrínseca de crescimento populacional - r) e cada uma das variáveis explicativas para descobrir a ordem de entrada das variáveis nos modelos lineares generalizados mistos (GLMM) de acordo com a menor *deviance*.

Variável	Modelo	Variável explicativa	<i>Deviance</i>	Ordem da variável
Imobilidade	Glm1	Tratamento	14.930	1°
	Glm2	2,4-D	15.362	7°
	Glm3	Fipronil	15.349	4°
	Glm4	CP1	15.333	3°
	Glm5	CP2	15.361	6°
	Glm6	CP3	15.357	5°
	Glm7	CP4	15.183	2°
Fecundidade	Glm1	Tratamento	1056.30	2°
	Glm2	2,4-D	1100.62	4°
	Glm3	Fipronil	1101.85	5°
	Glm4	CP1	1040.83	1°
	Glm5	CP2	1103.95	7°
	Glm6	CP3	1067.11	3°
	Glm7	CP4	1103.75	6°
Sobrevivência das fêmeas	Glm1	Tratamento	572.6415	1°
	Glm2	2,4-D	580.7122	7°
	Glm3	Fipronil	576.6924	4°
	Glm4	CP1	573.3212	2°
	Glm5	CP2	580.6813	6°
	Glm6	CP3	574.0713	3°
	Glm7	CP4	580.2015	5°
Taxa intrínseca de crescimento populacional	Glm1	Tratamento	10.03075	2°
	Glm2	2,4-D	10.39534	5°
	Glm3	Fipronil	10.40077	7°
	Glm4	CP1	10.107460	3°
	Glm5	CP2	10.39775	6°
	Glm6	CP3	9.864633	1°
	Glm7	CP4	10.39160	4°

Apêndice B6 - Resultados do Modelo Linear Misto Generalizado para imobilidade de *Ceriodaphnia silvestrii*. AIC: Critério de Informação de Akaike; $\Delta AICc$: diferença entre cada modelo e o modelo de melhor ajuste; df: graus de liberdade. *: modelo final.

Modelo	AICc	$\Delta AICc$	df
m15	-1096.2	0.0	4
m13	-1087.5	8.8	7
m14	-1087.5	8.8	6
m12	-1076.2	20.1	8
m11	-1065.3	31.0	9
m10	-1054.3	42.0	10
m9	-1044.1	52.1	11
m8	-1036.0	60.3	12
m7	-1021.2	75.1	14
m6	-1007.0	89.2	16
m5	-1004.3	91.9	18
m4	-996.2	100.0	20
m3	-981.2	115.1	22
m-completo	-980.4	115.9	24
m2	-967.5	128.8	23
m1	-947.9	148.3	23



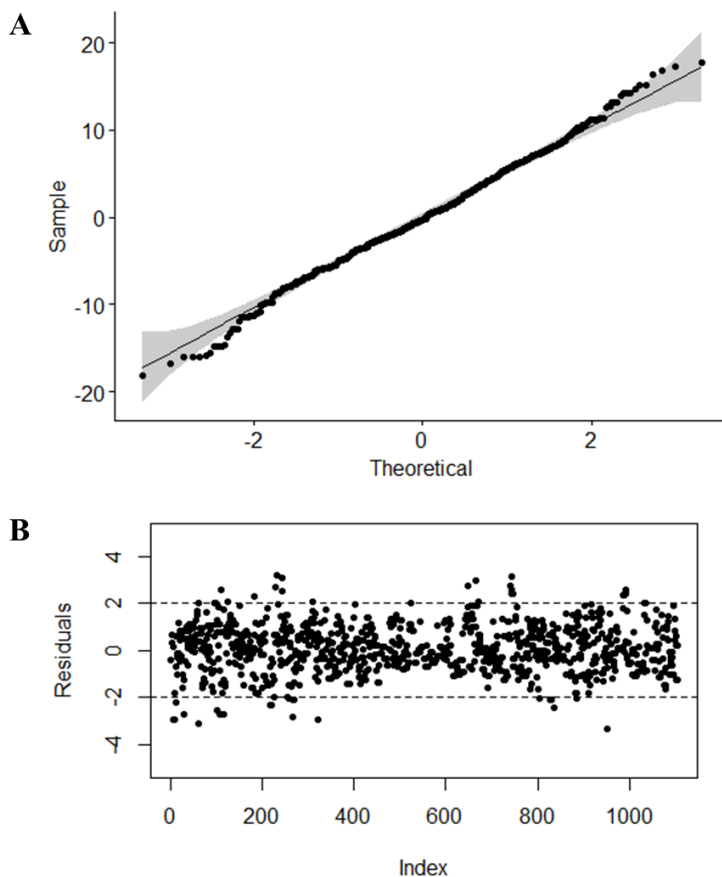
Apêndice B7 - Representação dos resíduos gerados para o modelo final m4 para a imobilidade de *Ceriodaphnia silvestrii*. A) Representação da probabilidade normal de resíduos; B) Gráfico de resíduos versus valores ajustados.

Apêndice B8 - Resultados dos modelos lineares generalizados mistos (GLMM) para a fecundidade da espécie *Ceriodaphnia silvestrii*. Variáveis explicativas: tratamento (Tratamento - pastagem extensiva, pastagem intensiva e cana-de-açúcar); 2,4-D; Fipronil (Fip); parâmetros físico-químico-biológicos agrupados em componentes principais (CP1, CP2, CP3 e CP4), interação entre tratamento e agrotóxicos (2,4-D e fipronil); interação entre tratamento e componentes principais (CP1, CP2, CP3 e CP4); Efeitos aleatórios: tempo e mesocosmo; (+): fator aplicado no modelo; NA: fator ausente no modelo; *: modelo final; Intercepto: tratamento pastagem extensiva. Hierarquia de remoção das variáveis: efeitos aleatórios, interações entre tratamento e variáveis, e variáveis principais. As variáveis foram removidas de acordo com a ordem estabelecida no Apêndice B4.

(Intercepto)	Trat	2,4-D	Fip	CP1	CP2	CP3	CP4	2,4-D*Trat	Fip* Trat	CP1* Trat	CP2* Trat	CP3* Trat	CP4* Trat	Tempo	Mesocosmo
m-completo	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
m1	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	NA	+
m2	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	NA
m3	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	NA	+	+	+	+
m4	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	NA	+	+
m5	+	+	+	+	+	+	+	+	NA	+	+	+	NA	+	+
m6	+	+	+	+	+	+	+	NA	+	+	+	+	NA	+	+
m7	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	NA	+	+
m8	+	+	+	+	+	+	+	+	+	NA	+	+	NA	+	+
m9*	+	+	+	+	+	+	NA	+	+	+	+	+	NA	+	+

Apêndice B9 - Resultados do Modelo Linear Misto Generalizado para a fecundidade de *Ceriodaphnia silvestrii*. AIC: Critério de Informação de Akaike; $\Delta AICc$: diferença entre cada modelo e o modelo de melhor ajuste; df: graus de liberdade. *: modelo final

Modelo	AICc	$\Delta AICc$	df
m9*	6991.8	0.0	21
m-completo	6993.2	1.3	24
m4	6994.1	2.2	22
m7	7000.8	9.0	20
m8	7004.5	12.6	20
m6	7000.6	14.1	20
m3	7008.9	17.0	22
m5	7041.8	50.0	20
m2	7061.5	69.7	23
m1	7506.6	514.8	23



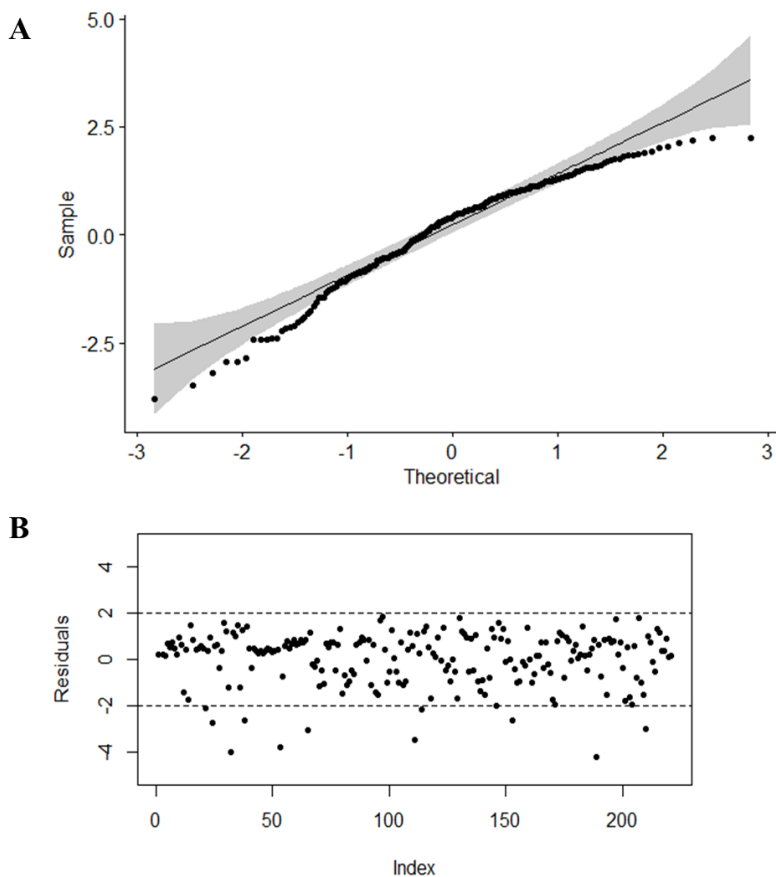
Apêndice B10 - Representação dos resíduos gerados para o modelo m9 para a fecundidade de *Ceriodaphnia silvestrii*. A) Representação da probabilidade normal de resíduos; B) Gráfico de resíduos versus valores ajustados.

Apêndice B11 - Resultados dos modelos lineares generalizados mistos (GLMM) para a sobrevivência das fêmeas da espécie *Ceriodaphnia silvestrii*. Variáveis explicativas: tratamento (Tratamento - pastagem extensiva, pastagem intensiva e cana-de-açúcar); 2,4-D; Fipronil (Fip); parâmetros físico-químico-biológicos agrupados em componentes principais (CP1, CP2, CP3 e CP4), interação entre tratamento e agrotóxicos (2,4-D e fipronil); interação entre tratamento e componentes principais (CP1, CP2, CP3 e CP4); Efeitos aleatórios: tempo e mesocosmo; (+): fator aplicado no modelo; NA: fator ausente no modelo; *: modelo final; Intercepto: tratamento pastagem extensiva. As variáveis que o modelo não conseguiu convergir (-) foram removidas do modelo e adicionadas no final para análise de sua significância. Hierarquia de remoção das variáveis: efeitos aleatórios, interações entre tratamento e variáveis, e variáveis principais. As variáveis foram removidas de acordo com a ordem estabelecida no Apêndice B4.

(Intercepto)	Trat	2,4-D	Fip	CP1	CP2	CP3	CP4	2,4-D*Trat	Fip* Trat	CP1* Trat	CP2* Trat	CP3* Trat	CP4* Trat	Tempo	Mesocosmo
m-completo	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+
m1	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	NA	+
m2	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	NA
m3	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	NA	+	+	+	+
m4	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	NA	+	NA	+	+
m5	+	+	+	+	+	+	+	-	NA	+	NA	+	+	+	+
m6	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	NA	NA	+	+	+
m7	+	+	+	+	+	+	+	-	+	NA	NA	+	+	+	+
m8	+	+	+	+	+	+	+	+	+	NA	NA	+	+	+	+
m9	+	NA	+	+	+	+	+	NA	+	NA	NA	+	+	+	+
m10	+	+	+	+	NA	+	+	NA	+	NA	NA	+	+	+	+
m11*	+	+	+	NA	+	+	+	NA	+	NA	NA	+	+	+	+

Apêndice B12 - Resultados do Modelo Linear Misto Generalizado para sobrevivência das fêmeas de *Ceriodaphnia silvestrii*. AIC: Critério de Informação de Akaike; Δ AICc: diferença entre cada modelo e o modelo de melhor ajuste; df: graus de liberdade. *: modelo final.

Modelo	AICc	Δ AICc	df
m11*	644.4	0.0	16
m7	644.4	0.0	17
m9	645.5	1.1	16
m3	646.5	2.1	19
m8	648.6	4.2	19
m-completo	649.1	4.7	21
m4	649.7	5.4	17
m5	650.2	5.8	17
m10	651.4	7.0	16
m2	651.9	7.5	20
m6	657.1	12.7	17
m1	765.8	121.5	20



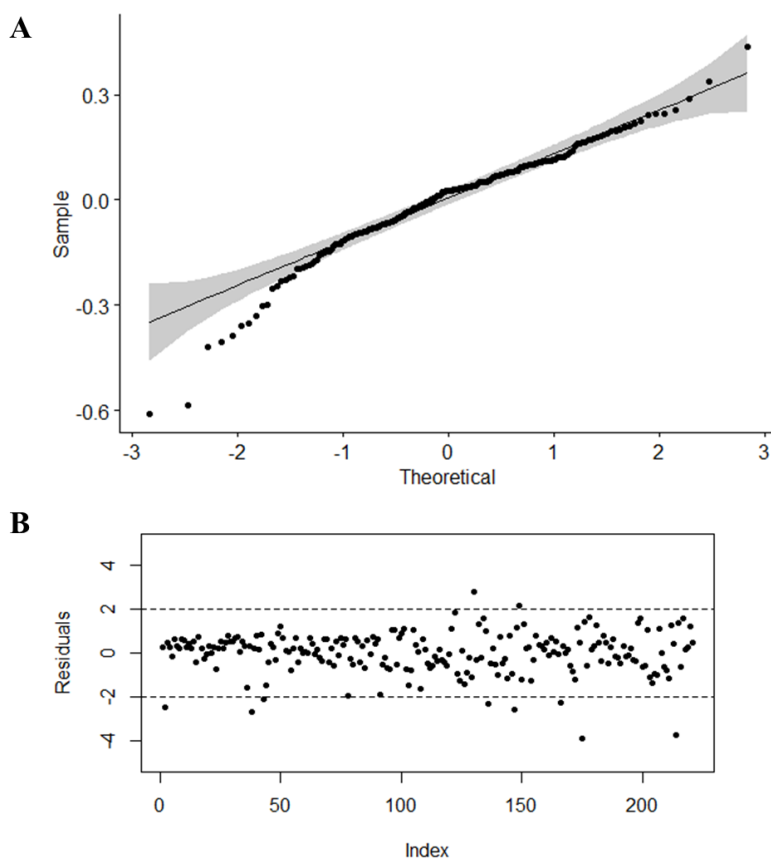
Apêndice B13 - Representação dos resíduos gerados para o modelo m11 para a sobrevivência das fêmeas de *Ceriodaphnia silvestrii*. A) Representação da probabilidade normal de resíduos; B) Gráfico de resíduos *versus* valores ajustados.

Apêndice B14 - Resultados dos modelos lineares generalizados mistos (GLMM) para a taxa intrínseca de crescimento populacional (r) da espécie *Ceriodaphnia silvestrii*. Variáveis explicativas: tratamento (Tratamento - pastagem extensiva, pastagem intensiva e cana-de-açúcar); 2,4-D; Fipronil (Fip); parâmetros físico-químicos-biológicos agrupados em componentes principais (CP1, CP2, CP3 e CP4), interação entre tratamento e agrotóxicos (2,4-D e fipronil); interação entre tratamento e componentes principais (CP1, CP2, CP3 e CP4); Efeitos aleatórios: tempo e mesocosmo; (+): fator aplicado no modelo; NA: fator ausente no modelo; *: modelo final; Intercepto: tratamento pastagem extensiva. Hierarquia de remoção das variáveis: efeitos aleatórios, interações entre tratamento e variáveis, e variáveis principais. As variáveis foram removidas de acordo com a ordem estabelecida no Apêndice B4.

(Intercepto)	Trat	2,4-D	Fip	CP1	CP2	CP3	CP4	2,4-D*Trat	Fip* Trat	CP1* Trat	CP2* Trat	CP3* Trat	CP4* Trat	Tempo	Mesocosmo
m-completo	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
m1	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	NA	+
m2	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	NA
m3	+	+	+	+	+	+	+	+	NA	+	+	+	+	+	+
m4	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	NA	+	+	+	+
m5	+	+	+	+	+	+	+	NA	+	+	NA	+	+	+	+
m6	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	NA	+	NA	+	+
m7	+	+	+	+	+	+	+	+	+	NA	NA	+	NA	+	+
m8	+	+	+	+	+	+	+	+	+	NA	NA	NA	NA	+	+
m9	+	+	+	+	NA	+	+	+	+	NA	NA	NA	NA	+	+
m10	+	+	+	+	NA	+	NA	+	+	NA	NA	NA	NA	+	+
m11	+	+	+	NA	NA	NA	NA	+	+	NA	NA	NA	NA	+	+
m12*	+	+	+	NA	NA	NA	NA	+	+	NA	NA	NA	NA	+	+

Apêndice B15 - Resultados do Modelo Linear Misto Generalizado para a taxa intrínseca de crescimento populacional (r) de *Ceriodaphnia silvestrii*. AIC: Critério de Informação de Akaike; Δ AICc: diferença entre cada modelo e o modelo de melhor ajuste; df: graus de liberdade. *: modelo final

Modelo	AICc	Δ AICc	df
m12*	-99.9	0.0	12
m11	-90.9	9.0	13
m10	-82.0	17.9	14
m9	-76.2	23.7	15
m8	-68.5	31.3	16
m7	-52.2	47.7	18
m6	-38.7	61.1	20
m4	-24.7	75.2	22
m5	-24.5	75.4	20
m-completo	-11.5	88.3	24
m2	-8.8	91.1	23
m3	-5.9	94.0	22
m1	50.1	150.0	23



Apêndice B16 - Representação dos resíduos gerados para o modelo m12 para a taxa intrínseca de crescimento populacional (r) de *Ceriodaphnia silvestrii*. **A)** Representação da probabilidade normal de resíduos; **B)** Gráfico de resíduos versus valores ajustados.

Apêndice B17 - Resultados do modelo linear generalizado (GLM) entre as variáveis resposta da espécie *Eruca sativa* (germinação, comprimento da parte aérea e comprimento da raiz) e cada uma das variáveis explicativas para descobrir a ordem de entrada das variáveis nos modelos lineares generalizados mistos (GLMM) de acordo com a menor *deviance*.

Variável	Modelo	Variável explicativa	<i>Deviance</i>	Ordem das variáveis
Germinação	Glm1	Tratamento	1149.45	5°
	Glm2	2,4-D	1104.98	2°
	Glm3	Fipronil	1139.86	3°
	Glm4	CP1	1150.07	6°
	Glm5	CP2	1065.10	1°
	Glm6	CP3	1142.10	4°
	Glm7	CP4	1150.58	7°
Crescimento da parte aérea	Glm1	Tratamento	72.90	7°
	Glm2	2,4-D	68.42	1°
	Glm3	Fipronil	72.18	5°
	Glm4	CP1	71.03	4°
	Glm5	CP2	70.34	2°
	Glm6	CP3	70.54	3°
	Glm7	CP4	72.28	6°
Crescimento da raiz	Glm1	Tratamento	298.70	6°
	Glm2	2,4-D	279.54	2°
	Glm3	Fipronil	295.09	3°
	Glm4	CP1	296.61	4°
	Glm5	CP2	249.43	1°
	Glm6	CP3	298.96	7°
	Glm7	CP4	297.01	5°

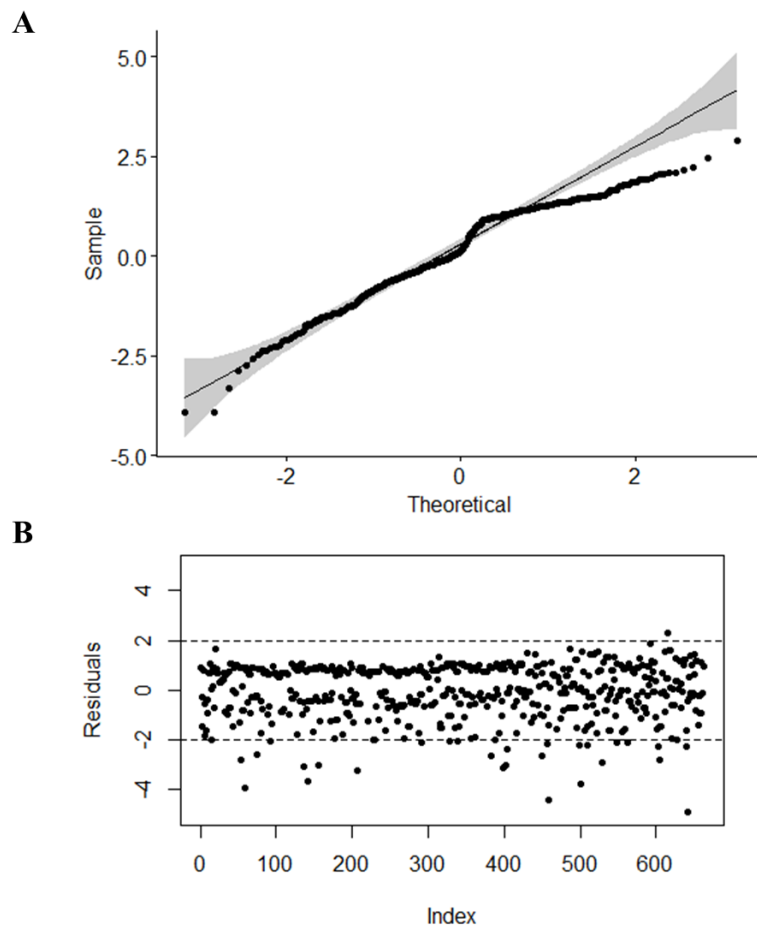
Apêndice B18 - Resultados dos modelos lineares generalizados mistos (GLMM) para a germinação da espécie *Eruca sativa*. Variáveis explicativas: tratamento (Tratamento - pastagem extensiva, pastagem intensiva e cana-de-açúcar); 2,4-D; Fipronil (Fip); parâmetros físico-químico-biológicos agrupados em componentes principais (CP1, CP2, CP3 e CP4), interação entre tratamento e agrotóxicos (2,4-D e fipronil); interação entre tratamento e componentes principais (CP1, CP2, CP3 e CP4); Efeitos aleatórios: tempo e mesocosmo; (+): fator aplicado no modelo; NA: fator ausente no modelo; *: modelo final; Intercepto: tratamento pastagem extensiva. Hierarquia de remoção das variáveis: efeitos aleatórios, interações entre tratamento e variáveis, e variáveis principais. As variáveis foram removidas de acordo com a ordem estabelecida no Apêndice B17.

(Intercepto)	Trat	2,4-D	Fip	CP1	CP2	CP3	CP4	2,4-D*Trat	Fip* Trat	CP1* Trat	CP2* Trat	CP3* Trat	CP4* Trat	Tempo	Mesocosmo
m-completo	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
m1	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	NA	+
m2	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	NA	+	+	+
m3	+	+	+	+	+	+	+	NA	+	+	+	+	+	+	+
m4	+	+	+	+	+	+	+	NA	+	+	NA	+	+	+	+
m5	+	NA	+	+	+	+	+	NA	+	+	NA	+	+	+	+
m6	+	+	+	+	NA	+	+	NA	+	+	NA	+	+	+	+
m7	+	+	+	+	NA	+	+	NA	+	+	NA	+	NA	+	+
m8	+	+	+	+	NA	+	+	NA	+	NA	NA	+	+	+	+
m9	+	+	+	+	NA	+	+	NA	NA	NA	NA	+	+	+	+
m10*	+	+	+	NA	NA	+	+	NA	NA	NA	NA	+	+	+	+
m11	+	+	NA	NA	NA	+	+	NA	NA	NA	NA	+	+	+	NA
m12	+	NA	NA	NA	NA	+	+	NA	NA	NA	NA	+	+	+	NA

Apêndice B19 - Resultados do Modelo Linear Misto Generalizado para a germinação de *Eruca sativa*.

AIC: Critério de Informação de Akaike; Δ AICc: diferença entre cada modelo e o modelo de melhor ajuste; df: graus de liberdade. *: modelo final

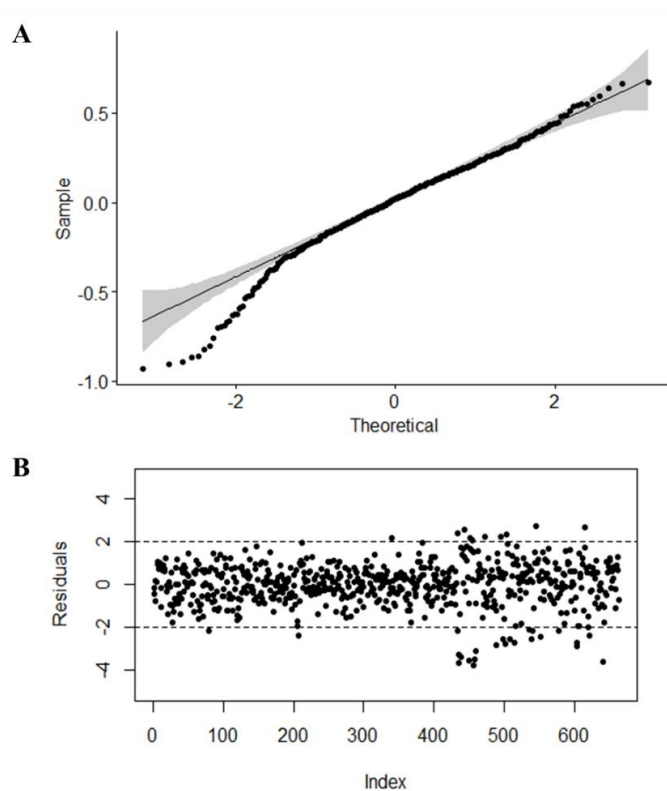
Modelo	AICc	ΔAICc	df
m6	1762.5	0.0	18
m8	1764.0	1.5	16
m9	1764.1	1.6	14
m4	1764.6	2.1	19
m10*	1765.5	3.1	13
m7	1766.0	3.5	16
m3	1766.0	3.5	21
m-completo	1768.1	5.6	23
m2	1770.9	8.4	21
m5	1771.4	9.0	18
m11	1783.8	21.4	11
m12	1792.8	30.3	10
m1	1881.8	119.3	22



Apêndice B20 - Representação dos resíduos gerados para o modelo m9 para a germinação de *Eruca sativa*. A) Representação da probabilidade normal de resíduos; B) Gráfico de resíduos *versus* valores ajustados.

Apêndice B22 - Resultados dos Modelos Lineares Mistos Generalizados para o comprimento da parte aérea de *Eruca sativa*. AIC: Critério de Informação de Akaike; Δ AICc: diferença entre cada modelo e o modelo de melhor ajuste; df: graus de liberdade. *: modelo final

Modelo	AICc	Δ AICc	df
m13*	110.6	0.0	5
m14	112.5	1.9	4
m12	119.0	8.5	6
m15	120.1	9.5	4
m11	125.1	14.6	7
m10	134.4	23.9	8
m9	137.8	27.3	9
m8	148.9	38.3	11
m7	149.3	38.8	13
m6	156.8	46.3	15
m5	171.9	61.3	17
m4	178.4	67.8	19
m3	181.1	70.5	21
m2	184.3	73.7	23
m-completo	185.9	75.3	24
m1	405.9	295.3	23



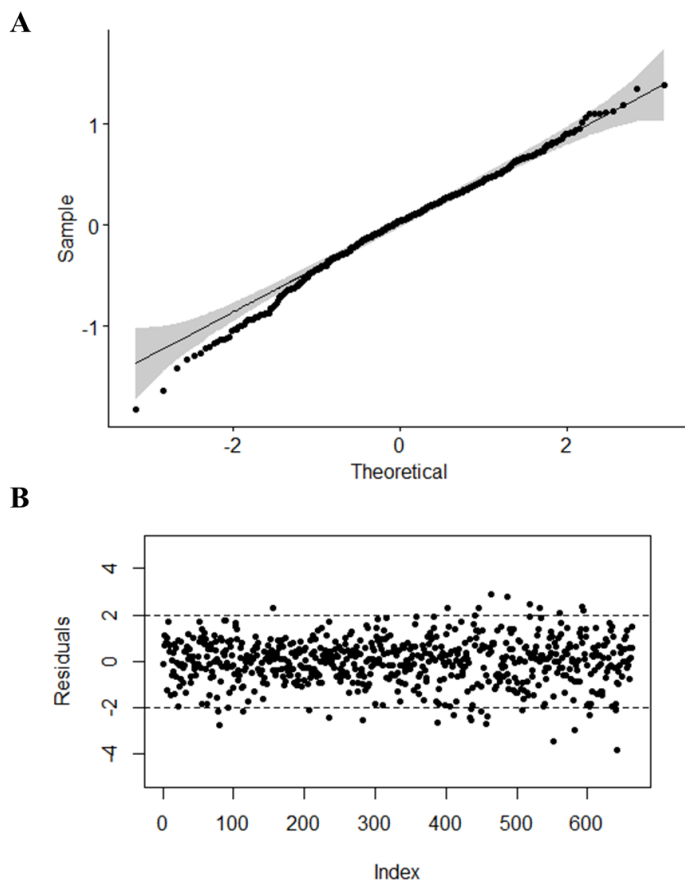
Apêndice B23 - Representação dos resíduos gerados para o modelo m14 para o comprimento da parte aérea de *Eruca sativa*. **A)** Representação da probabilidade normal de resíduos; **B)** Gráfico de resíduos versus valores ajustados.

Apêndice B24 - Resultados dos modelos lineares generalizados mistos (GLMM) para o comprimento da raiz da espécie *Eruca sativa*. Variáveis explicativas: tratamento (Tratamento - pastagem extensiva, pastagem intensiva e cana-de-açúcar); 2,4-D; Fipronil (Fip); parâmetros físico-químico-biológicos agrupados em componentes principais (CP1, CP2, CP3 e CP4), interação entre tratamento e agrotóxicos (2,4-D e fipronil); interação entre tratamento e componentes principais (CP1, CP2, CP3 e CP4); Efeitos aleatórios: tempo e mesocosmo; (+): fator aplicado no modelo; NA: fator ausente no modelo; *: modelo final; Intercepto: tratamento pastagem extensiva. Hierarquia de remoção das variáveis: efeitos aleatórios, interações entre tratamento e variáveis, e variáveis principais. As variáveis foram removidas de acordo com a ordem estabelecida no Apêndice B17.

(Intercepto)	Trat	2,4-D	Fip	CP1	CP2	CP3	CP4	2,4-D*Trat	Fip* Trat	CP1* Trat	CP2* Trat	CP3* Trat	CP4* Trat	Tempo	Mesocosmo
m-completo	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
m1	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	NA	+
m2	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	NA
m3	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	NA	+	+	NA
m4	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	NA	NA	+	NA
m5	+	+	+	+	+	+	+	+	+	NA	+	NA	NA	+	NA
m6	+	+	+	+	+	+	+	+	NA	NA	+	NA	NA	+	NA
m7	+	+	+	+	+	+	+	NA	NA	NA	+	NA	NA	+	NA
m8	+	+	+	+	+	+	+	+	NA	NA	NA	NA	NA	+	NA
m9	+	+	+	+	+	NA	+	+	NA	NA	NA	NA	NA	+	NA
m10	+	+	+	+	+	NA	NA	+	NA	NA	NA	NA	NA	+	NA
m11	+	+	+	NA	+	NA	NA	+	NA	NA	NA	NA	NA	+	NA
m12*	+	+	NA	NA	+	NA	NA	+	NA	NA	NA	NA	NA	+	NA
m13	+	+	NA		NA	NA	NA	+	NA	NA	NA	NA	NA	+	NA

Apêndice B25 - Resultados do Modelos Lineares Mistos Generalizados para o comprimento da raiz de *Eruca sativa*. AIC: Critério de Informação de Akaike; Δ AICc: diferença entre cada modelo e o modelo de melhor ajuste; df: graus de liberdade. *: modelo final.

Modelo	AICc	ΔAICc	df
m12*	994.6	0.0	9
m11	996.6	2.0	10
m13	1002.8	8.2	8
m10	1004.4	9.9	11
m9	1012.2	17.6	12
m8	1018.8	24.2	13
m5	1025.1	30.5	17
m6	1025.7	31.1	15
m3	1028.9	34.3	21
m4	1030.8	36.3	19
m7	1032.6	38.0	13
m-completo	1035.3	40.7	24
m2	1035.4	40.8	23
m1	1256.4	261.8	23



Apêndice B26 - Representação dos resíduos gerados para o modelo m11 para o comprimento da raiz de *E. sativa*. **A)** Representação da probabilidade normal de resíduos; **B)** Gráfico de resíduos *versus* valores ajustados.

Apêndice B27 - Resultados do modelo linear generalizado (GLM) entre as variáveis resposta da espécie *Chironomus sancticaroli* (mortalidade, comprimento do corpo, biomassa fresca, biomassa seca livre de cinzas - BSLC, deformidades do mentum e larvas no quarto instar) e cada uma das variáveis explicativas para descobrir a ordem de entrada das variáveis nos modelos lineares generalizados mistos (GLMM) de acordo com a menor *deviance*.

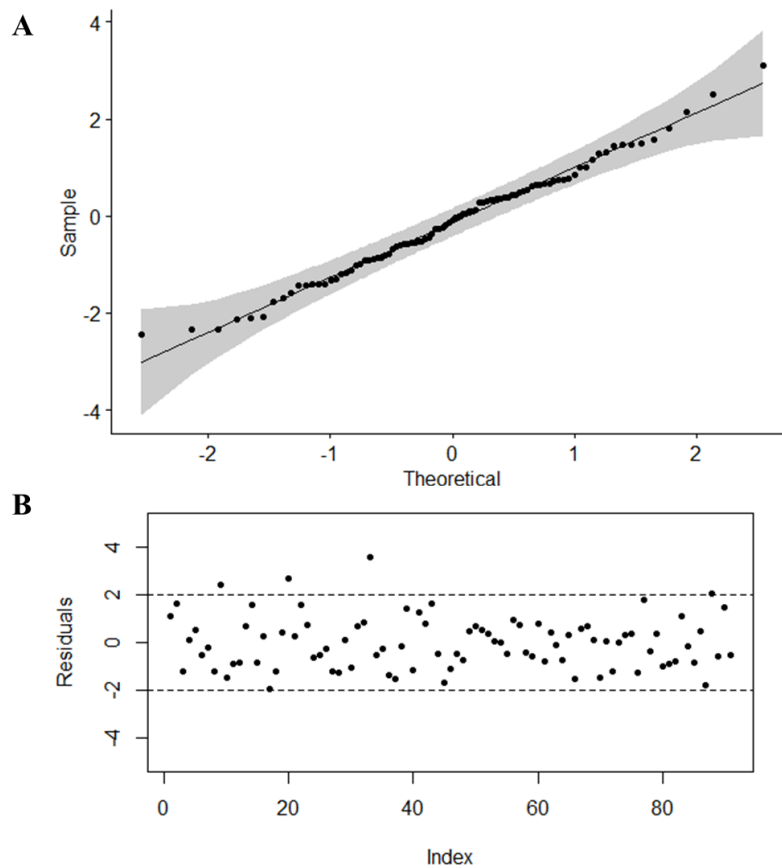
Variável	Modelo	Variável explicativa	Deviance	Ordem da variável
Mortalidade	Glm1	Tratamento	179.3457	1°
	Glm2	Fipronil	181.1425	3°
	Glm3	Fipronil sulfide	181.3297	4°
	Glm4	Fipronil sulfona	180.8149	2°
Comprimento do corpo	Glm1	Treatment	94.033366	1°
	Glm2	Fipronil	95.13234	2°
	Glm3	Fipronil sulfide	95.40738	3°
	Glm4	Fipronil sulfona	95.49451	4°
Biomassa fresca	Glm1	Treatment	28.87017	1°
	Glm2	Fipronil	29.21869	2°
	Glm3	Fipronil sulfide	29.32339	3°
	Glm4	Fipronil sulfona	29.34933	4°
BSLC	Glm1	Treatment	0.5664391	1°
	Glm2	Fipronil	0.5732771	2°
	Glm3	Fipronil sulfide	0.5753314	3°
	Glm4	Fipronil sulfona	0.5758403	4°
Deformidades do mentum	Glm1	Treatment	280.8001	3°
	Glm2	Fipronil	281.7082	4°
	Glm3	Fipronil sulfide	268.2098	1°
	Glm4	Fipronil sulfona	280.6433	2°
Larvas no quarto instar	Glm1	Treatment	203.1768	3°
	Glm2	Fipronil	197.1247	1°
	Glm3	Fipronil sulfide	201.0771	2°
	Glm4	Fipronil sulfona	203.1829	4°

Apêndice B28 - Resultados dos modelos lineares generalizados mistos (GLMM) para a mortalidade da espécie *Chironomus sancticaroli*. Variáveis explicativas: tratamento (Trat - pastagem extensiva, pastagem intensiva e cana-de-açúcar); Fipronil (Fip); Fipronil sulfeto (F-ide); Fipronil sulfona (F-ona); interação entre tratamento e Fipronil (Fip*Trat); interação entre tratamento e Fipronil sulfeto (F-ide*Trat); interação entre tratamento e Fipronil sulfona (F-ona*Trat). Efeitos aleatórios: tempo e mesocosmo; (+): fator aplicado no modelo; NA: fator ausente no modelo; *: modelo final. Hierarquia de remoção das variáveis: efeitos aleatórios, interações entre tratamento e variáveis, e variáveis principais. As variáveis foram removidas dos modelos de acordo com a ordem estabelecida no Apêndice B27.

(Intercepto)	Trat	Fip	F-ide	F-fona	Fip* Trat	F-ide *Trat	F-ona*Trat	Tempo	Mesocosmo
m-completo	+	+	+	+	+	+	+	+	+
m1	+	+	+	+	+	+	+	NA	+
m2	+	+	+	+	+	+	+	+	NA
m3	+	+	+	+	+	+	NA	+	NA
m4	+	+	+	+	+	NA	NA	+	NA
m5	+	+	+	+	NA	NA	NA	+	NA
m6	+	+	+	NA	NA	NA	NA	+	NA
m7	+	+	NA	NA	NA	NA	NA	+	NA
m8	+	NA	NA	NA	NA	NA	NA	+	NA
m9*	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	+	NA

Apêndice B29 - Resultados do Modelo Linear Misto Generalizado para a mortalidade de *Chironomus sancticaroli*. AIC: Critério de Informação de Akaike; Δ AICc: diferença entre cada modelo e o modelo de melhor ajuste; df: graus de liberdade. *: modelo final.

Modelo	AICc	Δ AICc	df
m9*	396.9	0.0	3
m8	400.5	3.5	5
m7	402.5	5.5	6
m6	403.2	6.3	7
m5	404.6	7.7	8
m4	404.7	7.8	10
m3	407.3	10.4	12
m-completo	411.9	14.9	14
m2	413.6	16.7	13
m1	439.4	42.5	13



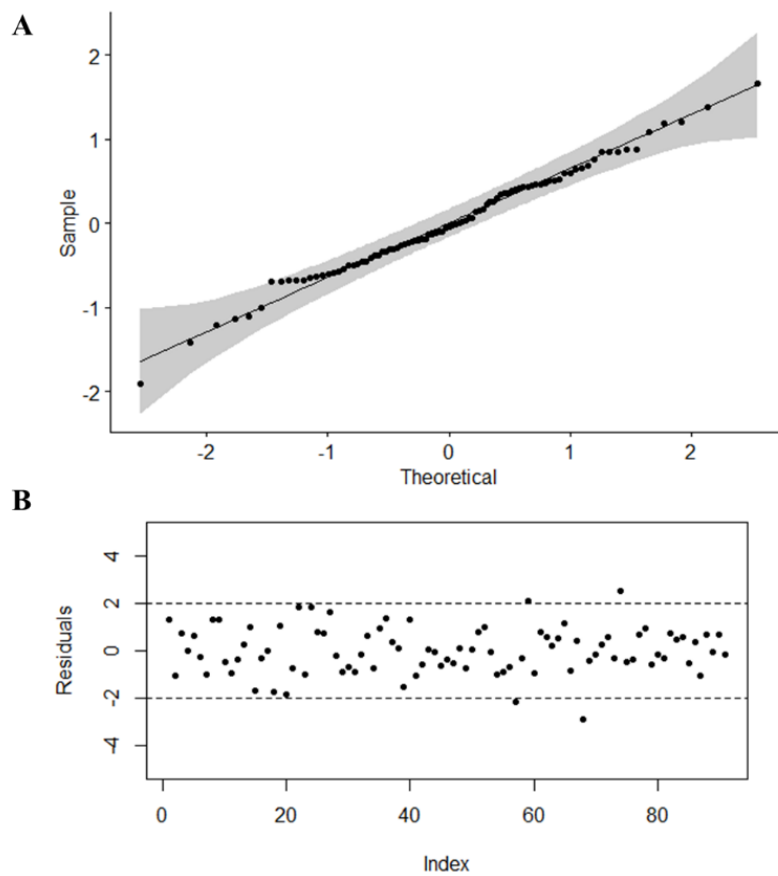
Apêndice B30 - Representação dos resíduos gerados para o modelo m9 para mortalidade de *C. sancticaroli*. **A)** Representação da probabilidade normal de resíduos; **B)** Gráfico de resíduos versus valores ajustados.

Apêndice B31 - Resultados dos modelos lineares generalizados mistos (GLMM) para o comprimento do corpo da espécie *Chironomus sancticaroli*. Variáveis explicativas: tratamento (Trat - pastagem extensiva, pastagem intensiva e cana-de-açúcar); Fipronil (Fip); Fipronil sulfeto (F-ide); Fipronil sulfona (F-ona); interação entre tratamento e Fipronil (Fip*Trat); interação entre tratamento e Fipronil sulfeto (F-ide*Trat); interação entre tratamento e Fipronil sulfona (F-ona*Trat). Efeitos aleatórios: tempo e mesocosmo; (+): fator aplicado no modelo; NA: fator ausente no modelo; *: modelo final. Hierarquia de remoção das variáveis: efeitos aleatórios, interações entre tratamento e variáveis, e variáveis principais. As variáveis foram removidas dos modelos de acordo com a ordem estabelecida no Apêndice B27.

(Intercepto)	Trat	Fip	F-ide	F-fona	Fip* Trat	F-ide *Trat	F-ona*Trat	Tempo	Mesocosmo
m-completo	+	+	+	+	+	+	+	+	+
m1	+	+	+	+	+	+	+	NA	+
m2	+	+	+	+	+	+	+	+	NA
m3	+	+	+	+	+	+	NA	+	NA
m4	+	+	+	+	+	NA	NA	+	NA
m5	+	+	+	+	NA	NA	NA	+	NA
m6	+	+	+	NA	NA	NA	NA	+	NA
m7	+	+	NA	NA	NA	NA	NA	+	NA
m8	+	NA	NA	NA	NA	NA	NA	+	NA
m9*	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	+	NA

Apêndice B32 - Resultados do Modelo Linear Misto Generalizado para o comprimento do corpo de *Chironomus sancticaroli*. AIC: Critério de Informação de Akaike; Δ AICc: diferença entre cada modelo e o modelo de melhor ajuste; df: graus de liberdade.

Modelo	AICc	Δ AICc	df
m9*	208.9	0.0	3
m8	213.6	4.7	5
m7	219.2	10.3	6
m6	224.5	15.6	7
m5	229.4	20.5	8
m4	233.8	25.0	10
m3	240.8	31.9	12
m2	242.9	34.1	14
m-completo	243.6	34.7	15
m1	299.2	90.4	12



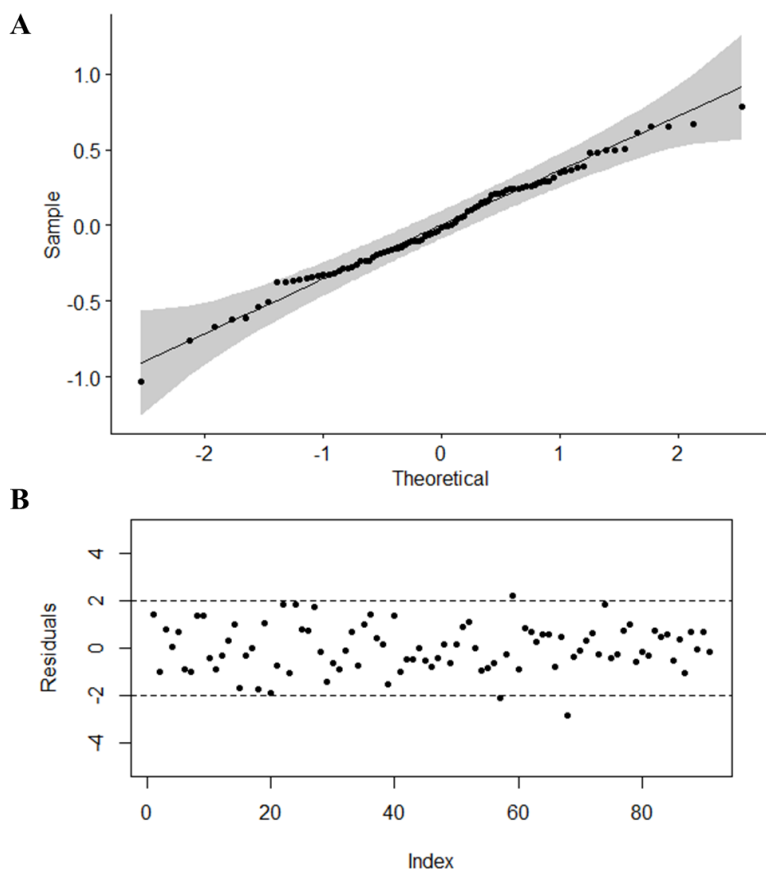
Apêndice B33 - Representação dos resíduos gerados para o modelo m9 usando GLMM para o comprimento do corpo de *C. sancticaroli*. A) Representação da probabilidade normal de resíduos; B) Gráfico de resíduos *versus* valores ajustados.

Apêndice B34 - Resultados dos modelos lineares generalizados mistos (GLMM) para a biomassa fresca da espécie *Chironomus sancticaroli*. Variáveis explicativas: tratamento (Trat - pastagem extensiva, pastagem intensiva e cana-de-açúcar); Fipronil (Fip); Fipronil sulfeto (F-ide); Fipronil sulfona (F-ona); interação entre tratamento e Fipronil (Fip*Trat); interação entre tratamento e Fipronil sulfeto (F-ide*Trat); interação entre tratamento e Fipronil sulfona (F-ona*Trat). Efeitos aleatórios: tempo e mesocosmo; (+): fator aplicado no modelo; NA: fator ausente no modelo; *: modelo final. Hierarquia de remoção das variáveis: efeitos aleatórios, interações entre tratamento e variáveis, e variáveis principais. As variáveis foram removidas dos modelos de acordo com a ordem estabelecida no Apêndice B27.

(Intercepto)	Trat	Fip	F-ide	F-fona	Fip* Trat	F-ide *Trat	F-ona*Trat	Tempo	Mesocosmo
m-completo	+	+	+	+	+	+	+	+	+
m1	+	+	+	+	+	+	+	NA	+
m2	+	+	+	+	+	+	+	+	NA
m3	+	+	+	+	+	+	NA	+	NA
m4	+	+	+	+	+	NA	NA	+	NA
m5	+	+	+	+	NA	NA	NA	+	NA
m6	+	+	+	NA	NA	NA	NA	+	NA
m7	+	+	NA	NA	NA	NA	NA	+	NA
m8	+	NA	NA	NA	NA	NA	NA	+	NA
m9*	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	+	NA

Apêndice B35 - Resultados do Modelo Linear Misto Generalizado para a biomassa fresca de *Chironomus sancticaroli*. AIC: Critério de Informação de Akaike; $\Delta AICc$: diferença entre cada modelo e o modelo de melhor ajuste; df: graus de liberdade. *: modelo final.

Modelo	AICc	$\Delta AICc$	df
m9*	100.9	0.0	3
m8	107.7	6.8	5
m7	114.5	13.6	6
m6	121.0	20.2	7
m5	127.1	26.2	8
m4	134.3	33.5	10
m3	144.1	43.2	12
m2	148.5	47.6	14
m-completo	149.6	48.7	15
m1	203.8	103.0	14



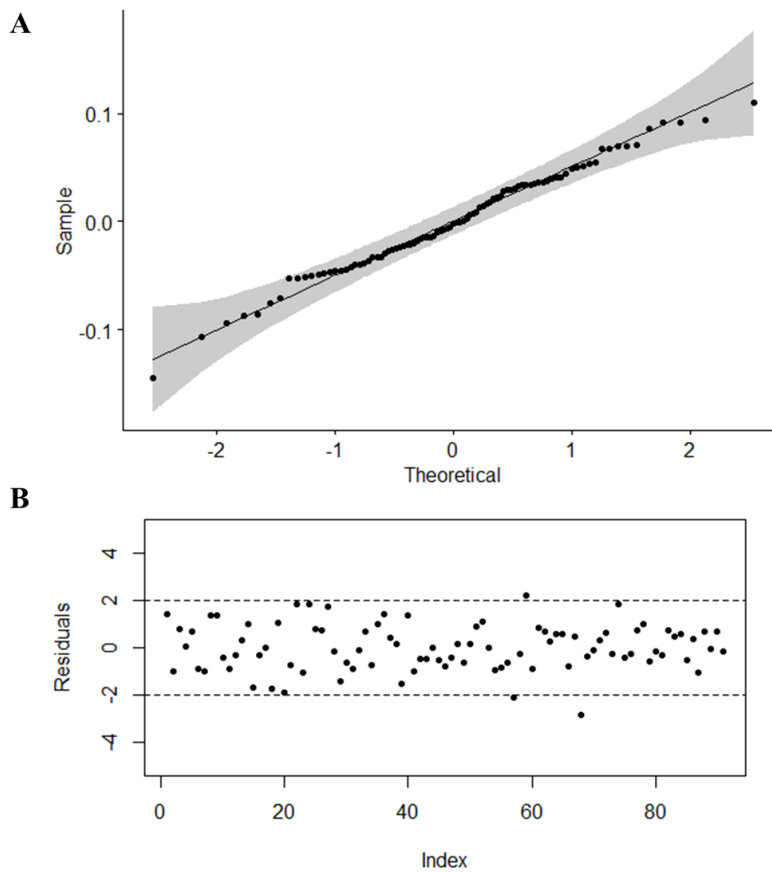
Apêndice B36 - Representação dos resíduos gerados para o modelo m9 para a biomassa fresca de *C. sancticaroli*. **A)** Representação da probabilidade normal de resíduos; **B)** Gráfico de resíduos versus valores ajustados.

Apêndice B37 - Resultados dos modelos lineares generalizados mistos (GLMM) para a biomassa seca livre de cinzas (BSLC) da espécie *Chironomus sancticaroli*. Variáveis explicativas: tratamento (Trat - pastagem extensiva, pastagem intensiva e cana-de-açúcar); Fipronil (Fip); Fipronil sulfeto (F-ide); Fipronil sulfona (F-ona); interação entre tratamento e Fipronil (Fip*Trat); interação entre tratamento e Fipronil sulfeto (F-ide*Trat); interação entre tratamento e Fipronil sulfona (F-ona*Trat). Efeitos aleatórios: tempo e mesocosmo; (+): fator aplicado no modelo; NA: fator ausente no modelo; *: modelo final. Hierarquia de remoção das variáveis: efeitos aleatórios, interações entre tratamento e variáveis, e variáveis principais. As variáveis foram removidas dos modelos de acordo com a ordem estabelecida no Apêndice B27.

(Intercepto)	Trat	Fip	F-ide	F-fona	Fip* Trat	F-ide *Trat	F-ona*Trat	Tempo	Mesocosmo
m-completo	+	+	+	+	+	+	+	+	+
m1	+	+	+	+	+	+	+	NA	+
m2	+	+	+	+	+	+	+	+	NA
m3	+	+	+	+	+	+	NA	+	NA
m4	+	+	+	+	+	NA	NA	+	NA
m5	+	+	+	+	NA	NA	NA	+	NA
m6	+	+	+	NA	NA	NA	NA	+	NA
m7	+	+	NA	NA	NA	NA	NA	+	NA
m8	+	NA	NA	NA	NA	NA	NA	+	NA
m9*	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	+	NA

Apêndice B38 - Resultados do Modelo Linear Misto Generalizado para a biomassa seca livre de cinzas (BSLC) de *Chironomus sancticaroli*. AIC: Critério de Informação de Akaike; Δ AICc: diferença entre cada modelo e o modelo de melhor ajuste; df: graus de liberdade. *: modelo final.

Modelo	AICc	Δ AICc	df
m9*	-252.9	0.0	3
m8	-238.2	14.7	5
m7	-227.5	25.4	6
m6	-217.0	35.9	7
m5	-207.1	45.9	8
m4	-192.0	61.0	10
m3	-174.3	78.6	12
m2	-162.1	90.8	14
m-completo	-161.0	91.9	15
m1	-106.7	146.2	14



Apêndice B39 - Representação dos resíduos gerados para o modelo m9 para a biomassa seca livre de cinzas (BSLC) de *Chironomus sancticaroli*. **A)** Representação da probabilidade normal de resíduos; **B)** Gráfico de resíduos versus valores ajustados.

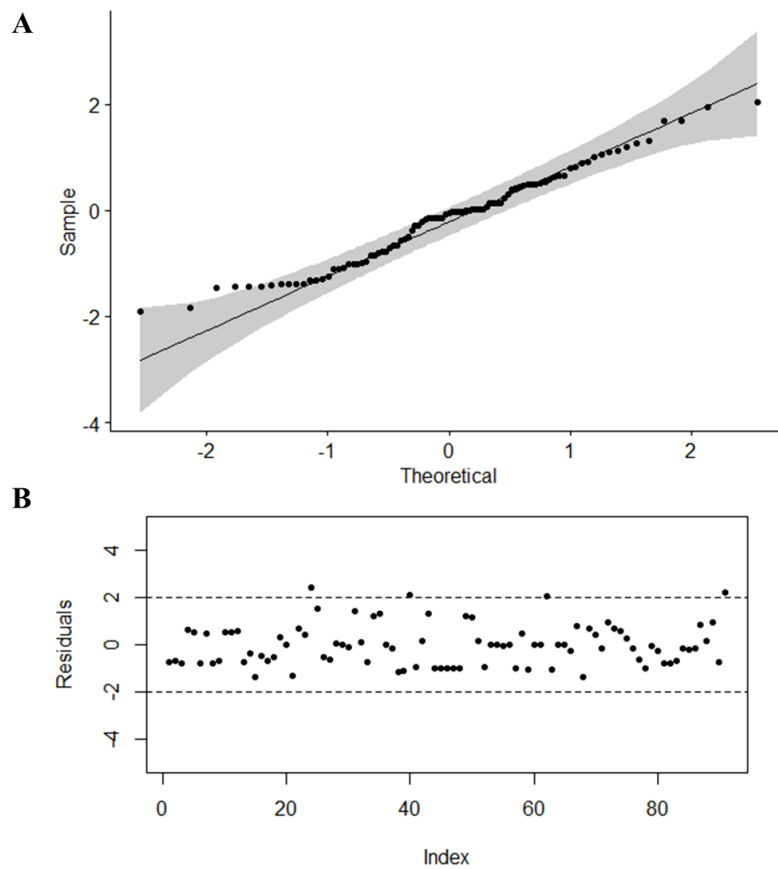
Apêndice B40 - Resultados dos modelos lineares generalizados mistos (GLMM) para as deformidades do mentum (%) da espécie *Chironomus sancticaroli*. Variáveis explicativas: tratamento (Trat - pastagem extensiva, pastagem intensiva e cana-de-açúcar); Fipronil (Fip); Fipronil sulfeto (F-ide); Fipronil sulfona (F-ona); interação entre tratamento e Fipronil (Fip*Trat); interação entre tratamento e Fipronil sulfeto (F-ide*Trat); interação entre tratamento e Fipronil sulfona (F-ona*Trat). Efeitos aleatórios: tempo e mesocosmo; (+): fator aplicado no modelo; NA: fator ausente no modelo; *: modelo final. Hierarquia de remoção das variáveis: efeitos aleatórios, interações entre tratamento e variáveis, e variáveis principais. As variáveis foram removidas dos modelos de acordo com a ordem estabelecida no

(Intercepto)	Trat	Fip	F-ide	F-fona	Fip* Trat	F-ide *Trat	F-ona*Trat	Tempo	Mesocosmo
m-completo	+	+	+	+	+	+	+	+	+
m1	+	+	+	+	+	+	+	NA	+
m2	+	+	+	+	+	+	+	+	NA
m3	+	+	+	+	NA	+	+	+	NA
m4	+	+	+	+	NA	+	NA	+	NA
m5	+	+	+	+	NA	NA	NA	+	NA
m6	+	NA	+	+	NA	NA	NA	+	NA
m7	NA	NA	+	+	NA	NA	NA	+	NA
m8	NA	NA	+	NA	NA	NA	NA	+	NA
m9*	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	+	NA

Apêndice B27.

Apêndice B41 - Resultados do Modelo Linear Misto Generalizado para deformidades do mentum de *Chironomus sancticaroli*. AIC: Critério de Informação de Akaike; Δ AICc: diferença entre cada modelo e o modelo de melhor ajuste; df: graus de liberdade.

Modelo	AICc	Δ AICc	df
m9	302.3	0.0	2
m8	303.2	1.0	3
m7	305.4	3.1	4
m6	307.8	5.6	6
m5	310.2	7.9	7
m4	313.4	11.2	9
m3	318.0	15.8	11
m2	322.2	19.9	13
m-completo	325.0	22.7	14
m1	482.0	179.8	13



Apêndice B42 - Representação dos resíduos gerados para o modelo m9 para deformidades do mentum de *C. sancticaroli*. **A)** Representação da probabilidade normal de resíduos; **B)** Gráfico de resíduos *versus* valores ajustados.

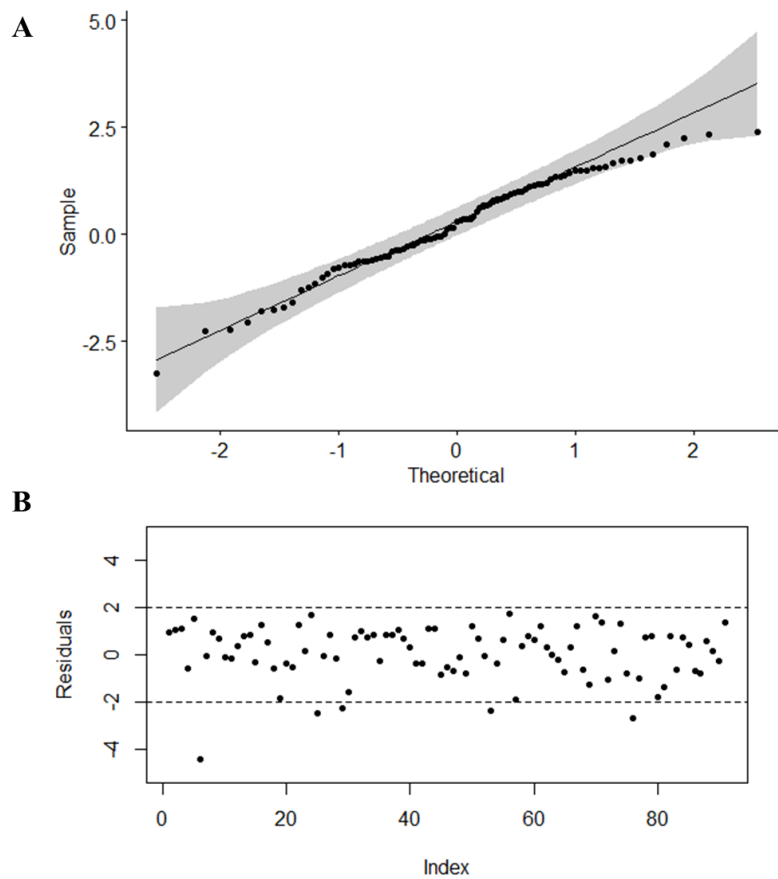
Apêndice B43 - Resultados dos modelos lineares generalizados mistos (GLMM) para larvas no quarto instar (%) da espécie *Chironomus sancticaroli*. Variáveis explicativas: tratamento (Trat - pastagem extensiva, pastagem intensiva e cana-de-açúcar); Fipronil (Fip); Fipronil sulfeto (F-ide); Fipronil sulfona (F-ona); interação entre tratamento e Fipronil (Fip*Trat); interação entre tratamento e Fipronil sulfeto (F-ide*Trat); interação entre tratamento e Fipronil sulfona (F-ona*Trat). Efeitos aleatórios: tempo e mesocosmo; (+): fator aplicado no modelo; NA: fator ausente no modelo; *: modelo final. Hierarquia de remoção das variáveis: efeitos aleatórios, interações entre tratamento e variáveis, e variáveis principais.

(Intercepto)	Trat	Fip	F-ide	F-ona	Fip*Trat	F-ide*Trat	F-ona*Trat	Tempo	Mesocosmo
m-completo	+	+	+	+	+	+	+	+	+
m1	+	+	+	+	+	+	+	NA	+
m2	+	+	+	+	+	+	+	+	NA
m3	+	+	+	+	+	+	NA	+	+
m4	+	+	+	+	+	NA	NA	+	+
m5	+	+	+	+	NA	+	NA	+	+
m6*	+	+	+	NA	NA	+	NA	+	+
m7	+	NA	+	NA	NA	+	NA	+	+

As variáveis foram removidas dos modelos de acordo com a ordem estabelecida no Apêndice B27.

Apêndice B44 - Resultados do Modelo Linear Misto Generalizado para larvas no quarto instar de *Chironomus sancticaroli*. AIC: Critério de Informação de Akaike; Δ AICc: diferença entre cada modelo e o modelo de melhor ajuste; df: graus de liberdade. *: modelo final.

Modelo	AICc	Δ AICc	df
m6*	352.0	0.0	9
m5	352.9	0.9	10
m7	353.4	1.3	8
m3	356.1	4.0	12
m-completo	360.5	8.5	14
m2	363.1	11.0	13
m4	375.4	23.4	10
m1	379.5	27.5	13



Apêndice B45 - Representação dos resíduos gerados para o modelo m9 para larvas no quarto instar de *C. sancticaroli*. **A)** Representação da probabilidade normal de resíduos; **B)** Gráfico de resíduos versus valores ajustados.



EESC • USP