

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE SÃO CARLOS**  
**CENTRO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS E DA SAÚDE**  
**PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS AMBIENTAIS**

**ANA CAROLINA DOS SANTOS**

**HOMOGENEIZAÇÃO BIÓTICA EM METACOMUNIDADES  
HETEROGÊNEAS DE FITOPLÂNCTON IMPACTADAS POR  
AGROQUÍMICOS**

**SÃO CARLOS -SP**  
**2022**

ANA CAROLINA DOS SANTOS

HOMOGENEIZAÇÃO BIÓTICA EM METACOMUNIDADES  
HETEROGÊNEAS DE FITOPLÂNCTON IMPACTADAS POR  
AGROQUÍMICOS

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Ambientais da Universidade Federal de São Carlos, como parte dos requisitos para a obtenção do título de Mestre em Ciências Ambientais<sup>1</sup>.

Orientador(a): Prof. Dr. Victor Satoru Saito.

São Carlos-SP  
2022

---

<sup>1</sup> Apoio: Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES) - Código de Financiamento 001

Santos, Ana Carolina dos

Homogeneização biótica em metacomunidades heterogêneas de fitoplâncton impactadas por agroquímicos / Ana Carolina dos Santos -- 2022. 53f.

Dissertação (Mestrado) - Universidade Federal de São Carlos, campus São Carlos, São Carlos

Orientador (a): Victor Satoru Saito

Banca Examinadora: Hugo Miguel Preto de Moraes Sarmiento, Inessa Lacativa Bagatini, Raquel Aparecida Moreira

Bibliografia

1. Homogeneização biótica. 2. Agroquímicos. 3. Fitoplâncton. I. Santos, Ana Carolina dos. II. Título.

Ficha catalográfica desenvolvida pela Secretaria Geral de Informática (SIn)

DADOS FORNECIDOS PELO AUTOR

Bibliotecário responsável: Ronildo Santos Prado - CRB/8 7325



**UNIVERSIDADE FEDERAL DE SÃO CARLOS**

Centro de Ciências Biológicas e da Saúde  
Programa de Pós-Graduação em Ciências Ambientais

---

**Folha de Aprovação**

---

Defesa de Dissertação de Mestrado da candidata Ana Carolina dos Santos, realizada em 24/02/2022.

**Comissão Julgadora:**

Prof. Dr. Victor Satoru Saito (UFSCar)

Prof. Dr. Hugo Miguel Preto de Moraes Sarmento (UFSCar)

Profa. Dra. Inessa Lacativa Bagatini (UFSCar)

Profa. Dra. Raquel Aparecida Moreira (USP)

O Relatório de Defesa assinado pelos membros da Comissão Julgadora encontra-se arquivado junto ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Ambientais.

Aos meus pais por todo amor e apoio.

## AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente aos meus pais que são maravilhosos e porque sem eles, nada seria possível. Sou grata pelo amor, pelo carinho, suporte, todos os abraços e broncas, principalmente, por sempre me ensinarem algo novo sobre a vida, as pessoas e sobre formas novas de ver e enfrentar os problemas. Vocês me fazem mais forte e é por vocês que eu sigo tentando ser uma pessoa cada vez melhor. Amo vocês demais.

Agradeço ao tio Zé e tia Dalva, meus padrinhos incríveis que amo muito e que sempre cuidam de mim, me apoiam, me fazem dar boas risadas, mas em especial, porque vocês têm os maiores corações que eu conheço. Meus avós, que mesmo já não estando presentes, sempre foram parte importante de cada etapa vivida.

Agradeço ao meu irmão Anderson, que sempre esteve do meu lado e me incentivou, eu agradeço cada riso, cada conversa e cada briga boba de irmãos. Agradeço à minha cunhada Rachel por ter entrado nas nossas vidas e trazer tanta alegria, aos meus sobrinhos Luiza e Lucas por me lembrarem sempre das coisas mais simples da vida e que são elas que realmente importam. Amo muito vocês.

À tia Joana, que sempre foi um exemplo de dedicação e força pra mim, tia Ivanilde e tio Cláudio pela doçura e atenção, tia Ivone por todo o carinho e amor, tia Zélia, pelos ensinamentos e a todos os meus tios e tias, que mesmo distantes fazem parte da minha vida de um jeito muito especial. Agradeço à minha prima-irmã Luana, que sempre me apoia, me aconselha e sempre torce por mim mesmo distante, Cleiton e Indianara pelo suporte e todos os primos e primas.

Sou grata aos amigos, primeiramente aos amigos-irmãos que conheci na ecologia. Vagner, Rafael, Chico, Caxis, Maori, Matias, Luan, Lulis, Briza, Gabi, Gema, Helena, Camilinha e Emi, porque sem vocês esse caminho não teria sido tão maravilhoso. Vocês me dão força, incentivo, carinho e segurança. Eu agradeço muito por ter conhecido cada um de vocês e por serem tão especiais, cada um da sua maneira. Sou grata às amigas Ingrid, Jassiane, Letícia e Jessyca (Grupo de apoio) que me acompanharam na biotecnologia e que me ajudaram a seguir mais feliz pelo curso. Gui, Kamila, Monique, Marcos, Tâmela, Ingrid e Débora, muito obrigada pela amizade de longa data, eu mantenho vocês no coração. Agradeço também às minhas amigas Tamara, Karen e Yohanna, porque juntas construímos um lar, mesmo que temporário, então agradeço cada momento com vocês. Agradeço à Denici pela doçura e carinho de sempre. Ao Luiz Felipe, sou grata porque tem me ajudado e inspirado todos os dias e em cada momento desde que nos conhecemos e também pelo carinho e respeito, mas em especial, pelo companheirismo desde sempre. Por fim, quero dizer que aprendi e sigo aprendendo muito com cada um de vocês.

Agradeço a todos que participaram de alguma forma na construção do mestrado. Primeiramente à Camila, ao Gedimar e ao Neliton, porque é muito bom ter conhecido e trabalhado

com vocês e sem vocês meu mestrado não teria sido a mesma coisa. Guilherme e Rolim pelo apoio e convivência durante nosso primeiro experimento. Karime, Roberta, Ícaro e os demais alunos do DHb que de alguma forma participaram dessa etapa. Karin, Matheus, Mariana e Douglas (do DEBE) pela companhia, conselhos e conversas no laboratório. Sou grata à turma de 2019 do PPGCAm e ao apoio de todos do Saito Lab por fazerem parte dessa etapa tão importante.

Agradeço todos os professores pelos ensinamentos e dicas. Professora Inessa pela colaboração em emprestar material para o experimento. Professores Hugo, Gilmar e Odete obrigada pelo espacinho no laboratório de vocês e pelas dicas valiosas. Também agradeço ao seu Luís pela ótima companhia em todas as coletas e pelas conversas. Obrigada Ana Paula pela ajuda e pelas conversas pelos corredores do DHb. Vinícius, secretário do PPGCAm por todas as orientações e por toda a ajuda para o início, desenvolvimento e finalização do mestrado.

Ao prof. Victor, eu inicialmente agradeço que tenha aceito me orientar e me recebido tão bem. Agradeço por todos os conselhos, dicas e ensinamentos que eu vou levar pra sempre. Agradeço também por todo o suporte em cada uma das etapas. Principalmente, obrigada pelas críticas construtivas que me ajudaram muito a crescer um pouquinho mais. Por fim, acho que não poderia ter tido um orientador melhor para essa etapa da vida. Obrigada!

O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – Brasil (CAPES) - Código de Financiamento 001, CNPq, Pídict e FAPESP.

## RESUMO

Agroquímicos utilizados no cultivo da cana-de-açúcar no Brasil contaminam corpos d'água adjacentes e potencialmente causam o processo conhecido como homogeneização biótica, através de seleção de espécies e alterações nas composições de comunidades aquáticas. Em metacomunidades, a contaminação destes locais pode afetar demais corpos d'água não contaminados que estejam interligados a eles por dispersão de organismos ou compartilhamento de efluentes, por outro lado, também podemos prever que locais não impactados podem auxiliar na recuperação das comunidades locais que recebem agroquímicos diretamente, atuando como comunidades-chave e que comunidades de fitoplâncton sofreriam o processo de homogeneização biótica pela exposição aos pesticidas (e.g., fipronil) e fertilizantes (e.g., vinhaça). O primeiro pela remoção do controle *top-down* através da toxicidade para o zooplâncton e o segundo pela remoção do controle *bottom-up* pelo aumento de nutrientes, levando à eutrofização. Em contrapartida, fertilizantes também poderiam promover heterogeneização biótica por aumento de recursos, que auxiliaria no crescimento de várias espécies. Portanto, buscamos compreender as alterações na composição espacial e temporal do fitoplâncton, na presença de fipronil e vinhaça, separadamente e testar o papel das comunidades-chave na recuperação de comunidades contaminadas. Para testar nossas quatro hipóteses, utilizamos um experimento em mesocosmos ao ar livre contaminados com concentrações realistas em corpos d'água (em média 2 µg/L de fipronil e 125 mL de vinhaça para cada mesocosmo de 400 L), considerando uma abordagem de metacomunidades, com dispersão entre mesocosmos. Encontramos que a presença dos contaminantes acentuou o processo de perda de diversidade e de riqueza, mas gerou aumento de equitabilidade de abundâncias. Também observamos alteração na composição de espécies, onde as mesmas espécies responderam ao relaxamento ou remoção dos controles *top-down* e *bottom-up*, respectivamente. Pesticidas e fertilizantes, nas concentrações utilizadas, tendem a levar as comunidades de fitoplâncton à diminuição da diversidade beta, mas há posterior recuperação das comunidades, não sustentando a hipótese de homogeneização biótica. As espécies com maiores contribuições para a diversidade beta são semelhantes para ambos os contaminantes e a contribuição dos locais não tem padrão evidente, mas sugere que comunidades-chave também sofrem efeitos negativos após entrada de efluentes e organismos advindos de locais impactados. Concluimos que a presença dos contaminantes nas concentrações testadas mostra tendência à diminuição da diversidade beta para as comunidades de fitoplâncton que ainda podem ser recuperadas e seleciona espécies com características semelhantes em ambos os casos, mas principalmente, que efeitos negativos também ocorrem nas comunidades não contaminadas que recebem efluentes e organismos de comunidades contaminadas.

**Palavras-chave:** Homogeneização biótica; Diversidade beta; Fipronil; Vinhaça; Mesocosmos; Fitoplâncton.



## ABSTRACT

Agrochemicals are largely used in sugar cane production in Brazil and they contaminate water bodies and potentially they can cause a process named biotic homogenization, through species selection and changes in the aquatic species compositions. In metacommunities the contamination can affect uncontaminated and connected water bodies through organisms dispersion or effluents sharing, on the other hand we can also predict that non affected places can help the local communities to recover after agrochemicals exposure directly, acting as key-communities and that phytoplankton communities would suffer the biotic homogenization process through pesticides (e.g., fipronil) and fertilizers (e.g., vinasse) addiction. The first one would cause top-down remotion, because of its toxicity to zooplankton and the second one would cause it because of bottom-up remotion by nutrients increase, leading to eutrophication. In contrast, fertilizers could also promote biotic heterogenization as a result of resources increase, which can favour a greater quantity of species. In this study, tried to understand possible changes in phytoplankton special and temporal composition in presence of fipronil and sugarcane vinasse, separately and test how key-communities can help contaminated communities to recover. To test our four hypotheses, we conducted an experiment in mesocosms outdoor contaminated with realistic concentrations for water bodies (an average of 2  $\mu\text{g/L}$  of fipronil and 125 mL of vinasse for each 400 L mesocosm), considering a metacommunities approach, with dispersion among mesocosms. We found that the presence of the contaminants enhanced the diversity and richness loss, although it increased the species evenness. We also observed changes in the species composition, in which the same species respond to the top-down and bottom-up controls loosening or removal, respectively. Pesticides and fertilizers, in the concentrations we tested, tend to lead the phytoplankton communities to beta diversity decrease, although subsequently, the communities were able to recover, which does not support the biotic homogenization hypothesis. The species with the major contributions to beta diversity are the same for both contaminants and the patterns for local contributions were not clear, but it suggested that pristine communities had negative impacts after they received effluents and organisms from impacted locals. We concluded that the presence of contaminants in the current concentrations that are found in aquatic ecosystems can cause beta diversity decrease to phytoplankton communities that can still be recovered and that it selects species with some similar and particular characteristics in both cases, but mainly, that negative effects also occur on nonaffected communities that receive effluents and organisms from affected ones.

**keywords:** Biotic homogenization; Beta diversity; Fipronil; Vinasse; Mesocosms; Phytoplankton.

## SUMÁRIO

<b>1</b>	<b>INTRODUÇÃO.....</b>	<b>10</b>
<b>2</b>	<b>OBJETIVO.....</b>	<b>16</b>
<b>3</b>	<b>MATERIAL E MÉTODOS .....</b>	<b>17</b>
3.1	DESENHO EXPERIMENTAL.....	17
3.2	ETAPAS DE MONTAGEM E O EXPERIMENTO EM MESOCOSMOS.....	18
3.3	MONTAGEM DO EXPERIMENTO .....	19
3.3.1	Limpeza das caixas d'água.....	19
3.3.2	Preenchimento das caixas.....	19
3.3.3	Coleta e inoculação do fitoplâncton.....	20
3.3.4	Padronização do fitoplâncton .....	21
3.3.5	Coleta e inoculação do zooplâncton.....	21
3.3.6	Padronização das comunidades biológicas .....	22
3.3.7	Remoção de cianobactérias e macroinvertebrados.....	22
3.4	AMOSTRAGEM DO FITOPLÂNCTON .....	22
3.5	CONTAMINAÇÃO DOS MESOCOSMOS .....	23
3.5.1	Fipronil.....	23
3.5.2	Preparo da solução de fipronil e contaminação .....	23
3.5.3	Vinhaça .....	24
3.5.4	Composição da vinhaça .....	24
3.6	VARIÁVEIS FÍSICAS E QUÍMICAS DOS MESOCOSMOS.....	24
3.7	DISPERSÃO ENTRE MESOCOSMOS.....	25
3.8	IDENTIFICAÇÃO DO FITOPLÂNCTON .....	25
3.9	ANÁLISES DE DADOS.....	26
3.9.1	Análise de Componentes Principais (PCA) .....	26
3.9.2	Índices de diversidade.....	26
3.9.3	Composição das comunidades.....	26
3.9.4	Species Contributions to Beta diversity (SCBD) e Local Contributions to Beta Diversity (LCBD).....	27
<b>4</b>	<b>RESULTADOS .....</b>	<b>29</b>
<b>5</b>	<b>DISCUSSÃO .....</b>	<b>38</b>
<b>6</b>	<b>CONCLUSÃO.....</b>	<b>43</b>
<b>7</b>	<b>REFERÊNCIAS.....</b>	<b>44</b>
	<b>MATERIAL SUPLEMENTAR.....</b>	<b>50</b>

## 1 INTRODUÇÃO

A recente intensificação da agricultura é uma ameaça à biodiversidade. Áreas de agricultura modificam ecossistemas naturais que são habitats de inúmeras espécies animais e vegetais e sendo assim, essas alterações de paisagem frequentemente levam a modificações em padrões na biodiversidade (DONALD, 2004). Neste sentido, o Brasil é um país com grande potencial agrícola cuja capacidade vem sendo explorada consideravelmente devido, em especial, ao aumento da demanda de áreas para o cultivo de insumos para a fabricação de biocombustíveis, especialmente no estado de São Paulo para a cultura de cana-de-açúcar (MARTINELLI e FILOSO, 2008).

Mudanças de uso do solo, principalmente para a agricultura, modificam e podem comprometer a qualidade da água, isso ocorre por conta da transferência de energia e matéria entre os ecossistemas aquáticos e terrestres, levando a mudanças que tendem a causar impactos ecológicos, como por entrada de poluentes (e.g. pesticidas) (LIKENS e BORMANN, 1974). Portanto, nas culturas de cana-de-açúcar podemos destacar os danos ambientais aos ecossistemas aquáticos e sua biodiversidade devido as aplicações de agroquímicos e fertilizantes (CORBI et al., 2006). Os agrotóxicos têm como uma das finalidades controlar as pragas da agricultura, porém há uma preocupação quanto ao seu uso em relação à contaminação aquática, pois, algumas composições são capazes de se dissolverem na água ou também encontram-se agregados à materiais em suspensão, podendo gerar prejuízos aos organismos aquáticos que compõem a biodiversidade de uma região (PRIMEL et al., 2005), incluindo invertebrados aquáticos que compõem as comunidades de rios, riachos e reservatórios (e.g. CORBI et al. 2006). Deste modo, os pesticidas podem levar a uma alteração na cadeia trófica diminuindo a abundância de zooplâncton, que atuam como consumidores primários e alimentam-se do fitoplâncton, que como produtores primários possuem papel chave para a entrada de energia em cadeias tróficas de sistemas lênticos (HANAZATO, 2001).

Já os fertilizantes, são substâncias aplicadas no solo com o intuito de aumentar a disponibilidade de nutrientes importantes para o crescimento das plantas. No caso do cultivo da cana-de-açúcar, uma alternativa comum para a fertirrigação é a utilização da vinhaça, que vem a ser um resíduo gerado após o processo de destilação do mosto fermentado para fabricação do álcool. Como são geradas grandes quantidades de vinhaça na produção do álcool e por ser uma prática economicamente vantajosa, a fertirrigação foi a alternativa encontrada para destinação do resíduo. Este resíduo quando em contato com o solo e ambientes aquáticos, os altera química e fisicamente (CORTEZ; MAGALHÃES; HAPPI, 1992; ESPANA-GAMBOA et al., 2011; CHRISTOFOLETTI et al., 2013) e contribui substancialmente para a eutrofização (FUESS;

RODRIGUES; GARCIA, 2017). Isso se deve pelo aumento dos compostos limitantes ao crescimento do fitoplâncton, pela liberação de nutrientes como nitrogênio e fósforo presentes na vinhaça. Eutrofização é um tipo de processo ecossistêmico aquático no qual o sistema recebe concentrações de nutrientes que geram uma maior fertilidade, aumentando a decomposição, sem um aumento proporcional da produtividade, que está intimamente ligada ao processo de fotossíntese (ESTEVES e MEIRELLES- PEREIRA, 2011). O aumento da biomassa e diminuição da luminosidade no sistema por conta da turbidez são parte importante desse processo, bem como a liberação de gases de odor forte como resultado de atividades metabólicas dos micro-organismos decompositores e o consumo de grandes taxas de oxigênio, levando o sistema a condições anóxicas e morte de outros organismos (ESTEVES e MEIRELLES- PEREIRA, 2011). Dentre as características que são modificadas como consequência desse processo estão as mudanças na composição das comunidades fitoplanctônicas, nas quais, espécies tolerantes a ambientes eutróficos são selecionadas e substituem as menos tolerantes. Florações de cianobactérias são comuns nessas situações e esses organismos produzem metabólitos secundários que muitas vezes apresentam toxicidade (cianotoxinas) (ESTEVES e MEIRELLES- PEREIRA, 2011). Essas toxinas, como microcistinas e anatoxinas, por exemplo, são responsáveis por casos de intoxicações graves levando a morte de organismos aquáticos e até mesmo causam malefícios para a saúde humana (ZANCHETT e OLIVEIRA-FILHO, 2013).

Comumente, a ecotoxicologia, preocupada em entender os mecanismos de ação de substâncias possivelmente tóxicas, se utiliza de organismos-modelo, que são de grande utilidade, mas não são eficientes para explicar respostas ecossistêmicas à entrada dessas substâncias, isso porque desconsideram a interação entre organismos do mesmo grupo (como fitoplâncton) ou mesmo do grupo com organismos de outros níveis tróficos (SCHMITT-JANSEN et al., 2008). Portanto, com a necessidade de compreender os efeitos de potenciais poluentes sem desconsiderar aspectos importantes de comunidades e ecossistemas, abrangendo interações ecológicas o mais próximo quanto possível de ambientes naturais, os cientistas começaram a utilizar miniaturas de ecossistemas, nomeados como mesocosmos. Estes são ambientes controlados em diferentes graus, com o intuito de simular ecossistemas naturais, para preencher as lacunas que ainda existem em relação aos estudos de interações ecológicas e processos ecossistêmicos, trazendo dados mais reais de populações a ecossistemas. O uso de mesocosmos possui como vantagens, a possibilidade de usar densidades populacionais mais realistas, escalas cronológicas razoáveis e condições mais próximas das naturais (ODUM, 1984). Sendo assim, mesocosmos podem ser utilizados para o estudo de ambientes aquáticos contaminados com pesticidas e vinhaça com o intuito de investigar os efeitos dessa poluição não apenas para organismos, mas para comunidades e o ecossistema como um todo.

No nível populacional, as mudanças geradas pela entrada de poluentes podem ser observadas nas abundâncias e taxas de crescimento, porém, em comunidades, sua complexidade de organização traz poucas certezas a respeito das possíveis alterações (VAN GESTEL e VAN BRUMMELEN, 1996). No nível de comunidades podemos investigar os efeitos de agroquímicos utilizando o conceito de diversidade beta. Para Whittaker (1972), a diversidade beta é definida como “a dimensão de diferenciação de comunidades ao longo de gradientes de habitats”, ou seja, a diversidade beta é um componente da biodiversidade que quantifica a variação de composição de comunidades em escala espacial e temporal (SIQUEIRA; LACERDA; SAITO, 2015).

Dentro do contexto de diversidade beta, um padrão recorrente é o de alta similaridade entre comunidades impactadas por atividades antrópicas, marcada pela perda de espécies raras que dão lugar às espécies mais comuns, num padrão reconhecido de homogeneização biótica (OLDEN; POFF, 2003). Para esse processo, as diferenças biológicas, sendo elas taxonômicas, filogenéticas ou funcionais são perdidas e o mais comum é que se tenha uma grande similaridade na composição de espécie entre comunidades (PETSCH, 2016). Utilizando este arcabouço conceitual de homogeneização biótica e diversidade beta, esperamos que o fipronil tenha um efeito negativo indireto sobre a comunidade fitoplanctônica, que deve ocorrer devido ao efeito negativo do pesticida sobre comunidades de zooplâncton (HAYASAKA, 2014) e que levará a um efeito cascata sobre os produtores primários (RELYEA, 2005). Como os predadores tem efeito direto sobre suas presas reduzindo a população, os mesmos também poderiam em algumas situações promover a diversidade de espécies através do fenômeno de predação dependente de densidade (PAINE 1966). Neste processo os predadores se alimentam dos recursos mais abundantes, promovendo a manutenção de espécies competitivamente inferiores pelo controle populacional das espécies dominantes. Isso impede a exclusão por competição e favorece a coexistência das espécies em alguns casos (TOWNSEND; BEGON; HARPER, 2009). A ausência de controle pelo predador, segundo Paine (1966), tende a deixar o sistema mais simplificado e, nesse caso, sendo ocasionada pelo pesticida, aumenta a comunidade fitoplanctônica. Dessa forma, nossa primeira hipótese prevê que a possível falta de controle das espécies competitivamente superiores levará à dominância de algumas espécies de fitoplâncton que competem melhor por espaço e recurso e consequentemente à homogeneização biótica no tempo e espaço (H1).

Em contrapartida, a vinhaça, por ser rica em nutrientes levará ao crescimento exacerbado da comunidade de fitoplâncton por alteração no controle *bottom-up*, pois espera-se que a composição do fitoplâncton responda às alterações na disposição de nutrientes, uma vez que espécies respondem de formas diferentes aos nutrientes (REYNOLDS, 1998). Em especial, cianobactérias se desenvolvem de maneira mais intensa em relação ao fitoplâncton como um todo. A dominância deste grupo vem a partir de vantagens na captação de recursos como o fósforo e o

nitrogênio (IBELINGS et al., 2021). Estudos mostram que *blooms* de cianobactéria frequentemente ocorrem em casos em que as concentrações de fósforo são maiores do que as concentrações de nitrogênio, ou seja, o crescimento de cianobactérias segue uma baixa razão estequiométrica N:P (MOSCHINI-CARLOS et al., 2009). Neste sentido, duas hipóteses competitivas podem ser formuladas, uma sugerindo a diminuição e outra o aumento da diversidade beta. Alguns autores sugerem que o aumento da produtividade é responsável pela eutrofização que leva à dominância de cianobactérias (ZHANG et al., 2018), essas são mais resistentes e contém espécies capazes de produzir toxinas e formar florações, limitando o crescimento de outras espécies (DE CASTRO; DE OLIVEIRA MOSER, 2012), levando à homogeneização biótica. Sendo assim, hipotetizamos que a vinhaça provocará diminuição da diversidade beta do fitoplâncton, através da dominância de cianobactérias (H2). Em contrapartida, Chase (2010) sugere que a diversidade tende a aumentar uma vez que a produtividade se mostre um filtro ambiental forte e assim, nem todas as espécies conseguem sobreviver em baixa produtividade, mas muitas delas se mantêm em alta produtividade. O mesmo autor também sugere que quando é retirado este filtro de baixa produtividade pela inclusão de nutrientes, possibilita-se o estabelecimento de mais espécies diferentes e maiores chances de efeito prioridade (processos ecológicos contingenciados historicamente), o que ao longo do tempo levaria a uma alta diversidade beta espacial, pois nesses locais impactados pela vinhaça deverá haver a ocorrência de múltiplos estados de equilíbrio em relação às composições de espécies (CHASE, 2010; CHASE, 2003). Por conta disso, nossa hipótese sugere que heterogeneização biótica para o fitoplâncton é esperada após a exposição à vinhaça (H3). Neste caso o efeito prioridade levaria espécies que se estabeleceram primeiro a impedir o estabelecimento de outras espécies. Como existe uma variação natural das populações entre sistemas, é esperado que cada local seja direcionado à uma composição diferenciada, caso não exista limitação dos recursos (CHASE 2010).

É importante considerar que a entrada de poluentes como fipronil e vinhaça não geram alterações única e exclusivamente em escala local, uma vez que a conectividade entre sistemas altera as dinâmicas de contaminações e o entendimento de como isso ocorre ainda é uma grande lacuna científica (SCHIESARI et al., 2019). Devemos enfatizar que a composição e estrutura de comunidades biológicas assumem papel fundamental na incorporação de contaminantes nos ecossistemas e na transformação dos mesmos. Aqui, é importante citar que organismos tem capacidade de modificar contaminantes pelo metabolismo e ainda carregar contaminantes de um sistema a outro, por meio de dispersão. Com isso em mente, dedicar-se ao estudo de organismos dispersores em ecotoxicologia é essencial (SCHIESARI; LEIBOLD; BURTON JR, 2018), porque formam as metacomunidades, que são definidas por Leibold et al. (2004) como sendo conjuntos de comunidades locais cuja ligação entre elas é dada por organismos com capacidade de dispersão

e com potencial de interação e alteram o destino dos contaminantes (SCHIESARI; LEIBOLD; BURTON JR, 2018). Dentro da escala de metacomunidades, algumas comunidades podem assumir pesos diferentes das demais às quais se encontram interligadas. Estas comunidades são denominadas comunidades-chave e nesses casos, possuem características que são incomuns às demais (MOUQUET, 2013). Contudo, devido ao fato de que elas estão conectadas por dispersão de organismos e efluentes, comunidades-chave podem interferir de maneira positiva pela conexão de organismos e matéria. Com isso em mente, podemos hipotetizar que a presença de comunidades-chave, que se encontrem em estado de preservação, possam auxiliar na recuperação de comunidades de fitoplâncton impactadas por agrotóxicos e fertilizantes (H4).

À vista disso, podemos esperar que ambas as contaminações, seja por fipronil ou vinhaça, interferem em metacomunidades heterogêneas de fitoplâncton e por heterogêneas definimos no presente estudo como sendo metacomunidades compostas por sítios que se encontram em diferentes condições de degradação ambiental (na presença do pesticida ou da vinhaça ou em condições naturais). O fipronil deve interferir de modo a levar as comunidades fitoplanctônicas à homogeneização biótica, por diminuição do controle *top-down*, o que também pode ocorrer diante da contaminação pela vinhaça, porém a mesma também pode apresentar uma tendência de heterogeneização biótica por falta do controle *bottom-up* (Figura 1). Nossa expectativa é que apesar de poderem compartilhar o padrão de homogeneização, as composições de cada comunidade (impactadas por fipronil ou vinhaça), devam ser diferentes, pois as espécies sujeitas ao controle *top-down* e *bottom-up* não são necessariamente as mesmas.

Diante das previsões acima, neste trabalho nós utilizamos experimentos de mesocosmos aquáticos e avaliamos a resposta das comunidades fitoplanctônicas heterogêneas (em diferentes condições de contaminação) ao fipronil e a vinhaça e em consequência, como estas alterações podem levar à alteração nos padrões de diversidade beta.

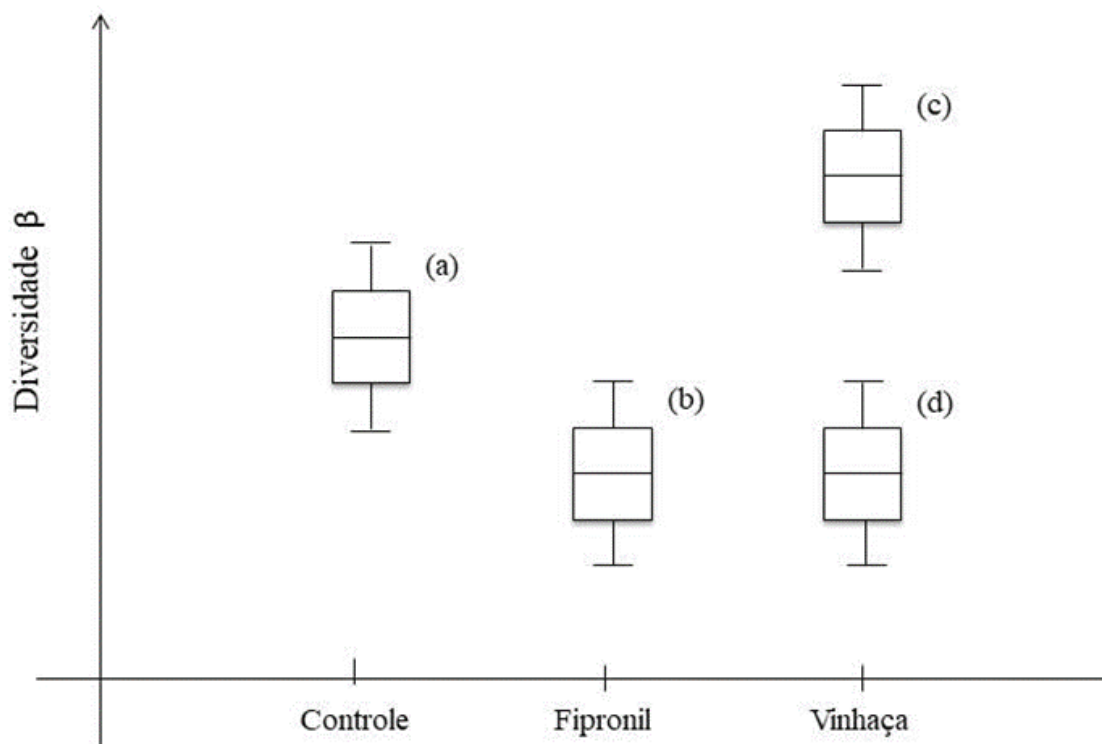


Figura 1. Predições para diversidade beta em comunidades de fitoplâncton com e sem (controle) a adição dos contaminantes fipronil e vinhaça em ecossistema aquático. A figura representa nossas expectativas em relação a diversidade beta para as comunidades de fitoplâncton, onde (a) representa a diversidade beta intermediária para o controle (sem adição de contaminantes), (b) a diversidade beta baixa para o pesticida fipronil (H1), (c) e (d) representam a diversidade beta para vinhaça (H2 e H3). Sendo que, (c) representa a hipótese de aumento da diversidade beta e (d) a diminuição da diversidade beta pela adição da mesma.



## **2 OBJETIVO**

Este estudo visou compreender como os agroquímicos fipronil e vinhaça, separadamente, alteram a composição espacial e temporal de metacomunidades fitoplanctônicas, através da comparação das composições taxonômicas antes e depois da contaminação por meio de experimentos em mesocosmos em situações com e sem comunidades-chave.

### 3 MATERIAL E MÉTODOS

#### 3.1 DESENHO EXPERIMENTAL

Utilizamos 45 caixas d'água de polipropileno com capacidade para 500 litros, que serviram para a montagem dos nossos ecossistemas artificiais. Cada mesocosmo representou uma comunidade e desse total, separamos 9 caixas para cada tratamento (controle, controle-fipronil, fipronil, controle- vinhaça e vinhaça). Três comunidades pertencentes a cada tratamento foram agrupadas para formar metacomunidades (Figura 2). Metacomunidades controle foram compostas exclusivamente de comunidade não-impactadas, enquanto metacomunidades fipronil e vinhaça foram caracterizadas exclusivamente por comunidades impactadas por fipronil e vinhaça, separadamente. Já as metacomunidades controle-fipronil e controle-vinhaça continham duas comunidades impactadas e uma comunidade prístina (comunidade- chave) em sua composição. Todos os tratamentos tiveram três réplicas e as metacomunidades foram dispostas aleatoriamente no espaço. Simulamos eventos de dispersão de organismos e efluentes entre as comunidades pertencentes a cada metacomunidade (simulação explicada com mais detalhes posteriormente). A preparação e o experimento duraram 52 dias (por conta do ciclo de vida curto dos organismos e de sustentação do próprio sistema com base em experimento piloto realizado anteriormente) e suas etapas estão descritas a seguir, da montagem do experimento até as amostragens.

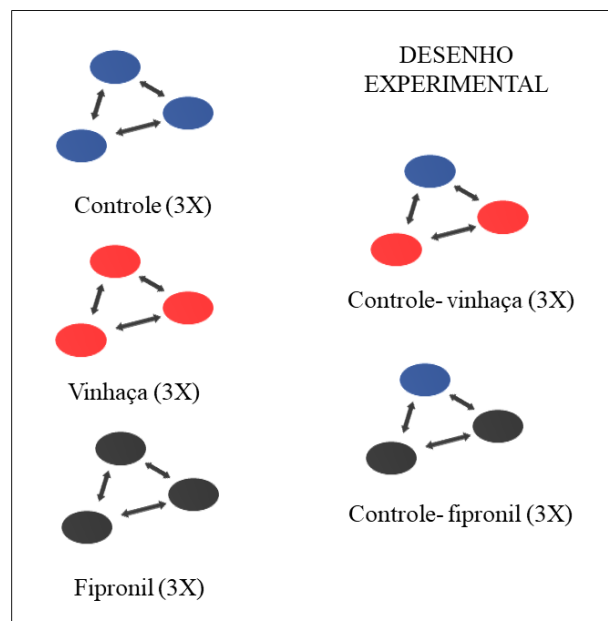
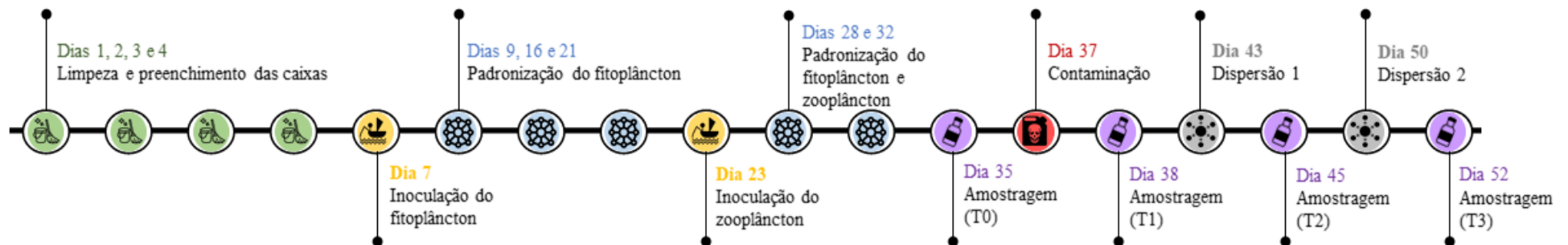


Figura 2. Representação da distribuição e composição das metacomunidades controle, vinhaça, fipronil, controle- vinhaça, controle- fipronil. Onde, as formas circulares azuis representam comunidades controle, as vermelhas comunidades impactadas com vinhaça e as pretas são as comunidades contaminadas com fipronil. As setas representam os sentidos das dispersões de organismos e efluentes entre os mesocosmos.

### 3.2 ETAPAS DE MONTAGEM E O EXPERIMENTO EM MESOCOSMOS

A linha do tempo a seguir (Figura 3) representa as etapas realizadas no experimento, em ordem cronológica, e fotos do experimento são apresentadas na figura 4.

Figura 3. Linha do tempo representando as etapas do experimento em mesocosmos.



#### Referências dos ícones, em ordem:

1- Criado por Econceptive, de Noun Project, disponível para download em: <https://thenounproject.com/icon/cleaning-3413863/> (em verde)/ 2- Criado por Ben Polland, de Noun Project, disponível para download em: <https://thenounproject.com/icon/fishing-3001931/> (em amarelo)/ 3- Criado por Omeneko, de Noun Project, disponível para download em <https://thenounproject.com/icon/distribution-2191360/> (em azul)/ 4- Criado por Nook Fulloption, de Noun Project, disponível para download em: <https://thenounproject.com/icon/glass-bottle-916274/> (em lilás)/ 5- Criado por Vectors Market, de Noun Project, disponível para download em: <https://thenounproject.com/icon/chemical-2108401/> (em vermelho)/ 6- Criado por Yu luck, de Noun Project, disponível para download em: <https://thenounproject.com/icon/distribution-359253/> (em cinza).



Figura 4. O experimento em mesocosmos. a-d: coleta de plâncton. a: Represa do Broa. b: rede de 20  $\mu\text{m}$  de malha para a coleta de fitoplâncton. c: Represa do Fazzari. d: copo da rede de plâncton de 45  $\mu\text{m}$  de malha para a coleta de zooplâncton. e: homogeneização dos mesocosmos. f: Preparo do fipronil para contaminação das caixas. g-h: amostragem do fitoplâncton. g: homogeneização da caixa e coleta da água do mesocosmo. h: amostra de água para ser fixada em lugol para conservar as células de fitoplâncton.

### 3.3 MONTAGEM DO EXPERIMENTO

#### 3.3.1 Limpeza das caixas d'água

O presente experimento ocorreu após um experimento piloto realizado 3 meses antes. Procedimentos adotados no presente experimento haviam sido utilizados previamente para o experimento piloto, que consistia em gradientes de contaminação com vinhaça e fipronil, para a determinação da concentração de fipronil e volume de vinhaça que seriam utilizados para esse experimento. Deixamos essas caixas sem uso por 45 dias para degradação dos contaminantes, em especial o fipronil (totalizando 63 dias de degradação, desde a data de contaminação com fipronil no experimento piloto, até o início da limpeza das caixas para montagem deste experimento) e após esse tempo de descanso, as deixamos de molho por alguns dias em uma solução de cloro comercial para desinfecção total das caixas. Após esse tempo, removemos a sujeira com o auxílio de buchas de cerdas macias e enxaguamos com água sem cloro (filtradas em carvão ativado). Caixas novas (não utilizadas antes) não foram deixadas de molho com cloro, mas as mesmas foram limpas da mesma forma que as anteriores.

#### 3.3.2 Preenchimento das caixas

As caixas foram preenchidas com o volume aproximado de 400 L (estabelecemos uma marca nas caixas na qual nos baseamos para o preenchimento), com água filtrada em carvão

ativado e, portanto, a água era livre de cloro. As caixas foram tampadas com telas para mosquitos.

### 3.3.3 Coleta e inoculação do fitoplâncton

A coleta de fitoplâncton para inoculação ocorreu com o auxílio de redes de plâncton de 20  $\mu\text{m}$  de abertura de malha. A coleta se deu pela filtragem de 706,5 litros de água da represa do Broa por mesocosmo (segundo a equação 1, a seguir. Sendo, quatro arrastos horizontais e quatro arrastos verticais, totalizando oito arrastos, também considerando o raio de 7,5 cm da boca da rede de plâncton e 5 m de distância percorrida pela rede na água da represa) (Figura 4 a, b). A represa do Broa possui largura e profundidade médias de respectivamente 0,9 km e 3,2 m e área superficial de 6,8  $\text{km}^2$  (TUNDISI e MATSUMURA-TUNDISI, 2014.). A represa tem seu uso para fins de recreação e frequentemente é afetada por cargas de resíduos orgânicos (RIVERA et al., 2007). O nível de trofia do reservatório tende a ser meso-oligotrófico (TUNDISI e MATSUMURA-TUNDISI, 2014.), podendo ter períodos em que se encontra em estado eutrófico, apresentando blooms de cianobactérias por conta de alterações no clima (TUNDISI et al., 2015).

O material filtrado foi primeiramente homogeneizado e distribuído em volumes iguais entre as caixas d'água. Neste momento, distribuímos cerca de 0,2% do total de água que foi filtrada para cada mesocosmo, pois, optamos por não adicionar todo conteúdo coletado, já que no dia da coleta notamos que a água da represa apresentava coloração esverdeada, pelo crescimento de cianobactérias, organismos potencialmente tóxicos, que poderiam prejudicar o crescimento e desenvolvimento dos demais organismos presentes no sistema, incluindo o zooplâncton (CARMICHAEL, 1994; SOTERO-SANTOS et al. 2006).

Além da inoculação do fitoplâncton, adicionamos 2,5 mL de fertilizante agrícola, contendo nutrientes NPK (Nitrogênio, Fósforo e Potássio; na proporção 10:10:10) em todas as caixas d'água, essa carga de nutrientes é importante para o crescimento inicial desses microorganismos fotossintetizantes, pois a água que utilizamos para preencher os mesocosmos teve seus nutrientes removidos após passar pelo carvão ativado. O volume foi escolhido de acordo com os limites estabelecidos para o fósforo total pela CETESB para sistemas oligotróficos. Escolhemos esse estado trófico porque investigamos a vinhaça como potencial agente de eutrofização.

$$V = \pi . r^2 . h . n$$

Equação 1. Volume de água filtrado pela rede de plâncton para coleta dos organismos. Onde,  $V$ : volume,  $r^2$ : raio da boca da rede de plâncton ao quadrado,  $h$ : distância percorrida pela rede de plâncton e  $n$ : quantidade de arrastos/coletas verticais.

### 3.3.4 Padronização do fitoplâncton

Com o intuito de padronizarmos o início do experimento com mesocosmos similares em relação a composição e abundância dos organismos, realizamos a mistura das comunidades de fitoplâncton em todas as caixas d'água antes de receberem os tratamentos. Essa padronização se deu por meio das redes de fitoplâncton, as mesmas utilizadas para a coleta das comunidades (20  $\mu\text{m}$ ) (Figura 4 e). Para cada um dos mesocosmos filtramos 21,19 litros de água (de acordo com a equação 1, considerando dois arrastos, o raio 7,5 cm da boca da rede de plâncton e a altura de 60 cm da caixa d'água, que corresponde à distância filtrada). O conteúdo filtrado de todas as caixas foi colocado em um recipiente, no qual padronizamos e distribuímos a mesma quantidade dessa coleta para cada uma das caixas. Após a padronização esperamos dois dias antes da coleta do zooplâncton para que o fitoplâncton pudesse se estabelecer.

### 3.3.5 Coleta e inoculação do zooplâncton

A coleta foi realizada na represa do Fazzari (21°59'05" S - 45°53'06,1" W), localizada na Universidade Federal de São Carlos (UFSCar- São Carlos) em uma área preservada de cerrado, com área total 11,370 m<sup>2</sup>, 4 m de profundidade máxima e 220 m em comprimento, tendo uma boa qualidade de água com baixa turbidez (BOTTINO et al., 2017; SAULINO e TRIVINHO- STRIXINO, 2018). A coleta foi feita nesta represa por conta da densidade de organismos que conseguimos coletar, que foi suficiente para estabelecermos uma população que conseguisse de desenvolver ao longo do experimento. Com o auxílio de redes de plâncton de 68 micrômetros (Figura 4 c, d) filtramos aproximadamente 883,1 litros (segundo equação 1) do volume da água da represa para cada mesocosmo, considerando 10 arrastos de 5 m de distância e 7,5 cm de raio da boca da rede de plâncton. Utilizamos todo o conteúdo filtrado para inocular a mesma densidade do zooplâncton em cada caixa de água. Os organismos foram inoculados para aumentar o realismo do experimento em relação à sua estrutura trófica, porém os dados não foram explorados aqui.

### 3.3.6 Padronização das comunidades biológicas

Esta padronização do fitoplâncton e zooplâncton se deu pela mesma razão e da mesma forma que a padronização de fitoplâncton (seção 3.3.4) e também com o auxílio de redes de plâncton de 20  $\mu\text{m}$  de abertura de malha para a padronização de ambos os grupos de organismos (figura 4 e). Após a padronização esperamos 3 dias para dar continuidade ao experimento. Isso para garantir o estabelecimento das comunidades. Seguimos este procedimento baseado no experimento piloto anterior.

### 3.3.7 Remoção de cianobactérias e macroinvertebrados

Adicionamos essa etapa extra, pois, pudemos observar florações de cianobactérias e colonização de macroinvertebrados em alguns dos mesocosmos. Removemos mecanicamente, utilizando redes de aquário de 3mm de abertura de malha, os aglomerados visíveis de cianobactérias e os macroinvertebrados que nos foram visíveis (antes do início do experimento). Dois dias após a coleta e inoculação do zooplâncton, vimos e removemos aglomerados visíveis de cianobactérias. Em microscopia, o professor doutor Hugo Sarmiento (DHB - UFSCar) identificou a presença de colônias de cianobactérias pertencentes ao gênero *Microcystis*. Vimos e removemos os macroinvertebrados após a inoculação de zooplâncton e sempre que os encontrávamos nas caixas até o dia da contaminação. Essa remoção foi importante, pois alguns organismos pertencentes às famílias Chironomidae e Chaoboridae (Diptera) e à ordem Odonata são predadores do zooplâncton e estavam distribuídos de forma heterogênea nos mesocosmos.

## 3.4 AMOSTRAGEM DO FITOPLÂNCION

Para os dias de amostragem, misturamos vagarosamente em movimentos circulares com o auxílio de um cano de PVC, o conteúdo de cada mesocosmo. E, em seguida, coletamos a água de cada mesocosmo, em recipientes de plástico com capacidade para 1 litro (figuras 4 g, h). O conteúdo coletado foi levado para o Laboratório de Biodiversidade e Processos Microbianos (LBPM - DHB – UFSCar- São Carlos) para ser analisado. Cerca de 250 mL da água coletada foi fixada em lugol, sendo 3 mL de lugol para 250 mL de água contendo fitoplâncton de cada mesocosmo, com porcentagem de aproximadamente 1,2% de lugol por amostra.

## 3.5 CONTAMINAÇÃO DOS MESOCOSMOS

### 3.5.1 Fipronil

Fipronil é um inseticida que faz parte da família fenilpirazol (USEPA, 1996) de amplo espectro que combate insetos considerados pragas agrícolas, através de ação no sistema nervoso central (TINGLE et al., 2003). Dentre os demais pesticidas, ele foi um dos mais frequentemente detectados em corpos d'água, no Brasil (ALBUQUERQUE et al., 2016), tem pouca solubilidade e, portanto, apresenta maior afinidade para matrizes orgânicas do que com a água (AAJOURD; RAVANEL; TISSUT, 2003). O fipronil apresenta toxicidade e capacidade de bioacumulação para vários organismos (USEPA, 1996), incluindo os organismos aquáticos (eg. zooplâncton) (eg. HAYASAKA et al., 2012). Possui toxicidade moderada em testes agudos para espécies zooplanctônicas, como *Daphnia magna*, alta toxicidade aguda para *Chironomus sancticarloi* (macroinvertebrado) e também apresenta toxicidade moderada aguda para algas, como *Scenedemus subspicatus*, dentre outros organismos (Segundo a Pesticides Properties Database, PPDB). Também foram encontrados efeitos de toxicidade do fipronil para a espécie de alga *Raphidocelis subcapitata* (MOREIRA et al., 2020).

### 3.5.2 Preparo da solução de fipronil e contaminação

Preparamos 4 L de uma solução de 2 mg/ L de fipronil. Para preparar a solução utilizamos o produto Regent® 800 WG, cujo fabricante é a empresa BASF, que contém em 80% da sua composição o fipronil, sendo o restante da composição inerte. Para contaminação, diluímos 200 mL dessa solução para cada mesocosmo para obtermos uma concentração nominal de 1,0 µg/L do ingrediente ativo fipronil (figura 4 f). A concentração utilizada do inseticida foi baseada em um experimento piloto realizado anteriormente, no qual esta concentração afetou a diversidade beta do zooplâncton de forma intermediária. A concentração real do fipronil nos mesocosmos foi determinado através de cromatografia líquida acoplada à espectrometria de massas em tandem (LC-MS/MS), realizado pelo Laboratório de Química Ambiental (LQA), do Instituto de Química (IQ) da UNICAMP e foi em média 2,0 µg/L do ingrediente ativo fipronil (limite de quantificação: 0,1 µg/L). O método para detecção da concentração do agrotóxico consistiu-se em extração em fase- sólida (SPE), no qual, a água de cada um dos nossos mesocosmos contaminado com fipronil foi coletada (um dia após a etapa de contaminação) e a mesma passou por cartuchos OASIS HBLB onde o contaminante (fipronil) ficou retido. Posteriormente, os cartuchos passaram pela etapa de secagem e após a secagem, o contaminante foi retirado dos cartuchos com solventes (fase de



eluição) e armazenados em tubos que os solventes foram levados para secagem em nitrogênio gasoso. Houve então, a ressuspensão dos metabólitos em solventes e após essa etapa, a amostra passou por um filtro de seringa hidrofílico PTFE, foi refrigerada e depois analisada em cromatografia líquida de alta eficiência (LC-MS/MS) para determinação da concentração do fipronil (princípio ativo) na água dos mesocosmos (GOULART et al., 2020).

### **3.5.3 Vinhaça**

A vinhaça tem como propriedades a coloração marrom e um odor bem forte e principalmente é rica em matéria orgânica (WALISZEWSKI; ROMERO; RARDIO, 1997). Por ser gerada em grandes quantidades passou-se a utilizá-la como fertilizante agrícola (CORTEZ; MAGALHÃES; HAPPI, 1992) e quando entra nos ecossistemas aquáticos, tende a aumentar a produtividade, por conter em sua composição altas concentrações de nitrogênio e fósforo (FUESS; RODRIGUES; GARCIA, 2017). Adicionalmente, o líquido também apresenta potencial tóxico para alguns organismos, como peixes e microcrustáceos (e.g. BOTELHO et al., 2012).

### **3.5.4 Composição da vinhaça**

A vinhaça foi obtida na Usina Ipiranga AgroIndustrial (Descalvado/SP) e para cada mesocosmo foi adicionado cerca de 125 mL de vinhaça. O volume utilizado foi baseado em um experimento piloto realizado anteriormente no qual o mesmo afetou a diversidade beta de forma intermediária para o fitoplâncton. A vinhaça bruta utilizada foi analisada pelo Laboratório de Química Ambiental (LQA), do Instituto de Química de São Carlos (IQSC), da USP e continha em média 352,7 mg/L de nitrogênio e 0,52 % M/V de fósforo. As análises de nitrogênio e fósforo foram realizadas pelo método 99 NKT Hach e 480 Hach, respectivamente (FEDERATION e APH ASSOCIATION, 2005). Considerando os 400 litros de água por mesocosmos e a adição de 125 mL de vinhaça em cada uma das caixas, tivemos 0,11 mg/L de nitrogênio e 0,000162 % M/V ou 1,62 mg/L de fósforo, aproximadamente, por mesocosmo.

## **3.6 VARIÁVEIS FÍSICAS E QUÍMICAS DOS MESOCOSMOS**

Foram realizadas, com o auxílio de uma sonda multiparâmetros da marca Horiba, as medidas das variáveis físicas e químicas da água de cada um dos mesocosmos. Sendo elas:

pH, condutividade, turbidez, oxigênio dissolvido e temperatura. Essas medições foram feitas nos mesmos dias de amostragem do fitoplâncton (figura 3).

### 3.7 DISPERSÃO ENTRE MESOCOSMOS

Para a etapa de dispersão, misturamos a água de cada tanque com canos de PVC e retiramos 4 litros de água de cada tanque. Conforme a configuração das nossas metacomunidades (Figura 2, acima), misturamos os 4 litros de cada mesocosmo pertencente a uma metacomunidade em um recipiente de plástico, totalizando 12 litros e devolvemos 4 litros para cada uma das caixas pertencentes à mesma metacomunidade. A etapa simulou eventos de dispersão em uma taxa de troca de 1% entre comunidades de uma mesma metacomunidade (baseado em GIANUCA et al., 2017).

### 3.8 IDENTIFICAÇÃO DO FITOPLÂNCTON

A identificação se deu com o auxílio de dois microscópios invertidos. Inicialmente utilizamos o microscópio da marca Carl Zeiss, no qual utilizamos um aumento de 630 X, porém, por conta da pandemia tivemos a necessidade de utilizar um outro microscópio, da marca Olympus e neste utilizamos um aumento de 400 X. Devido à diferença entre os microscópios, adotamos a medida de abundância relativa das espécies para cada mesocosmo nas análises de composição de fitoplâncton para corrigir possíveis diferenças de abundâncias totais decorrentes da contagem diferenciada em cada microscópio. Para a identificação utilizamos as amostras previamente fixadas em lugol 1,2% e utilizamos câmaras de sedimentação. A sedimentação das amostras ocorreu por pelo menos 6 horas antes da leitura de 2 mL de cada amostra. Os indivíduos foram identificados e consideramos a contagem dos indivíduos. Algas coloniais e filamentosas foram contabilizadas como indivíduos, bem como cada célula solitária. Contabilizamos as células avistadas por faixas de contagem, anotando a distância percorrida na câmara de sedimentação para cada amostra (baseado em UTERMÖHL, 1958). Ambos, distância percorrida e aumento foram considerados para as estimativas de abundâncias que posteriormente foram utilizadas nos cálculos de diversidade. Para ajudar nas identificações, utilizamos o guia de identificação de algas “*Gêneros de Algas de Águas Continentais do Brasil*” (BICUDO e MENEZES, 2004) e a série de três volumes do Prof. Dr. Pierre Bourrelly: “*Les Algues d'eau Douce*” (BOURRELLY, 1968, 1970, 1972).

### 3.9 ANÁLISES DE DADOS

#### 3.9.1 Análise de Componentes Principais (PCA)

Com os dados ambientais (variáveis físicas e químicas citada anteriormente) dos mesocosmos foi realizada uma Análise de Componentes Principais (PCA) que ordenou os objetos a partir da distância entre eles e desse modo, os dados multidimensionais são explicados em menor quantidade de dimensões, que são suficientes para explicar a variação ambiental (JAMES e MCCULLOCH, 1990), análise feita com dados padronizados em uma matriz de correlação de Pearson, para compreensão da variação ambiental em cada mesocosmo ao longo do tempo.

#### 3.9.2 Índices de diversidade

Para compreender a resposta das metacomunidades de fitoplâncton à presença do fipronil e da vinhaça, utilizamos os dados de abundância dos indivíduos de fitoplâncton para calcular o índice de diversidade de Shannon, o índice de dominância de Shannon e a riqueza total de espécies identificadas no experimento. O índice de diversidade de Shannon (SHANNON, 1948) considera que a diversidade corresponde ao número de espécies (conhecido como riqueza de espécies), relativizada pela distribuição das abundâncias entre as espécies (equitabilidade/dominância) em cada uma das nossas comunidades (LLOYD e GHELARDI, 1964). Para quantificar se houveram diferenças de diversidade, dominância e riqueza, em função do tempo e entre tratamentos utilizamos ANOVA de dois fatores (tempo e tratamentos) e posteriormente o teste de Tukey (HSD) para avaliar as comparações par-a-par no caso de efeitos significativos.

#### 3.9.3 Composição das comunidades

Para compreender quais foram as espécies mais representativas ao longo do experimento, definimos como espécies comuns todas as espécies que compunham ao menos 1% da abundância relativa dentro de pelo menos uma das nossas comunidades. Posteriormente, para estas espécies mais comuns realizamos análises multivariadas para comunidades para investigar se houve homogeneização biótica espacial dentro os tratamentos e temporal após contaminações por fipronil e vinhaça. A seleção deste grupo de espécies comuns foi necessária, pois nossos dados multivariados possuíam muitas células com 0 (inflada de zeros), pois tínhamos muitos táxons raros, o que gerava muito ruído estatístico nas

análises multivariadas desejadas. Primeiro quantificamos diferenças em composição de espécies entre tratamentos e ao longo do tempo utilizando uma Análise de Variância Multivariada Permutacional (PERMANOVA), um teste semiparamétrico que compara diferenças entre e dentro dos grupos (e.g. comparação entre controle, controle- fipronil, controle- vinhaça, vinhaça e fipronil) através das diferenças de posições dos seus centróides em eixos multidimensionais, o qual corresponde a mediana de cada grupo (ANDERSON, 2014). Em seguida, calculamos a variação dentro destas metacomunidades utilizando uma Análise de Dispersão Multivariada (PERMDISP), para a comparação da dispersão entre e dentro de cada grupo, testando se os grupos são homogêneos (hipótese nula) (ANDERSON; ELLINGSEN; MCARDLE, 2006) e como resultado temos a medida de homogeneização biótica propriamente dita. Testamos homogeneização primeiramente comparando tratamentos e tempos e posteriormente comparando tratamentos em momentos específicos (e.g. comparando tratamentos no Tempo 1). Para os cálculos de PERMANOVA e PERMDISP, os dados da matriz de abundância foram transformados para  $\log+1$  (por conta da grande quantidade de espécies raras encontradas nas amostras) e utilizamos a distância de Bray-Curtis como métrica de dissimilaridade (BRAY; CURTIS, 1957), utilizando os valores de diferenças de abundância das espécies nos mesocosmos. Para avaliar as diferenças em composição de espécies entre pares de tempo e tratamentos, utilizamos comparações pareadas com testes não- paramétricos de Dunn (DUNN, 1964), com correções para múltiplas comparações de Benjamini-Hochberg (BENJAMINI e HOCHBERG, 1995).

#### **3.9.4 Species Contributions to Beta diversity (SCBD) e Local Contributions to Beta Diversity (LCBD)**

Por fim, buscamos compreender quais eram as espécies e locais que mais contribuíram para a variação nas metacomunidades utilizando a análise Species Contributions to Beta Diversity (SCBD). Os valores que são mostrados pela SCBD são importantes para demonstrar qual o peso da contribuição de cada espécie para o valor de diversidade beta total de acordo com nossa matriz de abundância de espécies, podendo ser usados para demonstrar quando as espécies variam contribuindo mais ou menos no nosso experimento (LEGENDRE e DE CÁCERES, 2013). Também calculamos a Local Contributions to Beta Diversity (LCBD) que evidenciou quais foram os locais que contribuíram mais para a diversidade beta total, indicando os mesocosmos nos quais encontramos reunidas as espécies que de modo geral coexistem no experimento (LEGENDRE e DE CÁCERES, 2013). Valores de SCBD e LCBD

são complementares, pois, espécies com grande variação influenciam muito para a singularidade dos locais (LEGENDRE e DE CÁCERES, 2013).

As análises descritas acima foram feitas utilizando o software R (R Core Team, 2020), com os pacotes ‘Vegan’ (OKSANEN et al., 2019) e ‘Adespatial’ (DRAY et al. 2021).

#### 4 RESULTADOS

A Análise de Componentes Principais (PCA) ambiental (figura 5) demonstrou maiores variações para as mudanças ambientais temporais, nas quais, em tempos finais podemos observar aumento de pH e oxigênio dissolvido (tempos 2 e 3) e sem variações ambientais resultantes da contaminação em concentrações realistas de fipronil e vinhaça (entre tratamentos) no experimento.

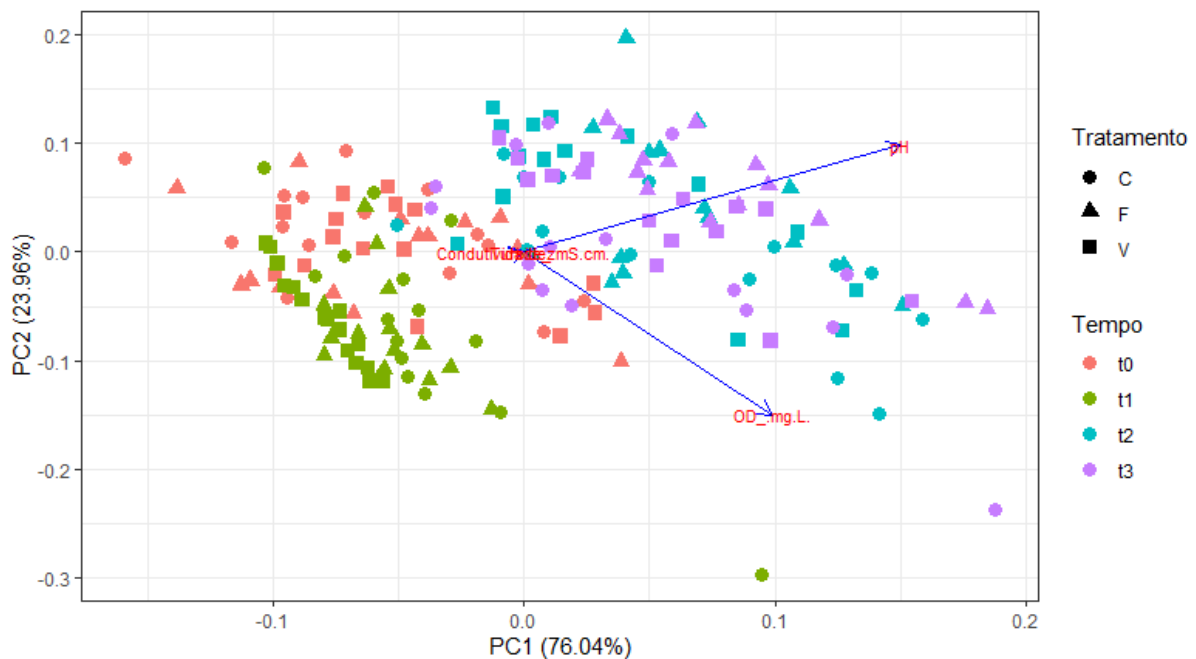


Figura 5. Análise de Componentes Principais (PCA) para dados ambientais nos mesocosmos. A figura representa variações de pH, condutividade, turbidez, oxigênio dissolvido e temperatura entre os tratamentos (C: controle, F: fipronil, V:vinhaça) e ao longo do tempo (t0- tempo 0: Tempo inicial, anterior a contaminação, t1- tempo 1: um dia após a contaminação, t2- tempo 2: oito dias após a contaminação e dois dias após a primeira dispersão dos organismos e t3- tempo 3: quinze dias após a contaminação e dois dias após a segunda dispersão dos organismos).

Identificamos um total de 108 taxa de fitoplâncton, sendo que 13 foram identificados até espécie, 35 em gêneros, 20 identificados até classe, 2 foram identificados até filo e 38 em níveis superiores. Dentre os 108 taxa, 17 foram consideradas comuns: uma Cyanophyceae (*Pseudanabaena*), 12 Chlorophyceae (*Chlorophyceae* sp1, *Chlorophyceae* sp2, *Chlorophyceae* sp5, *Didymocystis* sp1, *Didymocystis* sp2, *Scenedesmus* sp1, *Ankistrodesmus falcatus acicularis*, *Monoraphidium arcuatum* cf, *Monoraphidium circinale*, *Monoraphidium* sp2, *Kirchneriella* sp1 e sp11), 3 Chlamydoephyceae (*Chlamydoephyceae* sp1, *Chlamydoephyceae* sp2, *Chlamydoephyceae* sp3) e uma Bacillariophyceae (*Skeletonema*).

Com a contagem de indivíduos dos 108 taxa em cada mesocosmo em diferentes tratamentos e ao longo do tempo, calculamos o índice de diversidade de Shannon, o índice de

dominância de Shannon e a riqueza de táxons. A ANOVA de dois fatores mostrou que houve efeito do tempo na diversidade ( $F = 14.200$  e  $p < 0.01$ ) diminuindo ao longo do experimento (Figura 6), independentemente do tratamento de metacomunidade utilizado. A dominância ( $F = 3.758$  e  $p = 0.0121$ ) mostrou queda para os tempos finais do experimento, de modo similar à riqueza ( $F = 46.995$  e  $p < 0.01$ ). Além disso, observamos efeito dos tratamentos apenas para a riqueza ( $F = 2.565$  e  $p = 0.0403$ ). Neste contexto, as amostras pertencentes às metacomunidades controle e controle-fipronil são as que diferiram, segundo o teste de Tukey ( $T = 3.25$  e  $p$  ajustado = 0.027). Então para a riqueza, observamos queda para o controle de maneira mais sutil nos tempos intermediários, com maior queda para a última coleta, enquanto para metacomunidades controle- fipronil, controle- vinhaça e fipronil, observamos perda de riqueza mais acentuada desde os tempos intermediários. Metacomunidades impactadas com vinhaça apresentaram um comportamento diferente, onde a riqueza caiu de forma gradual e muito clara a partir do Tempo 1, um dia após a contaminação, sugerindo uma rápida resposta do fitoplâncton ao aumento de nutrientes gerado pela adição de vinhaça nos sistemas e a partir daí a queda continua ocorrendo gradualmente ao longo do tempo. Vale ressaltar que metacomunidades não impactadas (controle) também apresentaram queda de diversidade, de dominância e de riqueza ao longo do tempo, sugerindo uma tendência natural em ecossistemas artificiais (bottle effect).

## Índices de diversidade

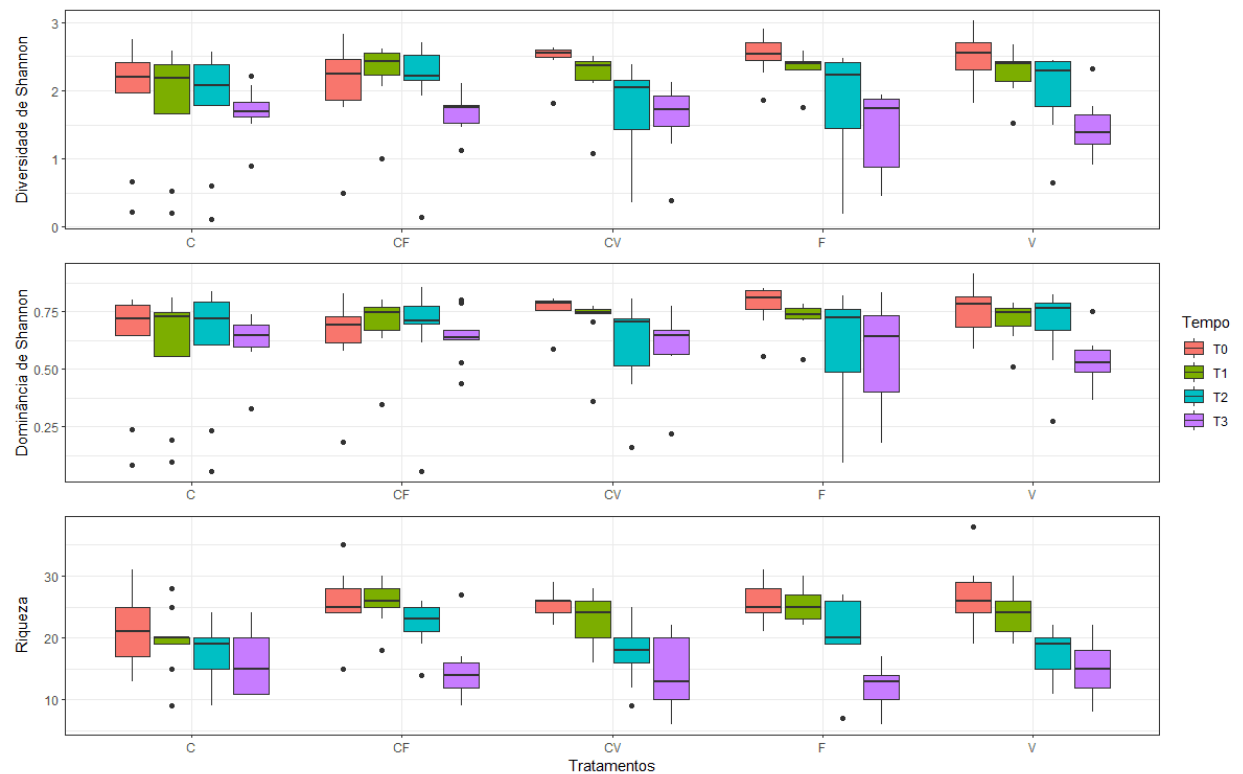


Figura 6. Índices de diversidade para comunidades de fitoplâncton nos diferentes tratamentos e ao longo do experimento. Cada gráfico representa uma métrica (diversidade de Shannon, dominância de Shannon e riqueza, respectivamente) e cada boxplot corresponde a um tratamento (3 metacomunidades, contando 3 comunidades cada), enquanto que as cores representam os momentos de coleta ao longo do experimento (T0, T1, T2, T3). No eixo X temos os tratamentos e nos eixos Y para cada gráfico temos a métrica correspondente. Sendo, C: Controle, CF: Controle- Fipronil, CV: Controle- Vinhaça, F: Fipronil e V: Vinhaça. T0 (tempo 0): Tempo inicial, anterior a contaminação, T1 (tempo 1): um dia após a contaminação, T2 (tempo 2): oito dias após a contaminação e dois dias após a primeira dispersão dos organismos e T3 (tempo 3): quinze dias após a contaminação e dois dias após a segunda dispersão dos organismos.

A PERMANOVA realizada com as espécies comuns (17 táxons) mostrou diferenças significativas para tratamento ( $F = 2.641$  e  $p = 0.001$ ) e tempo ( $F = 20.905$  e  $p = 0.001$ ). As comunidades dos diferentes tratamentos (representadas por uma PCoA) se diferenciam em escala temporal (Figura 7), onde os tempos 0 e 1 foram mais similares entre si, enquanto os tempos 2 e 3 se diferenciam mais. Nos tratamentos podemos observar uma posição bidimensional que visualmente tende a diferir para as comunidades controle, ou seja, a composição de espécies é relativamente distinta, se comparada aos tratamentos e que os tratamentos são bastante parecidos entre si. Isso significa que a composição de espécies pode variar em relação ao tempo e ao tratamento de metacomunidades e o conhecimento de quais são as espécies, nos ajuda compreender as trajetórias das mesmas ao longo do experimento (Figura 8).

Com a representação da figura 8 podemos observar que *Chlorophyceae sp1* tende a diminuir sua abundância ao longo do tempo, sendo uma diminuição mais suave em amostras



controle e mais acentuada frente a contaminação. Chlorophyceae sp1 é uma alga esférica de tamanho reduzido e com grande abundância nas amostras. Por outro lado, *Pseudanabaena* tende a aumentar sua abundância ao longo do tempo em todos os tratamentos e no controle. Este é um gênero de cianobactérias filamentosas que geralmente se adere à bainha de mucilagem de outros grupos, principalmente das colônias da cianobactéria *Microcystis* (BICUDO e MENEZES, 2006). *Microcystis* se desenvolveu com grande abundância no início do experimento, formando *blooms*, os quais removemos mecanicamente dos mesocosmos antes do início do experimento para evitar que afetasse o desenvolvimento dos demais organismos e comprometesse o experimento. *Pseudanabaena* e indiretamente *Microcystis*, são espécies que parecem ter uma relação negativa com Chlorophyceae sp1, como podemos observar na figura 8 abaixo. Outro ponto interessante quanto a trajetória dessas espécies é a grande abundância de *Monoraphidium arcuatum* cf. nas metacomunidades que sofreram impacto, inclusive quando há presença de comunidades chave. Para as espécies de *Monoraphidium* há uma relação conhecida entre o aumento da abundância do gênero em condições de aumento de nutriente (fósforo), como encontrado por Ferragut e Bicudo (2009). Isso explica a abundância do gênero nos tratamentos com vinhaça, mas surpreende o padrão de abundância similar em tratamentos com fipronil.

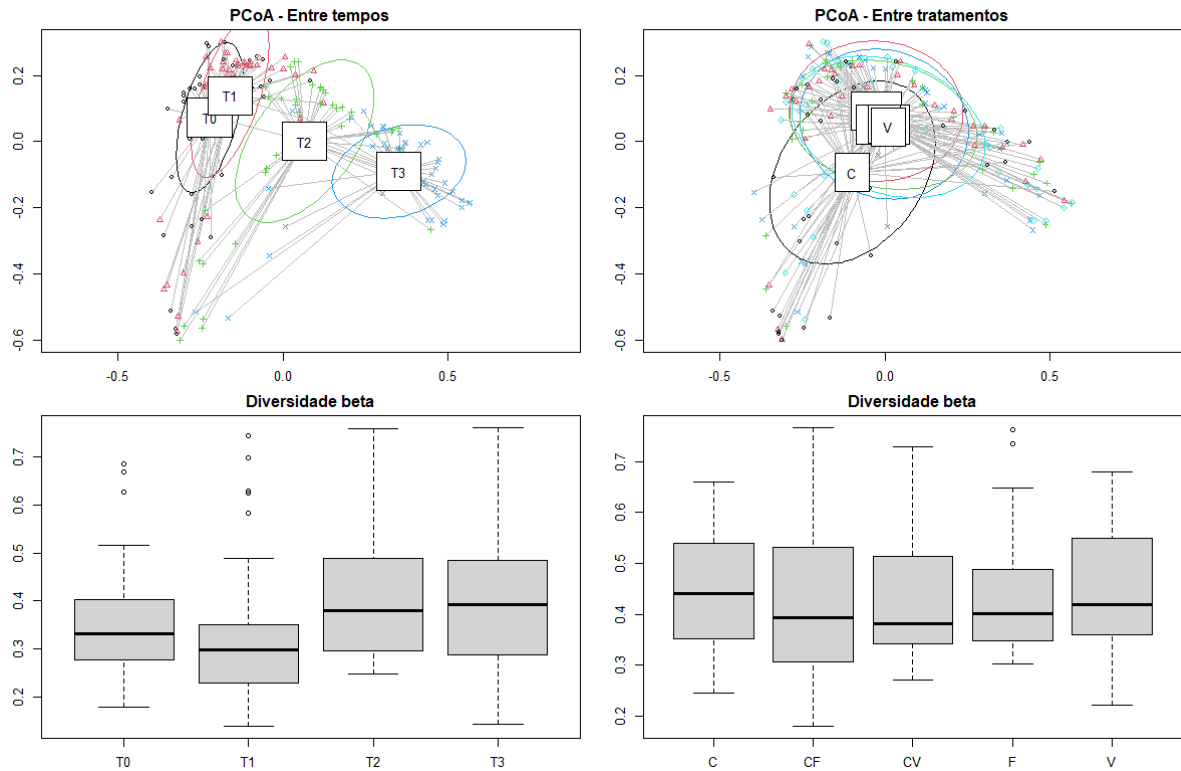


Figura 7. Diversidade beta temporal e para os tratamentos para comunidades de fitoplâncton em experimentos de mesocosmos. Os gráficos representam a diversidade beta entre tempos e tratamentos. Os gráficos acima são a representação espacial (PCoA) da diversidade beta, mostrando a dispersão e posição das comunidades no tempo e nos tratamentos. Os gráficos abaixo representam a quantificação da diversidade beta em boxplots, com medianas e quartis. Para os gráficos à esquerda, cada elipse e cada boxplot representam um tempo de coleta, sendo: T0 (tempo 0): Tempo inicial, anterior a contaminação, T1 (tempo 1): um dia após a contaminação, T2 (tempo 2): oito dias após a contaminação e dois dias após a primeira dispersão dos organismos e T3 (tempo 3): quinze dias após a contaminação e dois dias após a segunda dispersão dos organismos. Para os gráficos à direita, cada elipse e cada boxplot representam um tratamento, sendo: C: Controle, CF: Controle- Fipronil, CV: Controle- Vinhaça, F: Fipronil e V: Vinhaça.

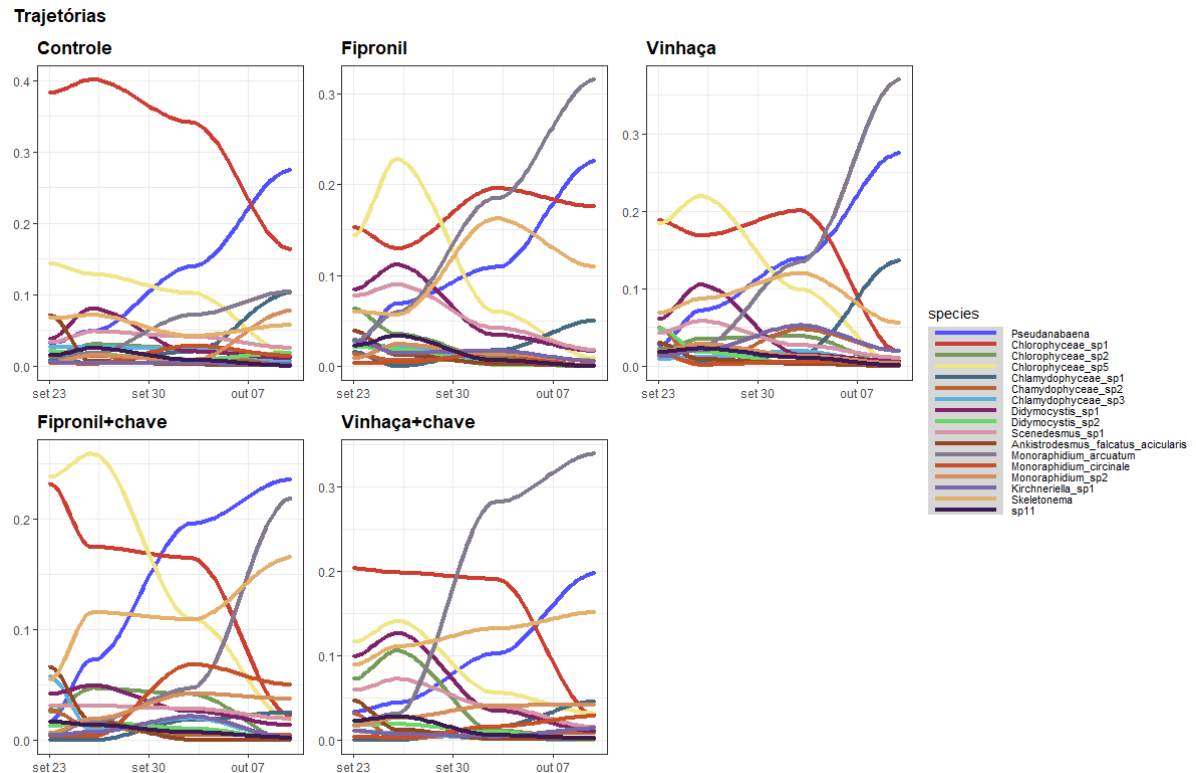


Figura 8. Dinâmica temporal de táxons nos diferentes tratamentos e ao longo do experimento. Cada gráfico representa a trajetória das mesmas espécies em cada tratamento. Cada linha representa a abundância de cada uma das espécies pertencentes ao grupo das 17 espécies mais comuns que explicam pelo menos 1% da variação dentro de alguma comunidade. No eixo Y temos a abundância relativa das espécies de fitoplâncton nos mesocosmos e no eixo X temos o tempo, sendo que T0: set 23; T1: set 26; T2: out 03 e T3: out 10.

A PERMDISP geral (todas as comunidades no espaço e tempo) indicou efeito significativo do tempo na diversidade beta dos mesocosmos (permutest:  $F = 3.727$  e  $p = 0.014$ ). O teste pareado de Dunn indicou que os pares de tempos com diferenças foram entre T1 e T2 e entre T2 e T3 ( $Z > 3.21$ ,  $P < 0.003$  após correções para comparações múltiplas). Quando analisamos o efeito dos tratamentos, não observamos um efeito significativo (permutest:  $F = 0.1922$  e  $p = 0.929$ ) (Figura 7). Quando comparamos a diversidade beta entre tratamentos, mas em cada tempo separadamente (Figura 9), temos que no Tempo 0, tempo de coleta antes da contaminação, as metacomunidades dos diferentes tratamentos não se mostraram diferentes em relação a diversidade beta ( $F = 0.496$  e  $p = 0.748$ ). Porém, a diversidade beta para fitoplâncton teve tendência à redução da diversidade beta após a ocorrência de uma contaminação por fipronil e vinhaça (Tempo 1 e 2). Apesar desta tendência, o Permutest não indicou efeitos significativos gerais dos tratamentos no tempo 0 ( $F = 0.496$  e  $p = 0.731$ ), tempo 1 ( $F = 0.7898$  e  $p = 0.55$ ), tempo 2 ( $F = 0.3143$  e  $p = 0.854$ ) e tempo 3 ( $F = 0.197$  e  $p = 0.943$ ). Ainda assim, o teste pareado de Dunn indicou tendências de diferenças entre controle e fipronil e entre controle e controle-fipronil no tempo 1, logo após a contaminação ( $Z > 1.92$ ,  $P < 0.05$ ,  $P$  ajustado  $\geq 0.27$ ). Nas metacomunidades impactadas

(controle-fipronil, fipronil, controle-vinhaça e vinhaça) há tendência de diminuição da diversidade beta (figura 9), tornando-se mais homogêneas nos tempos 1 e 2, no entanto, parecem se recuperar no final do experimento, com aumento de diversidade beta no tempo 3.

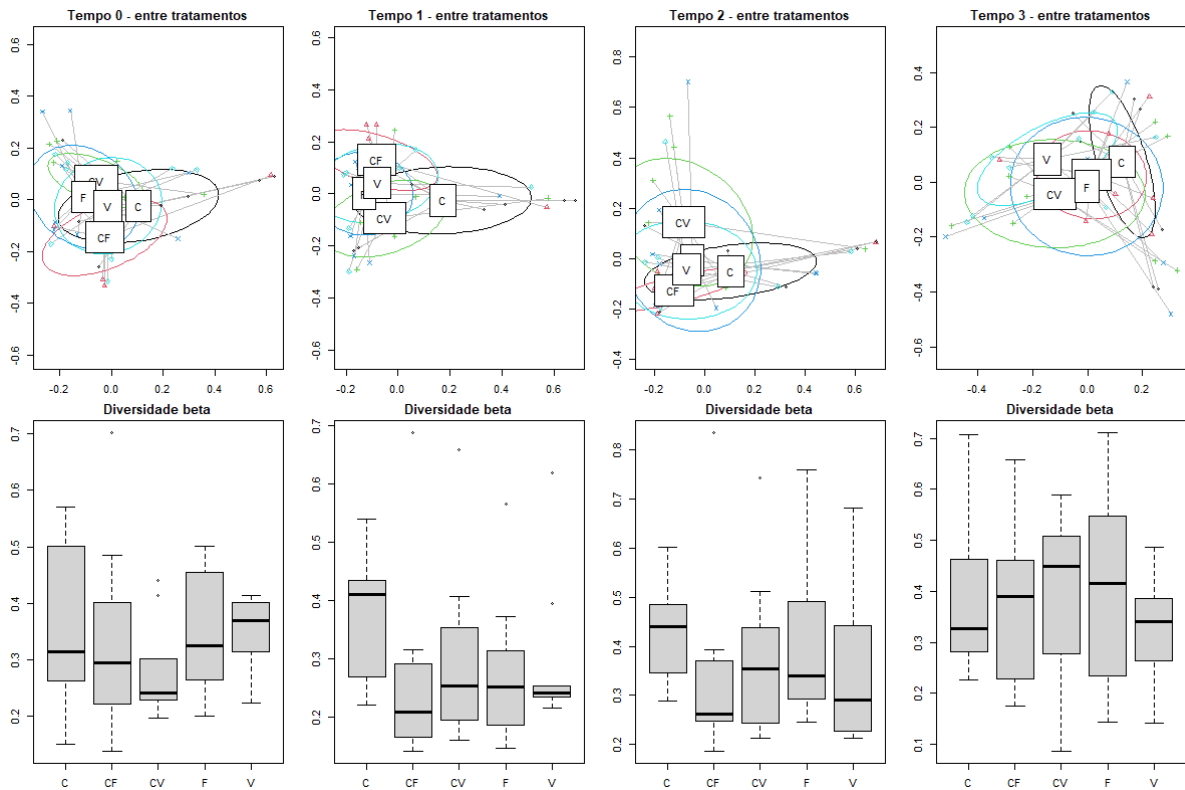


Figura 9. Diversidade beta espacial entre comunidades de fitoplâncton em cada tratamento em diferentes tempos ao longo do experimento. Na parte superior temos a ordenação espacial dos tratamentos de metacomunidades em cada tempo de coleta. Na parte inferior temos boxplots ( $n=9$ ) que representam a diversidade beta de cada tratamento em cada um dos tempos. Onde, Tempo 0: Tempo inicial, anterior a contaminação, Tempo 1: um dia após a contaminação, Tempo 2: oito dias após a contaminação e dois dias após a primeira dispersão dos organismos, Tempo 3: quinze dias após a contaminação e dois dias após a segunda dispersão dos organismos e C: Controle, CF: Controle- Fipronil, CV: Controle- Vinhaça, F: Fipronil e V: Vinhaça.

Na análise SCBD observamos uma maior contribuição de *Chlorophyceae* sp1, *Skeletonema*, *Monoraphidium arcuatum*, *Chlorophyceae* sp5 e *Pseudanabaena* para a diversidade beta de modo geral (Figura 10). A diferença mais marcante no SCBD foi que *Chlorophyceae* sp1 foi a espécie que mais contribuiu com a diversidade beta para as metacomunidades controle, *Skeletonema* contribuiu mais para metacomunidades controle-vinhaça. *Monoraphidium arcuatum* teve um comportamento interessante, porque apresentou baixa contribuição em metacomunidades controle, porém, teve elevada contribuição relativa nos outros tratamentos, em detrimento de *Chlorophyceae* sp1. Surpreende o fato que não existiram diferenças marcantes nas espécies com maiores SCBD entre tratamentos tão distintos, como aqueles impactados por fipronil e vinhaça.

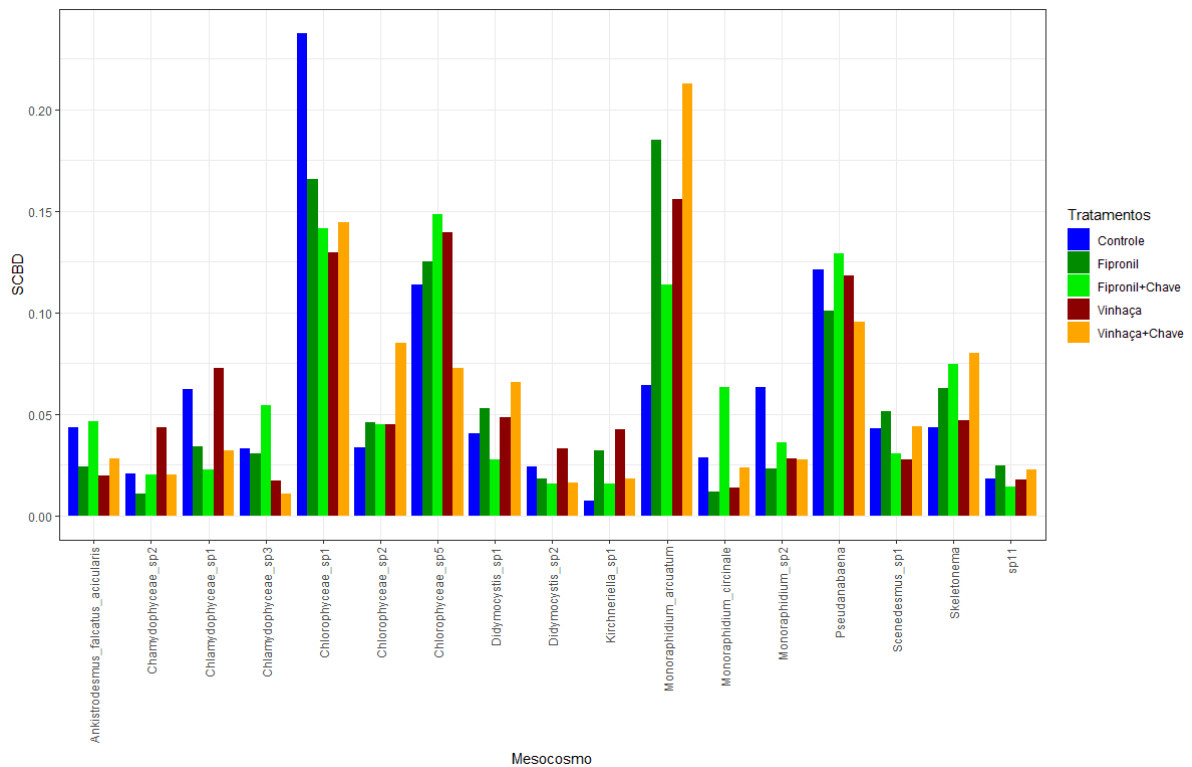


Figura 10. Contribuição de cada espécie de fitoplâncton para a diversidade beta para os tratamentos de metacomunidades. Gráfico representando a contribuição de cada espécie (das 17 espécies mais representativas) na diversidade beta (Species Contribution to Beta Diversity- SCBD). Onde, no eixo X temos o nome das espécies e no eixo Y a quantidade de contribuição para a diversidade beta e as cores das barras representam os tratamentos.

Na análise LCBD observamos que existe bastante variação na contribuição das comunidades para diversidade beta. Esta variação não pareceu se diferenciar entre tratamentos, com contribuições menores que 0.02 até próximos a 0.06 para todos os casos (Figura 11). Surpreendentemente, entre as amostras que mais influenciam a diversidade beta para as metacomunidades controle- fipronil e controle- vinhaça não são as comunidades chave (controle), em sua maioria. Estas tiveram tanto valores altos como baixos de contribuição.

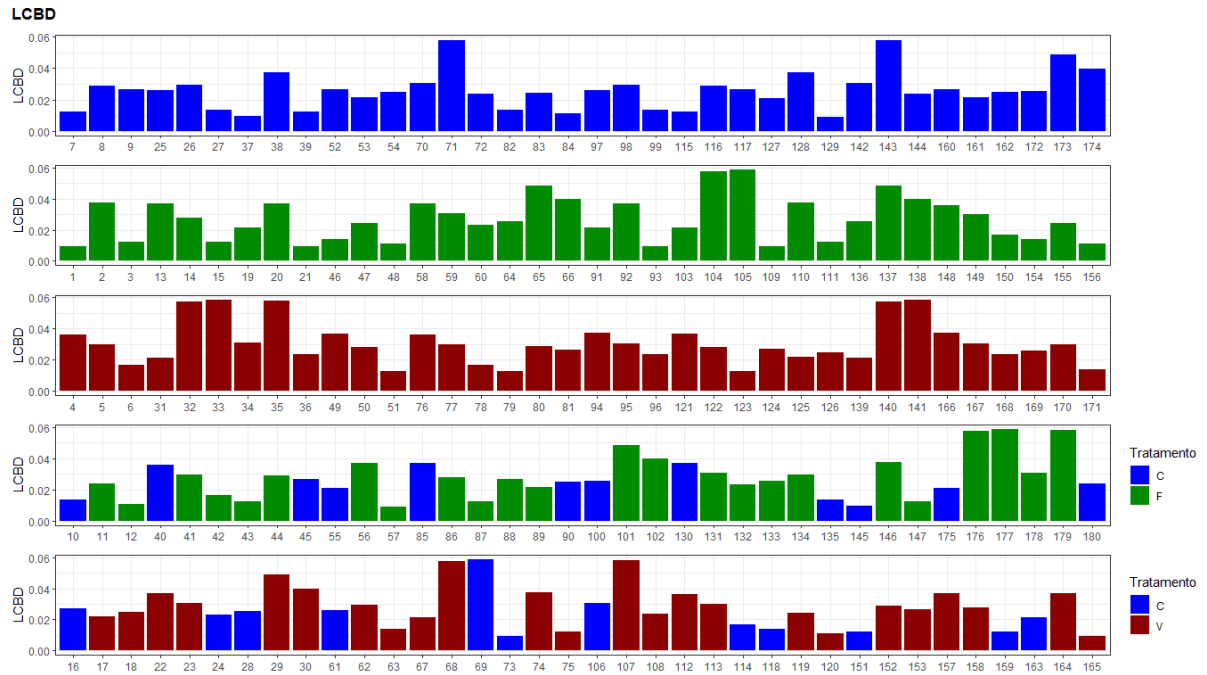


Figura 11. Contribuição de cada comunidade (local) para a diversidade beta para os tratamentos de metacomunidades ao longo do tempo (nove comunidades por tratamento em quatro coletas). Gráficos mostrando a contribuição de cada comunidade local para a diversidade beta (Local Contribution to Beta Diversity- LCBD). Onde cada cor representa um tratamento de comunidade (um mesocosmo), sendo, C: Controle, F: Fipronil e V: Vinhaça. Os gráficos com barras de uma única cor representam comunidades dentro de metacomunidades de um único tratamento, que são controle (azul), fipronil (verde) e vinhaça (vermelho), já os gráficos com mais de uma cor representam metacomunidades com tratamentos Controle-fipronil e controle-vinhaça, como a disposição desses mesocosmos é aleatória no espaço, a ordem de cores também são representadas sem padrão aparente, nesse caso.

## 5 DISCUSSÃO

Nosso experimento evidenciou como o manejo de monoculturas utilizando agrotóxicos e fertilizantes afetam as comunidades de fitoplâncton, levando a mudanças de composições e perda momentânea de diversidade beta dessas comunidades. As 17 espécies mais comuns de fitoplâncton encontradas tiveram mudanças de composição e variação da diversidade beta espacial com a presença do fipronil e da vinhaça. Isso provavelmente ocorreu pela remoção do controle top-down através do efeito cascata causado pelo fipronil ao diminuir a abundância do zooplâncton no sistema e também do relaxamento do controle bottom-up pela adição de nutrientes causado pela vinhaça. O fitoplâncton tendeu à perda de diversidade beta logo após a contaminação, sendo que são as mesmas espécies que responderam à remoção do controle bottom-up e relaxamento do controle top-down. Porém, constatamos que existe recuperação das comunidades após cerca de 15 dias de contaminação, não sustentando o processo de homogeneização biótica hipotetizado. De modo interessante, mas contrária às nossas expectativas, não encontramos efeito das comunidades-chave na recuperação das comunidades impactadas. O experimento traz um ponto importante para ser considerado em questão da sustentabilidade da agricultura, no qual comunidades não impactadas que de alguma forma encontram-se interligadas a comunidades que sofreram impactos prévios, seja por troca de efluentes ou compartilhamento de organismos, também respondem de forma negativa e acabam se comportando de maneira similar às contaminadas, tornando-se mais pobres e homogêneas. Sendo assim, comunidades de fitoplâncton tendem a ficar mais homogêneas em paisagens com presença de insumos agrícolas, independentemente de receberem descarte direto, ou de estarem interligadas pela dispersão de indivíduos e conexão dos corpos d'água.

Após o impacto negativo na diversidade beta das metacomunidades de fitoplâncton pelos agroquímicos, não encontramos o padrão de homogeneização biótica, porém alguns autores encontraram relação entre o processo de eutrofização (pelo acréscimo de nutrientes no sistema proveniente de diversas fontes de poluição, incluindo agricultura) e o processo de homogeneização biótica. Foram encontradas evidências de homogeneização biótica para diatomáceas em ambientes eutrofizados, a partir de análises de sedimentos e no fitoplâncton (WENGRAT et al., 2018; ZORZAL-ALMEIDA; BARTOZEK; BICUDO, 2021). Esse processo pode ocorrer por perdas de espécies (aninhamento) em reservatórios tropicais (ZORZAL-ALMEIDA; BARTOZEK; BICUDO, 2021). Homogeneização biótica taxonômica e filogenética pode ocorrer com dominância de alguns gêneros de cianobactérias (como

*Microcystis*) (ZHANG et al., 2021). Importante lembrar que cianobactérias pertencentes a esse gênero foram removidas do nosso experimento e que como vemos no estudo de Zhang et al. (2021), a alga tem potencial para dominar os sistemas, contribuindo para a homogeneização biótica em corpos d'água. Diferentemente dos estudos apresentados, que foram realizados em corpos d'água naturais, nosso estudo avaliou fontes muito controladas de poluição (pesticida ou vinhaça) em comunidades que passaram por apenas um evento de contaminação, fatores que podem ter contribuído para que a homogeneização biótica não tenha ocorrido para as metacomunidades analisadas. Embora variáveis ambientais tenham moldado a composição das metacomunidades de fitoplâncton com maior influência, a entrada de nutrientes tem causado mais impacto do que os agrotóxicos em sistemas lênticos, porém, o efeito sinérgico de ambos os poluentes potencializa a seleção de espécies (WIJEWARDENE et al., 2021). Com isso em mente, reafirmamos que podemos esperar que comunidades mais homogêneas ocorram em paisagens agrícolas.

Atividades agrícolas simuladas levaram as comunidades de fitoplâncton à perda de diversidade por pressões ambientais causadas pela entrada de pesticida nos sistemas aquáticos. Nosso estudo demonstra que pesticidas tendem a acentuar o processo de perda de diversidade em comparação com áreas não impactadas através da toxicidade para zooplâncton. Os dados de riqueza das metacomunidades do zooplâncton do nosso experimento (disponibilizados pela aluna de doutorado Camila Batista Vieira – UNESP, Rio Claro), apontaram que Copepoda sofreu perda de espécie após contaminação pelo pesticida (entre tempos 1 e 2), mas surpreendentemente, Cladocera não sofreu perda de riqueza significativa, bem como foi observado sinal de perda de abundância relativa para os grupos, com maior redução para Copepoda (gráficos de riqueza para zooplâncton se encontram nas figuras 1 e 2, e gráficos de abundância relativa do zooplâncton nas figuras 3 e 4, do material suplementar). Potencialmente, a presença do pesticida trouxe diminuição de riqueza para as comunidades de fitoplâncton por afetar predação, assim como observado em outros experimentos (LEIBOLD et al., 2017). Como a diversidade também é afetada pela equitabilidade nas abundâncias das espécies, ela também foi considerada e nossos resultados apontaram que na presença do pesticida, onde há perda de riqueza para Copepoda, há aumento nas abundâncias de espécies de fitoplâncton que deixam de ser ou passam a ser menos predadas. Seleção de algas e efeitos negativos do aumento exacerbado de biomassa fitoplanctônica já foram observados após intoxicação de comunidades zooplanctônicas por pesticidas, suportando nossas inferências (HURLBERT; MULLA; WILLSON, 1972; RUMSCHLAG et al., 2020). Além disso, nós observamos que várias espécies encontraram no



enfraquecimento das pressões de predação, maiores chances de desenvolvimento nos mesocosmos e aumentaram suas abundâncias. Isso pode ser explicado porque os padrões de alimentação de Copepoda e Cladocera são distintos, pois, enquanto cladóceros tendem a se alimentar de células menores de fitoplâncton, o padrão oposto é encontrado em copépodes, e dessa forma, os grupos reduzem e aumentam a abundância de espécies diferentes de fitoplâncton (SOMMER, 2001). Para nosso estudo, podemos sugerir que a diminuição de riqueza de copépodes, pode ser responsável pela permanência e aumento da densidade de espécies de fitoplâncton maiores, como por exemplo *Monoraphidium arcuatum*, pois a espécie apresentou dimensão máxima linear maior que 35µm, em estudo feito por Frau, Battauz e Sinistro (2017). Desse modo, nosso estudo corrobora a ideia de que pesticidas causam prejuízos à ecossistemas aquáticos via toxicidade e através de alterações na cadeia alimentar.

A fertilização agrícola gera perda de diversidade por enriquecimento dos corpos d'água, portanto, a vinhaça tende a acelerar o processo de perda de diversidade comparativamente as comunidades não impactadas. Comunidades de nosso estudo que responderam à uma concentração de 1,62 mg/L de fósforo no sistema (correspondente à um ambiente hipereutrófico) mostraram uma resposta clara e rápida em relação a perda de riqueza. Olhando para o quanto a vinhaça poderia alterar a equitabilidade no sistema, aqui concordamos parcialmente com o que foi proposto por Chase (2010), de que uma maior quantidade de nutrientes dá suporte para uma quantidade maior de espécies que passam a ter maiores chances de assimilação dos recursos. Dito isso, notamos que a abundância das diferentes espécies do fitoplâncton seguiu tendências distintas em relação à presença (incluindo corpos d'água indiretamente impactados, metacomunidades, e.g.) e ausência de contaminações. Observando os corpos d'água não impactados, as populações permaneceram mais estáveis, com menor queda de riqueza e com alta dominância da espécie pertencente ao gênero *Pseudanabaena*, que sendo uma cianobactéria pode apresentar adaptações para captação de nutrientes mesmo em condições limitantes (REINL et al., 2021). Sumarizando as informações apresentadas, evidenciamos a importância de monitoramento de corpos d'água com relação a entrada de nutrientes de atividades agrícolas para evitar processos acelerados de perda de diversidade de fitoplâncton, bem como demonstramos que as características de espécies podem levar a dominância delas no sistema, mesmo em ausência de contaminação.

Pesticidas e fertilizantes alteram o padrão de distribuição natural de abundâncias de espécies de fitoplâncton, onde há espécies que ganham vantagens em relação às outras. E dentre essas espécies, damos destaque à *Monoraphidium arcuatum* e Chlorophyceae sp1.

*Monoraphidium arcuatum* foi claramente muito abundante exclusivamente na presença de contaminantes. Seu ótimo desenvolvimento na presença de nutrientes (vinhaça) também foi observado por Felisberto, Leandrini e Rodrigues (2011) para locais ricos em fósforo e a diminuição da riqueza de copépodes pelo fipronil, também pode ter favorecido o crescimento de *M. arcuatum*, porque é uma espécie de tamanho grande e formatos que podem ser difíceis de serem predados (FRAU; BATTAUZ; SINISTRO, 2017). Portanto, a espécie pode exercer dominância na remoção e relaxamento dos controles *bottom-up* e *top-down*, podendo ser considerada espécie indicadora de impactos por agroquímicos. Chlorophyceae sp1, alga de formato esférico e de tamanho reduzido, que se assemelha às algas pertencentes ao gênero *Chlorella*, fortemente relacionada à locais com grandes concentrações de nutrientes (BELLINGER e SIGEE, 2010). Essa alga inicialmente dominou em locais não impactados, mas teve grande diminuição da abundância ao longo do tempo, o que poderia estar relacionado a menor disponibilidade de nutrientes em ambientes oligotróficos ao longo do tempo. Porém, a espécie apresentou menor abundância em locais impactados. Assim, notamos o quanto as características intrínsecas das espécies têm importância perante ausência ou diminuição dos controles populacionais e é o que determina o sucesso ou fracasso da espécie em se manter no sistema. Desse modo, fica claro que há seleção e favorecimento de espécies dentro dos sistemas na presença de agroquímicos.

Corpos d'água não impactados sofrem com efeitos negativos quando conectados a outros corpos d'água impactados previamente por agroquímicos. A nossa hipótese de que comunidades-chave (não impactadas) poderiam auxiliar na recuperação de comunidades impactadas não foi confirmada. Embora as comunidades-chave possam positivamente influenciar as demais comunidades (MOUQUET, 2013) e por conta disso, acreditávamos que a recolonização de organismos que poderiam ter sido extintos de sistemas contaminados pudesse aumentar a diversidade desses locais. Porém, poluentes como o fipronil, que tem maior adesão a matrizes orgânicas e capacidade de bioacumulação (AAJOUR; RAVANEL; TISSUT, 2003; USEPA, 1996) quando se encontram presentes em organismos com alguma capacidade de dispersão (biovetores), os mesmos levam contaminantes para corpos d'água receptores, onde os poluentes podem ficar disponíveis no ambiente e normalmente entram na cadeia trófica (BLAIS, 2007). De outro modo, poluentes podem entrar nos sistemas prístinos através de efluentes advindos de outras localidades, mesmo que em menores concentrações, ficando disponíveis e podendo gerar efeitos negativos para a biota aquática, via toxicidade (XUE et al., 2013). As comunidades-chave estudadas apresentaram baixa resistência e baixa resiliência quando expostas aos organismos e efluentes que continham fipronil e vinhaça,

mesmo que em concentrações mais diluídas em relação às comunidades diretamente contaminadas. Espera-se que ambientes mais resistentes absorvam pouco os impactos negativos após passarem por um evento potencialmente prejudicial (PIMM, 1984) e sendo assim, se essas comunidades-chave apresentassem mais resistência, se comportariam de forma mais similar às comunidades controle. Nesse sentido, com maior resiliência, o estado de equilíbrio logo teria sido reestabelecido com composições de espécie mais semelhantes às das comunidades com ausência total de contaminação (HOLLING, 1973; PIMM, 1984). Sendo assim, corpos d'água não impactados precisam de atenção especial, pois quando conectados a locais impactados, sofrem efeitos negativos e tem comportamento semelhante em relação a diversidade beta da maioria dos locais impactados.

## 6 CONCLUSÃO

Concluimos que o fitoplâncton é um grupo complexo diante da sua diversidade e que em ecossistemas artificiais, responde muito claramente às mudanças temporais, sendo que alguns grupos (cianobactérias) podem resistir e aumentar em abundância, enquanto a grande maioria das espécies encontram dificuldades em manter-se no sistema. Agrotóxicos e fertilizantes tendem a causar impacto negativo na diversidade das metacomunidades de fitoplâncton, mesmo que algumas concentrações em eventos únicos de exposição em ecossistemas aquáticos ainda causem respostas sutis e aparentemente recuperáveis para o fitoplâncton, notamos seleção de espécies de acordo com suas características, como as pertencentes ao gênero *Monoraphidium*, sendo capazes de chegar a dominar sistemas após impactos. Além disso, a diversidade beta de fitoplâncton responde de forma similar diante da exposição ao fipronil e vinhaça, mesmo que estes atuem de forma muito distinta através das dinâmicas *top-down* e *bottom-up*. E por fim, a dispersão de organismos fitoplanctônicos é um evento complexo, no qual, comunidades preservadas podem passar a responder de modo similar às comunidades impactadas ao receberem organismos e efluentes provenientes das mesmas.

## 7 REFERÊNCIAS

AAJOUND, A.; RAVANEL, P.; TISSUT, M. Fipronil metabolism and dissipation in a simplified aquatic ecosystem. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, v. 51, n. 5, p. 1347-1352, 2003.

ALBUQUERQUE, A. F. et al. Pesticides in Brazilian freshwaters: a critical review. *Environmental Science: Processes & Impacts*, v. 18, n. 7, p. 779-787, 2016.

ANDERSON, M. J.; ELLINGSEN, K. E.; MCARDLE, B. H. Multivariate dispersion as a measure of beta diversity. *Ecology letters*, v. 9, n. 6, p. 683-693, 2006.

ANDERSON, M. J. Permutational multivariate analysis of variance (PERMANOVA). *Wiley statsref: statistics reference online*, p. 1-15, 2014.

BELLINGER, E. G.; SIGEE, D. C. *Freshwater algae identification and use as bioindicators*. 1. ed. Oxford: John Wiley & Sons, Ltd, 2010.

BENJAMINI, Y.; HOCHBERG, Y. Controlling the false discovery rate: a practical and powerful approach to multiple testing. *Journal of the Royal statistical society: series B (Methodological)*, v. 57, n. 1, p. 289-300, 1995.

BICUDO, C.E.M.; MENEZES, M. *Gêneros de algas de águas continentais do Brasil: chave para identificação e descrições*. 2.ed. São Carlos: RiMa, 2006.

BLAIS, J. M. et al. Biologically mediated transport of contaminants to aquatic systems. *Environmental Science & Technology*, v. 41, n. 4, p. 1075-1084, 2007.

BOTELHO, R. G. et al. Acute toxicity of sugarcane vinasse to aquatic organisms before and after pH adjustment. *Toxicological & Environmental Chemistry*, v. 94, n. 10, p. 2035-2045, 2012.

BOTTINO, F. et al. Influence of the residue from an iron mining dam in the growth of two macrophyte species. *Chemosphere*, v. 186, p. 488-494, 2017.

BOURRELLY, P. *Les algues d'eau douce. Initiation à la systématique. Tome I: Les algues vertes*. Paris: N. Boubée et Cie, 1972.

BOURRELLY, P. *Les algues d'eau douce. Initiation à la systématique. Tome II: Les algues jaunes et brunes: Chrysophycées, Phéophycées, Xanthophycées et Diatomées*. Paris: N. Boubée et Cie, 1968.

BOURRELLY, P. *Les algues d'eau douce. Initiation à la systématique. Tome III: Les algues bleues et rouge. Les Eugléniens, Péridiniens et Cryptomonadines*. Paris: N. Boubée et Cie, 1970.

BRAY, J. R.; CURTIS, J.T. An ordination of the upland forest communities of southern Wisconsin. *Ecological monographs*, v. 27, n. 4, p. 326-349, 1957.

- CARMICHAEL, W. W. The toxins of cyanobacteria. *Scientific American*, v. 270, n. 1, p. 78-86, 1994.
- CHASE, J. M. Community assembly: when should history matter?. *Oecologia*, v. 136, n. 4, p. 489-498, 2003.
- CHASE, J. M. Stochastic community assembly causes higher biodiversity in more productive environments. *Science*, v. 328, n. 5984, p. 1388-1391, 2010.
- CHRISTOFOLETTI, C. A. et al. Sugarcane vinasse: environmental implications of its use. *Waste management*, v. 33, n. 12, p. 2752-2761, 2013.
- CORBI, J. J. et al. Diagnóstico ambiental de metais e organoclorados em córregos adjacentes a áreas de cultivo de cana-de-açúcar (Estado de São Paulo, Brasil). *Química Nova*, v. 29, n. 1, p. 61-65, 2006.
- CORTEZ, L.; MAGALHÃES, P.; HAPPI, J. Principais subprodutos da agroindústria canavieira e sua valorização. *Revista Brasileira de Energia*, v. 2, n. 2, p. 111, 1992.
- DE CASTRO, N. O.; DE OLIVEIRA MOSER, G. A. Florações de algas nocivas e seus efeitos ambientais. *Oecologia Australis*, v. 16, n. 2, p. 235-264, 2012.
- DONALD, P. F. Biodiversity impacts of some agricultural commodity production systems. *Conservation biology*, v. 18, n. 1, p. 17-38, 2004.
- DRAY, S. et al. (2021). adespatial: Multivariate Multiscale Spatial Analysis. R package version 0.3-14. <https://CRAN.R-project.org/package=adespatial>.
- DUNN, O. J. Multiple comparisons using rank sums. *Technometrics*, v. 6, n. 3, p. 241-252, 1964.
- ESPANA-GAMBOA, E. et al. Vinasses: characterization and treatments. *Waste management & research*, v. 29, n. 12, p. 1235-1250, 2011.
- ESTEVES, F. de A.; MEIRELLES- PEREIRA, F. Eutrofização Artificial. In: ESTEVES, F. de A. *Fundamentos de Limnologia*. 3ª edição. Interciência, Rio de Janeiro, 2011.
- FEDERATION, W. E.; APH ASSOCIATION. Standard methods for the examination of water and wastewater. *American Public Health Association (APHA)*: Washington, DC, USA, v. 21, 2005.
- FELISBERTO, S. A.; LEANDRINI, J. A.; RODRIGUES, L. Effects of nutrients enrichment on algal communities: an experimental in mesocosms approach. *Acta Limnologica Brasiliensia*, v. 23, p. 128-137, 2011.
- FERRAGUT, C.; BICUDO, D.C. Efeito de diferentes níveis de enriquecimento por fósforo sobre a estrutura da comunidade perifítica em represa oligotrófica tropical (São Paulo, Brasil). *Brazilian Journal of Botany*, v. 32, p. 571-585, 2009.

- FRAU, D.; BATTAUZ, Y.; SINISTRO, R. Why predation is not a controlling factor of phytoplankton in a Neotropical shallow lake: a morpho-functional perspective. *Hydrobiologia*, v. 788, n. 1, p. 115-130, 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*, v. 52, n. 11, p. 1063-1072, 2017.
- GIANUCA, A. T. et al. Effects of dispersal and environmental heterogeneity on the replacement and nestedness components of  $\beta$ -diversity. *Ecology*, v. 98, n. 2, p. 525-533, 2017.
- GOULART, B. V. et al. Matrix effect challenges to quantify 2, 4-D and fipronil in aquatic systems. *Environmental Monitoring and Assessment*, v. 192, n. 12, p. 1-12, 2020.
- HANAZATO, T. Pesticide effects on freshwater zooplankton: an ecological perspective. *Environmental pollution*, v. 112, n. 1, p. 1-10, 2001.
- HAYASAKA, D. et al. Differences in susceptibility of five cladoceran species to two systemic insecticides, imidacloprid and fipronil. *Ecotoxicology*, v. 21, n. 2, p. 421-427, 2012.
- HAYASAKA, D. Study of the impacts of systemic insecticides and their environmental fate in aquatic communities of paddy mesocosms. *Journal of Pesticide Science*, v. 39, n. 3, p. 172-173, 2014.
- HOLLING, C. S. Resilience and stability of ecological systems. *Annual review of ecology and systematics*, v. 4, n. 1, p. 1-23, 1973.
- HURLBERT, S. H.; MULLA, M. S.; WILLSON, H. R. Effects of an organophosphorus insecticide on the phytoplankton, zooplankton, and insect populations of fresh-water ponds. *Ecological Monographs*, v. 42, n. 3, p. 269-299, 1972.
- IBELINGS, B. W. et al. Understanding the occurrence of cyanobacteria and cyanotoxins. In: CHORUS, I.; WELKER, M. *Toxic cyanobacteria in water: a guide to their public health consequences, monitoring and management*. Taylor & Francis, 2021.
- JAMES, F. C.; MCCULLOCH, C. E. Multivariate analysis in ecology and systematics: panacea or Pandora's box?. *Annual review of Ecology and Systematics*, v. 21, n. 1, p. 129-166, 1990.
- LEGENDRE, P.; DE CÁCERES, M. Beta diversity as the variance of community data: dissimilarity coefficients and partitioning. *Ecology letters*, v. 16, n. 8, p. 951-963, 2013.
- LEIBOLD, M. A. et al. Herbivory enhances the diversity of primary producers in pond ecosystems. *Ecology*, v. 98, n. 1, p. 48-56, 2017.
- LEIBOLD, M. A. et al. The metacommunity concept: a framework for multi-scale community ecology. *Ecology letters*, v. 7, n. 7, p. 601-613, 2004.
- LIKENS, G. E.; BORMANN, F. H. Linkages between terrestrial and aquatic ecosystems. *BioScience*, v. 24, n. 8, p. 447-456, 1974.

LLOYD, M.; GHELARDI, R. J. A table for calculating the 'equitability' component of species diversity. *The Journal of Animal Ecology*, p. 217-225, 1964.

MARTINELLI, L. A.; FILOSO, S. Expansion of sugarcane ethanol production in Brazil: environmental and social challenges. *Ecological applications*, v. 18, n. 4, p. 885-898, 2008.

MOSCHINI-CARLOS, V. et al. Cyanobacteria and cyanotoxin in the Billings reservoir (São Paulo, SP, Brazil). *Limnetica*, v. 28, n. 2, p. 0273-282, 2009.

MOREIRA, R. A. et al. 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, p. 111180, 2020.

MOUQUET, N. et al. Extending the concept of keystone species to communities and ecosystems. *Ecology Letters*, v. 16, n. 1, p. 1-8, 2013.

ODUM, E. P. The mesocosm. *BioScience*, v. 34, n. 9, p. 558-562, 1984.

OKSANEN, J. F. et al (2019). vegan: Community Ecology Package. R package version 2.5-6. <https://CRAN.R-project.org/package=vegan>.

OLDEN, J. D.; POFF, N. L. Toward a mechanistic understanding and prediction of biotic homogenization. *The American Naturalist*, v. 162, n. 4, p. 442-460, 2003.

PAINE, R. T. Food web complexity and species diversity. *The American Naturalist*, v. 100, n. 910, p. 65-75, 1966.

Pesticides Properties Database (PPDB). Fipronil (Ref: BAS 3501) (disponível em: <http://sitem.herts.ac.uk/aeru/ppdb/en/Reports/316.htm>).

PETSCH, D. K. Causes and consequences of biotic homogenization in freshwater ecosystems. *International Review of Hydrobiology*, v. 101, n. 3-4, p. 113-122, 2016.

PIMM, S. L. The complexity and stability of ecosystems. *Nature*, v. 307, n. 5949, p. 321-326, 1984.

PRIMEL, E. G. et al. Poluição das águas por herbicidas utilizados no cultivo do arroz irrigado na região central do estado do Rio Grande do Sul, Brasil: predição teórica e monitoramento. *Química Nova*, v. 28, p. 605-609, 2005.

R Core Team (2020). R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. URL <https://www.R-project.org/>.

REINL, K. L. et al. Cyanobacterial blooms in oligotrophic lakes: Shifting the high-nutrient paradigm. *Freshwater Biology*, v. 66, p. 1846-1859, 2021.

RELYEA, R. A. The impact of insecticides and herbicides on the biodiversity and productivity of aquatic communities. *Ecological applications*, v. 15, n. 2, p. 618-627, 2005.

REYNOLDS, C. S. What factors influence the species composition of phytoplankton in lakes of different trophic status?. *Hydrobiologia*, v. 369, p. 11-26, 1998.



- RIVERA, E. C. et al. Systems models to evaluate eutrophication in the Broa Reservoir, São Carlos, Brazil. *Ecological Modelling*, v. 202, n. 3-4, p. 518-526, 2007.
- RUMSCHLAG, S. L. et al. Consistent effects of pesticides on community structure and ecosystem function in freshwater systems. *Nature communications*, v. 11, n. 1, p. 1-9, 2020.
- SAULINO, H. H. L.; TRIVINHO-STRIXINO, S. Native macrophyte leaves influence more specialisation of neotropical shredder chironomids than invasive macrophyte leaves. *Hydrobiologia*, v. 813, n. 1, p. 189-198, 2018.
- SCHIESARI, L. et al. Towards an applied metaecology. *Perspectives in ecology and conservation*, v. 17, n. 4, p. 172-181, 2019.
- SCHIESARI, L.; LEIBOLD, M. A.; BURTON JR, G. A. Metacommunities, metaecosystems and the environmental fate of chemical contaminants. *Journal of applied ecology*, v. 55, n. 3, p. 1553-1563, 2018.
- SCHMITT-JANSEN, M. et al. An ecological perspective in aquatic ecotoxicology: Approaches and challenges. *Basic and Applied Ecology*, v. 9, n. 4, p. 337-345, 2008.
- SHANNON, C. E. A mathematical theory of communication. *The Bell system technical journal*, v. 27, n. 3, p. 379-423, 1948.
- SIQUEIRA, T.; LACERDA, C. G. L. T.; SAITO, V. S. How does landscape modification induce biological homogenization in tropical stream metacommunities?. *Biotropica*, v. 47, n. 4, p. 509-516, 2015.
- SOMMER, U. et al. Complementary impact of copepods and cladocerans on phytoplankton. *Ecology letters*, v. 4, n. 6, p. 545-550, 2001.
- SOTERO-SANTOS, R. B. et al. Toxicity of a cyanobacteria bloom in barra bonita reservoir (middle tieté river, São Paulo, Brazil). *Ecotoxicology and Environmental Safety*, v. 64, n. 2, p. 163-170, 2006.
- TINGLE, C. C. D et al. Fipronil: environmental fate, ecotoxicology, and human health concerns. in: WARE, G.W. *Reviews of environmental contamination and toxicology*. Nova Iorque: Springer, 2003. p. 1-66.
- TOWNSEND, C. R.; BEGON, M.; HARPER, J. L. *Fundamentos em ecologia*. 3 ed. Artmed Editora, 2009.
- TUNDISI, J. G. et al. A bloom of cyanobacteria (*Cylindrospermopsis raciborskii*) in UHE Carlos Botelho (Lobo/Broa) reservoir: a consequence of global change?. *Brazilian Journal of Biology*, v. 75, p. 507-508, 2015.
- TUNDISI, J. G.; MATSUMURA-TUNDISI, T. The ecology of UHE Carlos Botelho (Lobo-Broa Reservoir) and its watershed, São Paulo, Brazil. *Freshwater Reviews*, v. 6, n. 2, p. 75-91, 2014.
- USEPA- United States Environmental Protection Agency. *Fipronil Pesticide fact sheet*. Washington. DC: USA. EPA 737-F-96-005, 1996 (disponível em: <https://nepis.epa.gov>).

UTERMÖHL, H. Zur vervollkommnung der quantitativen phytoplankton-methodik: Mit 1 Tabelle und 15 abbildungen im Text und auf 1 Tafel. *Internationale Vereinigung für theoretische und angewandte Limnologie: Mitteilungen*, v. 9, n. 1, p. 1-38, 1958.

VAN GESTEL, C. A. M.; VAN BRUMMELEN, T. C. Incorporation of the biomarker concept in ecotoxicology calls for a redefinition of terms. *Ecotoxicology*, v. 5, n. 4, p. 217-225, 1996.

XUE, B. et al. Antibiotic contamination in a typical developing city in south China: occurrence and ecological risks in the Yongjiang River impacted by tributary discharge and anthropogenic activities. *Ecotoxicology and environmental safety*, v. 92, p. 229-236, 2013.

WALISZEWSKI, K. N.; ROMERO, A.; PARDIO, V. T. Use of cane condensed molasses solubles in feeding broilers. *Animal feed science and technology*, v. 67, n. 2-3, p. 253-258, 1997.

WENGRAT, S. et al. Paleolimnological records reveal biotic homogenization driven by eutrophication in tropical reservoirs. *Journal of paleolimnology*, v. 60, n. 2, p. 299-309, 2018.

WHITTAKER, R. H. Evolution and measurement of species diversity. *Taxon*, v. 21, n. 2-3, p. 213-251, 1972.

WIJEWARDENE, L. et al. Influences of pesticides, nutrients, and local environmental variables on phytoplankton communities in lentic small water bodies in a German lowland agricultural area. *Science of The Total Environment*, v. 780, p. 146481, 2021.

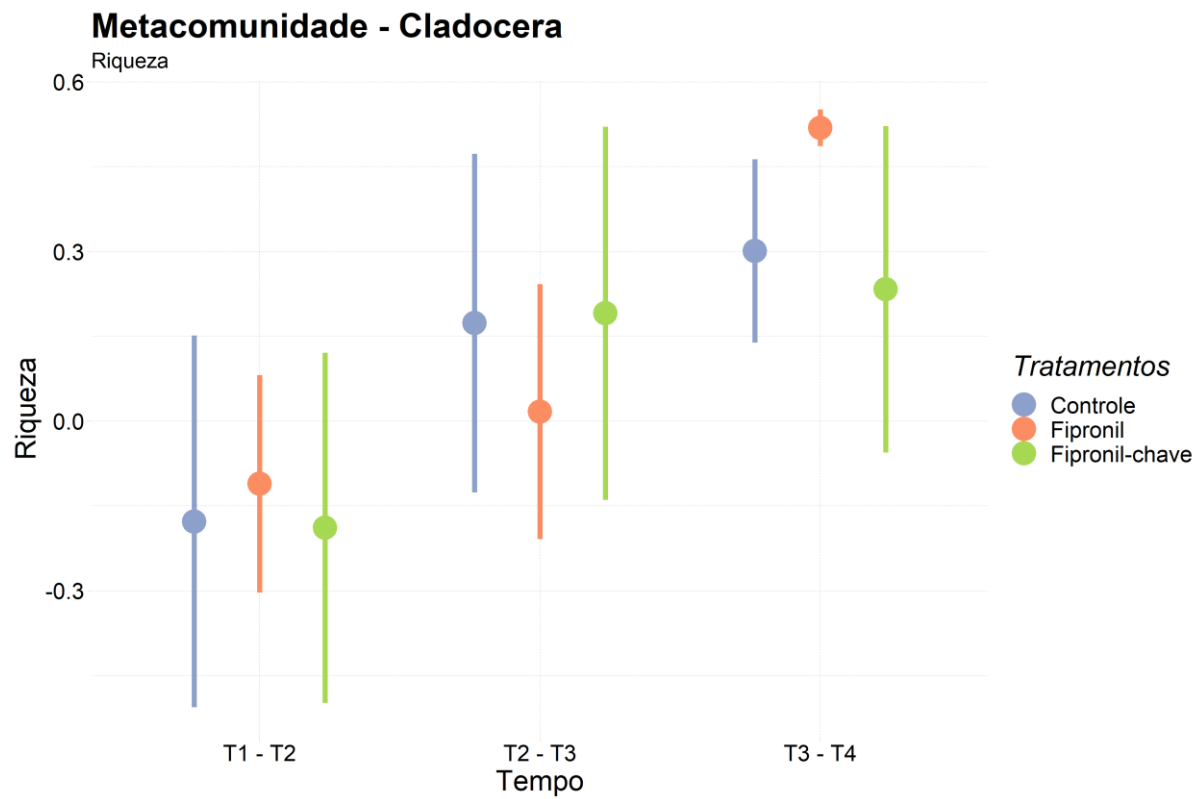
ZANCHETT, G.; OLIVEIRA-FILHO, E. C. Cyanobacteria and cyanotoxins: from impacts on aquatic ecosystems and human health to anticarcinogenic effects. *Toxins*, v. 5, n. 10, p. 1896-1917, 2013.

ZHANG, H. et al. Homogenization of reservoir eukaryotic algal and cyanobacterial communities is accelerated by dam construction and eutrophication. *Journal of Hydrology*, v. 603, p. 126842, 2021.

ZHANG, M. et al. Dynamics and drivers of phytoplankton richness and composition along productivity gradient. *Science of the Total Environment*, v. 625, p. 275-284, 2018

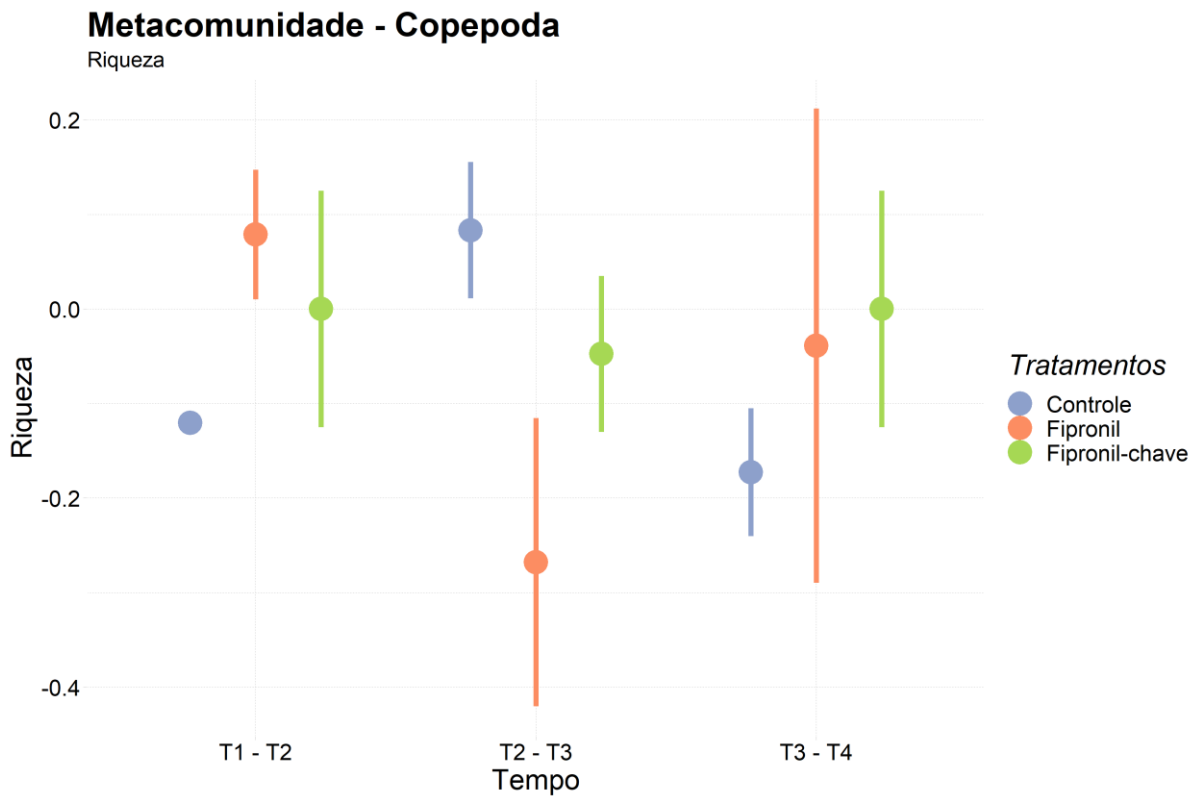
ZORZAL-ALMEIDA, S.; BARTOZEK, E. C. R.; BICUDO, D. C. Homogenization of diatom assemblages is driven by eutrophication in tropical reservoirs. *Environmental Pollution*, v. 288, p. 117778, 2021.

## MATERIAL SUPLEMENTAR



Fonte: Camila Batista Vieira.

Figura 1. Riqueza de metacomunidades de zooplâncton (grupo Cladocera) para os tratamentos (controle, fipronil, fipronil- chave). Sendo que: Tempo 1: Tempo inicial, anterior a contaminação, Tempo 2: um dia após a contaminação, Tempo 3: oito dias após a contaminação e dois dias após a primeira dispersão dos organismos, Tempo 4: quinze dias após a contaminação e dois dias após a segunda dispersão dos organismos.



Fonte: Camila Batista Vieira.

Figura 2. Riqueza de metacomunidades de zooplâncton (grupo Copépoda) para os tratamentos (controle, fipronil, fipronil- chave). Sendo que: Tempo 1: Tempo inicial, anterior a contaminação, Tempo 2: um dia após a contaminação, Tempo 3: oito dias após a contaminação e dois dias após a primeira dispersão dos organismos, Tempo 4: quinze dias após a contaminação e dois dias após a segunda dispersão dos organismos.

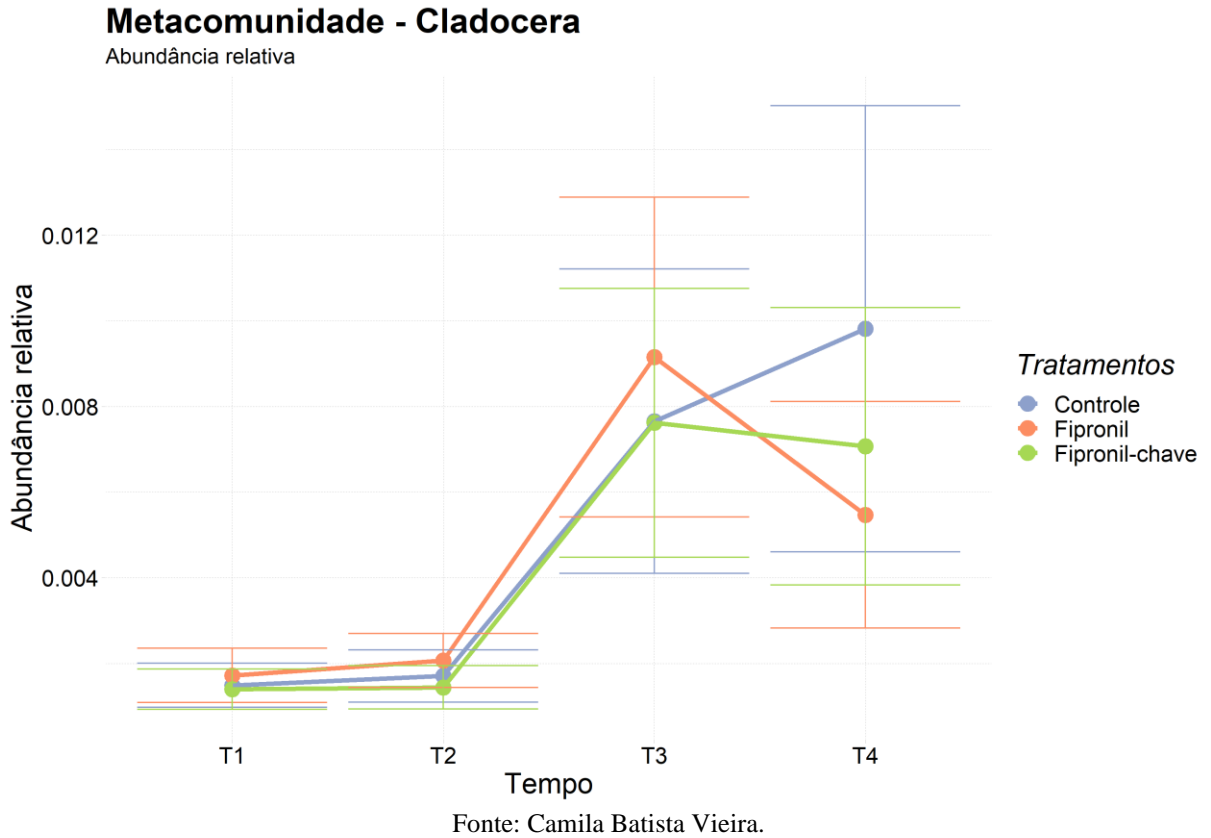


Figura 3. Abundância relativa das metacomunidades de zooplâncton (grupo Cladocera) para os tratamentos (controle, fipronil, fipronil- chave). Sendo que: Tempo 1: Tempo inicial, anterior a contaminação, Tempo 2: um dia após a contaminação, Tempo 3: oito dias após a contaminação e dois dias após a primeira dispersão dos organismos, Tempo 4: quinze dias após a contaminação e dois dias após a segunda dispersão dos organismos.

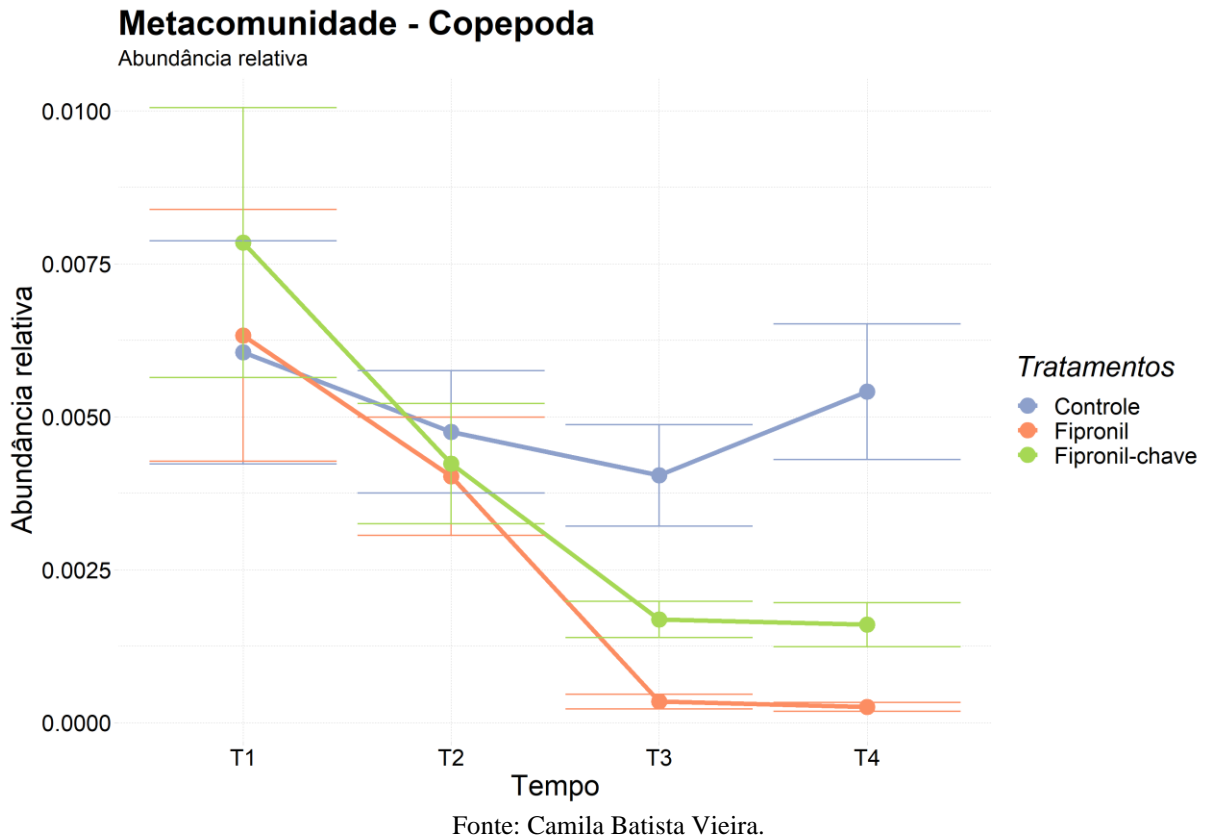


Figura 4. Abundância relativa das metacomunidades de zooplâncton (grupo Copepoda) para os tratamentos (controle, fipronil, fipronil- chave). Sendo que: Tempo 1: Tempo inicial, anterior a contaminação, Tempo 2: um dia após a contaminação, Tempo 3: oito dias após a contaminação e dois dias após a primeira dispersão dos organismos, Tempo 4: quinze dias após a contaminação e dois dias após a segunda dispersão dos organismos.