

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

**DOUGLAS DE PÁDUA ANDRADE**

**ESTRUTURA E DINÂMICA DA RECOLONIZAÇÃO DE INVERTEBRADOS**  
**AQUÁTICOS EM UM LAGO TEMPORÁRIO EM UMA ÁREA PRESERVADA**  
**DE CERRADO E EFEITOS DE METAIS SOBRE ALGUMAS ESPÉCIES**

**São Carlos–SP**

**2020**

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

**DOUGLAS DE PÁDUA ANDRADE**

**ESTRUTURA E DINÂMICA DA RECOLONIZAÇÃO DE INVERTEBRADOS  
AQUÁTICOS EM UM LAGO TEMPORÁRIO EM UMA ÁREA PRESERVADA  
DE CERRADO E EFEITOS DE METAIS SOBRE ALGUMAS ESPÉCIES**

**Tese apresentada ao Programa de Pós graduação em Ecologia e Recursos Naturais do Centro de Ciências Biológicas e da Saúde da Universidade Federal de São Carlos, como parte dos requisitos para obtenção do título de Doutor em Ciências, área de concentração em Ecologia e Recursos Naturais.**

**Orientadora:** Prof<sup>ª</sup>. Dra. Odete Rocha.

**Co-orientadora:** Prof<sup>ª</sup>. Dra. Raquel Aparecida Moreira

**São Carlos–SP**

**2020**

UNIVERSIDADE FEDERAL DE SÃO CARLOS  
Centro de Ciências Biológicas e da Saúde  
Programa de Pós-Graduação Ecologia e Recursos Naturais



UNIVERSIDADE FEDERAL DE SÃO CARLOS  
Centro de Ciências Biológicas e da Saúde  
Programa de Pós-Graduação em Ecologia e Recursos Naturais

---

Folha de Aprovação

---

Assinaturas dos membros da comissão examinadora que avaliou e aprovou a Defesa de Tese de Doutorado do candidato Douglas de Padua Andrade, realizada em 09/03/2020:

---

Profa. Dra. Odele Rocha  
UFSCar

---

Profa. Dra. Adriaine da Silva Marzano Damfeld  
UFSCar

---

Prof. Dr. Victor Satoru Saito  
UFSCar

---

Profa. Dra. Denise Tieme Okumura  
Biotox Ambiental

---

Prof. Dr. Juliano José Corbi  
EESCUSP

## RESUMO

Dada a urgência em se utilizar espécies nativas como organismos-teste em estudos de toxicidade que reflitam as propriedades típicas dos sistemas tropicais e a necessidade de se analisar agentes tóxicos ou contaminantes e avaliar possíveis efeitos nas populações, comunidades e nas interações ecológicas. Este estudo teve por objetivo analisar a comunidade de invertebrados e os fatores que determinam a colonização em uma lagoa temporária situada no Cerrado brasileiro, a fim de gerar informações das espécies que compõem a estrutura trófica local, para posterior realização de testes de toxicidade com cobre (sulfato de cobre), cádmio (cloreto de cádmio) e mercúrio (cloreto de mercúrio) utilizando espécies nativas. Foram determinadas as faixas de sensibilidade de nove espécies nativas, sendo dois anfíbios (*Boana faber* e *Scinax fuscovarius*), um peixe (*Astyanax paranae*), quatro insetos aquáticos (*Culex* sp., *Berosini* sp., *Anax* sp. e *Belostoma* sp.), um Oligochaeta (*Dero digitata*) e um Cladocera (*Macrothrix spinosa*). Posteriormente foram realizados testes de interações ecológicas expondo dois predadores (*Anax* sp. e *Belostoma* sp.) a concentrações subletais dos metais estudados, e analisando as taxas de predação e seletividade alimentar sobre quatro presas (*Ceriodaphnia silvestrii*, *Ilyocryptus spinifer*, *Dero digitata* e *Chironomus inquinatus*). Os metais testados, cádmio, mercúrio e cobre se destacam por sua alta toxicidade e amplo uso em processos industriais, bem como por seu alto poder de bioacumulação ao longo da cadeia trófica. Os resultados mostraram uma que a colonização dos invertebrados em lagoas temporárias de pequeno ocorre em baixas riquezas nos primeiros dias e aumenta gradualmente entre os 90 dias observados com o aumento das precipitações, profundidade e desenvolvimento da macrófita aquática *Mayaca fluviatilis*, principal componente do substrato da lagoa. Os testes de toxicidade mostram que o cobre apresenta alta toxicidade para os para anfíbios, peixe e cladócera. Os macroinvertebrados demonstram serem mais tolerantes que os demais organismos. O cádmio foi mais tóxico para o cladócera e para os macroinvertebrados (exceto *Belostoma* sp.), sendo os vertebrados mais tolerantes. Já o mercúrio, foi o mais tóxico para todas as espécies, sendo *Anax* sp. o mais tolerante e o *M. spinosa* o mais sensível. Nos testes de predação foi constatado que predadores expostos aos metais apresentaram menores taxas de predação em maiores concentrações, assim como se tornam mais seletivos aos itens alimentares, rejeitando cladóceros e preferindo organismos com maiores biomassa como o *C. inquinatus*

**Palavras-chave:** Espécies nativas; Bentos; Zooplâncton, Anfíbios, Metais tóxicos.

## AGRADECIMENTOS

- À professora Dra. Odete Rocha. Por todos os ensinamentos e paciência;
- A minha co-orientadora Raquel Aparecida Moreira. Pelos ensinamentos e amizade.
- Ao CNPQ pela concessão da bolsa de estudos;
- À Universidade Estadual de Minas Gerais – campus pela minha formação. Agradeço de maneira especial a Prof<sup>a</sup> Dra<sup>a</sup> Odila Rigolin de Sá cujos ideais para sempre me inspirarão;
- Aos docentes, Coordenação e Secretaria do Programa de Pós-Graduação em Ecologia e Recursos Naturais pela formação
- Aos docentes que participaram da minha banca de qualificação e de defesa da Tese; agradeço pelo tempo cedido e pelas tantas contribuições ao trabalho;
- Aos funcionários e, antes disso, amigos do DEBE: Edna, Luiz e José Valdecir pelo carinho e companheirismo dentro e fora do laboratório.
- Aos meus pais e irmãos por serem o fundamento de tudo que se tornou minha vida.
- E a todos que diretamente ou indiretamente estiveram envolvidos com a realização deste trabalho.

## LISTA DE FIGURAS

### CAPÍTULO 1

Figura 1: Lago Mayaca, localizado no município de São Carlos, SP, Brazil (21° 01' S, 47° 53' W). Acesso em 02/03/2020: <a href="https://earth.google.com/web/@-21.96739736,47.8838574,864.38886344a,277.83201586d,35y,0h,0t,0r/data=CjcaNRIvGVYOLbKdzXAIcQCuoog8UfAKhsyMcKwNTgnMDIuMSJTIDQ3wrA1MycwMS43IlcYASAB">https://earth.google.com/web/@-21.96739736,47.8838574,864.38886344a,277.83201586d,35y,0h,0t,0r/data=CjcaNRIvGVYOLbKdzXAIcQCuoog8UfAKhsyMcKwNTgnMDIuMSJTIDQ3wrA1MycwMS43IlcYASAB</a>	23
Figura 2: Lagoa do Mayaca, localizado no município de São Carlos, SP, Brazil (21° 01' S, 47° 53' W) no dia 26 de outubro de 2018 após a primeira cheia.	24
Figura 3: Lagoa do Mayaca, localizado no município de São Carlos, SP, Brazil (21° 01' S, 47° 53' W) no dia 13 de janeiro de 2019.	24
Figura 4: Variação da riqueza (número de táxons) de macro-invertebrados bentônicos, em função da variação na biomassa (A) e do comprimento (B) da macrófita <i>Mayaca fluviatilis</i> biomassa ao longo do período experimental (90 dias).	31
Figura 5: Variação na riqueza do número de táxons da comunidade de macroinvertebrados bentônicos (A) em função da profundidade da lagoa (em cm) e (B) da precipitação pluviométrica na área da lagoa (mm), ao longo do período experimental (90 dias).	31
Figura 6: Análise de Componentes Principais relacionando as variáveis físicas e químicas da água e as abundâncias dos componentes da comunidade de macroinvertebrados bentônicos em 90 dias de colonização na Lagoa Mayaca, São Carlos, SP.	32
Figura 7: Variação na riqueza de táxons da comunidade zooplanctônica (A) em função da profundidade e da biomassa (fresca e seca) da macrófita <i>Mayaca fluviatilis</i> na lagoa (em cm) e (B) da precipitação pluviométrica na área da lagoa (mm), ao longo do período experimental (90 dias).	35
Figura 8: Variação na densidade total de organismos (no. de indivíduos/m <sup>3</sup> ) da comunidade zooplanctônica (A) em função da profundidade (em m <sup>3</sup> ) e (B) em função da precipitação pluvial (em mm) na área da lagoa Mayaca, ao longo do período experimental de 90 dias, (26 de outubro de 2018 a 24 de janeiro de 2019).	36
Figura 9: Variação na densidade do grupo Rotifera (A) e (B) da espécie <i>Lecane lunaris</i> (Rotifera, Lecanidae), em função da profundidade da Lagoa Mayaca (em cm) ao longo dos 90 dias de recolonização.	37

Figura 10: Variação na densidade do grupo Cladocera (A) e (B) das espécies <i>A. dadayi</i> , <i>I. spinifer</i> e <i>M. spinosa</i> , em função da profundidade da Lagoa Mayaca (em cm) ao longo dos 90 dias de recolonização. ....	37
Figura 11: Análise de Componentes Principais relacionando as variáveis físicas e químicas da água com as abundâncias dos táxons da comunidade zooplanctônica aos 90 dias de colonização na Lagoa Mayaca, São Carlos-SP. ....	38

## CAPÍTULO 2

Figura 1: Vista geral dos organismos-teste utilizados no presente estudo para a realização de testes de toxicidade com metais: o peixe <i>Astyanax paranae</i> (A); o Odonata <i>Anax</i> sp. (B); o anfíbio <i>Scinax fuscovarius</i> (C); o anfíbio <i>Boana faber</i> (D); o coleóptero <i>Berosini</i> sp. (E); o hemíptero <i>Belostoma</i> sp. (F); o cladóceros <i>Macrothrix spinosa</i> (G); o díptero <i>Culex</i> sp. (H) e o oligoqueto <i>Dero digitata</i> (I) ©David Liittschwager, 2015....	59
Figura 2: Faixas de sensibilidade das espécies nativas tropicais de oligoqueta (A) <i>Dero digitata</i> , do hemíptero ( <i>Belostoma</i> sp.) (B) e do díptero (C) <i>Culex</i> sp. ao composto de referência sulfato de cobre ( $\text{CuSO}_4$ ) como indicado nos 20 testes de toxicidade aguda realizados com cada espécie. Os limites superior e inferior dos intervalos de confiança de 95% também são indicados nas figuras. ....	65
Figura 3: Distribuições de sensibilidade de espécies (SSD) construídas com valores médios de $\text{CL}_{50-96}$ h (todas as espécies) e $\text{CE}_{50-48\text{h}}$ (para o cladóceros <i>Macrothrix spinosa</i> ) para espécies testadas com o metal sulfato de cobre no presente estudo.....	68
Figura 4: Distribuição da sensibilidade de espécies (SSD) construída com valores médios de $\text{CL}_{50-96}$ h (todas as espécies) e $\text{CE}_{50-48\text{h}}$ (para o cladóceros <i>Macrothrix spinosa</i> ) para espécies testadas com o metal cloreto de cádmio no presente estudo. ....	69

## CAPÍTULO 3

Figura 1: Intervalos de sensibilidade das espécies tropicais nativas de anfíbios (A) <i>Scinax fuscovarius</i> (B) <i>Boana faber</i> ao sulfato de cobre ( $\text{CuSO}_4$ ). Os limites superior e inferior dos intervalos de confiança de 95% também são indicados nas figuras. ....	86
Figura 2: Curvas de distribuição da sensibilidade de espécies (SSD) em relação com base nos valores de $\text{CL}_{50-96}$ h dos metais cobre, cádmio e mercúrio sobre duas espécies de anuros tropicais ( <i>Boana faber</i> e <i>Scinax fuscovarius</i> ) e diversas outras espécies de vertebrados aquáticos (peixes e anfíbios) e invertebrados (crustáceos e insetos). (A)	

Sulfato de cobre; (B) Cloreto de cádmio; (C) Cloreto de mercúrio, evidenciando as frações de espécies afetadas à medida que aumentam os valores das concentrações letais..... 90

#### CAPÍTULO 4

Figura 1: Comparação entre as taxas médias de predação da Odonata *Anax sp.* e do Hemíptera *Belostoma sp.* quando expostos ao sulfato de cobre, ao cloreto de cádmio e ao cloreto de mercúrio. O eixo y está representado em valores decimais da porcentagem máxima de consumo de presas (1= 100%). ..... 108

Figura 2: Consumo de presas (em %) pelo *Anax sp.*, em relação ao número inicialmente oferecido de cada presa, nos tratamentos sem exposição (controle) e nos tratamentos com exposição ao sulfato de cobre (A), cloreto de cádmio (B) e cloreto de mercúrio (C) por 24 horas. O eixo y está representado em valores decimais da porcentagem máxima de consumo de presas (1 = 100%). ..... 109

Figura 3: Consumo de presas (em %) pelo *Belostoma sp.*, em relação ao número inicialmente oferecido de cada presa, nos tratamentos sem exposição (controle) e nos tratamentos com exposição ao sulfato de cobre (A), cloreto de cádmio (B) e cloreto de mercúrio (C) por 24 horas. O eixo y está representado em valores decimais da porcentagem máxima de consumo de presas (1 = 100%). ..... 111

## LISTA DE TABELAS

### CAPÍTULO 1

Tabela 1: Valores médios e desvio padrão dos parâmetros obtidos para as variáveis físicas e químicas medidas em quatro pontos da lagoa Mayaca, município de São Carlos, SP. ....	27
Tabela 2: Abundância e riqueza de táxons registrados na comunidade de macroinvertebrados bentônicos em quatro pontos amostrados quinzenalmente na Lagoa Mayaca, município de São Carlos, SP ao longo dos primeiros 90 dias de recolonização após um período de seca total. ....	29
Tabela 3: Desenvolvimento da macrófita <i>Mayaca fluviatilis</i> nos 90 dias de colonização da lagoa Mayaca, São Carlos. ....	30
Tabela 4: Densidade e riqueza da comunidade zooplanctônica da Lagoa Mayaca em São Carlos-SP no período de 90 dias de colonização. ....	34
Tabela 5: Relação das espécies indicadoras (*) ( $p < 0,05$ ), nas comunidades de macroinvertebrados bentônicos e zooplâncton da Lagoa Mayaca, São Carlos-SP, com base nos resultados. ....	39
Tabela 6: Índices ecológicos de diversidade, equitabilidade e dominância para a comunidade de macroinvertebrados bentônicos e zooplanctônica. ....	40

### CAPÍTULO 2

Tabela 1: Concentrações utilizadas nos testes de toxicidade com o sulfato de cobre, cloreto de cádmio e cloreto de mercúrio para as oito espécies de teste. Em todos os testes, um tratamento controle (concentração de metal = 0 mg/L) também foi incluído. As concentrações de teste são fornecidas em mg/L. ....	61
Tabela 2: Valores médios e respectivos desvios-padrão para variáveis físicas e químicas medidas no início e no final dos experimentos com as nove espécies da biota aquática tropical ( <i>B. faber</i> = <i>Boena faber</i> ; <i>S. fuscovarius</i> = <i>Scinax fuscovarius</i> ; <i>D. digitata</i> = <i>Dero digitata</i> ; <i>M. spinosa</i> = <i>Macrothrix spinosa</i> ; <i>A. paranae</i> = <i>Astyanax paranae</i> ). ....	63
Tabela 3: Valores médios ( $\pm$ desvio-padrão) da CL <sub>50</sub> -96 h (todas as espécies) e CE <sub>50</sub> -48h (para o cladóceros <i>Macrothrix spinosa</i> e o díptero <i>Culex</i> sp.) dos metais sulfato de cobre (CuSO <sub>4</sub> ), cloreto de cádmio (CdCl <sub>2</sub> ) e cloreto de mercúrio (HgCl <sub>2</sub> ) obtidos em testes de toxicidade aguda para as nove espécies da biota aquática tropical. ....	66

Tabela 4: HC<sub>5</sub> e HC<sub>50</sub> (concentração de perigo para 5% e 50% das espécies, respectivamente; em mg/L) e intervalos de 95% de confiança para sulfato de cobre (CuSO<sub>4</sub>), cloreto de cádmio (CdCl<sub>2</sub>) e cloreto de mercúrio (HgCl<sub>2</sub>), a partir das curvas de SSD construídas com base nos valores de CL<sub>50</sub>-96 h (todas as espécies) e CE<sub>50</sub>-48h deste composto para o cladóceros *Macrothrix spinosa*. (cf. Figuras 3,4 e 5). ..... 71

### CAPÍTULO 3

Tabela 1: Parâmetros físicos e químicos (média ± desvio padrão) medidos nas soluções-teste no início e no final dos testes de toxicidade aguda realizados com girinos dos anfíbios nativos neotropicais *Boana faber* e *Scinax fuscovarius*. ..... 85

Tabela 2: Valores médios da concentração letal CL<sub>50</sub>-96h e limites de confiança e significância destes obtidos em 20 testes de toxicidade aguda realizados com cloreto de cádmio e cloreto de mercúrio para os anfíbios *Boana faber* e *Scinax fuscovarius*. ..... 87

Tabela S1: Valores médios, limites inferiores e superiores da concentração letal em mg/L (CL<sub>50</sub>) obtidos em vinte testes de toxicidade aguda realizados com sulfato de cobre (mg/L) para os anfíbios *Boana faber* e *Scinax fuscovarius*. ..... 98

### CAPÍTULO 4

Tabela 1: Concentrações das soluções-teste dos compostos sulfato de cobre, cloreto de cádmio e cloreto de mercúrio (mg/L), as quais as ninfas de *Anax sp.* (Odonata, Aeshnidae) e os adultos de *Belostoma sp.* (Hemiptera, Belostomatidae) foram expostos por 24 horas. .... 105

Tabela 2: Taxa de predação e consumo de presas do odonata *Anax sp.* após exposição por 24 horas ao sulfato de cobre (CuSO<sub>4</sub>), cloreto de cádmio (CdCl<sub>2</sub>) e cloreto de mercúrio (HgCl<sub>2</sub>). ..... 106

Tabela 3: Taxa de predação e consumo de presas do hemíptero *Belostoma sp.* após exposição por 24 horas ao sulfato de cobre (CuSO<sub>4</sub>), cloreto de cádmio (CdCl<sub>2</sub>) e cloreto de mercúrio (HgCl<sub>2</sub>). ..... 107

Tabela 4: Valores do índice de seletividade alimentar (Ivlev) do odonata *Anax sp.* após exposição por 24 horas ao sulfato de cobre (CuSO<sub>4</sub>), cloreto de cádmio (CdCl<sub>2</sub>) e cloreto de mercúrio (HgCl<sub>2</sub>). ..... 109

Tabela 5: Valores do índice de seletividade alimentar (Ivlev) do hemíptero *Belostoma* sp. após exposição por 24 horas ao sulfato de cobre ( $\text{CuSO}_4$ ), cloreto de cádmio ( $\text{CdCl}_2$ ) e cloreto de mercúrio ( $\text{HgCl}_2$ ). ..... 111

## Sumário

1. INTRODUÇÃO GERAL .....	13
2. JUSTIFICATIVA .....	15
3. OBJETIVOS .....	15
3.1. Objetivos específicos .....	16
4. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....	16
CAPITULO 1 .....	19
Introdução .....	20
Material e métodos.....	22
Área de estudo .....	22
Delineamento e amostragem.....	25
Desenvolvimento da macrófita aquática <i>Mayaca fluviatilis</i> .....	26
Análise de dados .....	26
Resultados .....	27
Variáveis físicas e químicas da água .....	27
Comunidade de macroinvertebrados bentônicos .....	27
Comunidade de zooplanctônica .....	32
Índice de espécies indicadoras para as comunidades de macroinvertebrados bentônicos e para a comunidade zooplanctônica e índices ecológicos.....	38
Discussão .....	40
Conclusões .....	45
Referências bibliográficas.....	45
CAPITULO 2 .....	53
Introdução .....	54
Materiais e métodos .....	57
Organismos-teste .....	57
Testes de toxicidade aguda .....	59
Distribuição da sensibilidade das espécies .....	61
Resultados .....	62
Variáveis físicas e químicas e validade dos ensaios de toxicidade.....	62

Faixa de sensibilidade das espécies e resultados dos testes de toxicidade aguda.....	64
Comparação da sensibilidade entre os organismos-teste.....	67
Conclusões.....	72
Referências bibliográficas.....	72
CAPÍTULO 3 .....	78
Introdução .....	79
Material e Métodos .....	82
Espécies-teste: Coleta e aclimatação dos organismos .....	82
Testes de sensibilidade dos organismos ao cobre: estabelecimento da carta-controle	82
Testes de Toxicidade Aguda com os metais cádmio e mercúrio.....	83
Distribuições de sensibilidade de espécies .....	84
Análise de dados .....	84
Resultados e discussão.....	85
Variáveis abióticas dos testes de toxicidade .....	85
Sensibilidade dos dois girinos nativos de sapos aos metais avaliados .....	86
Sensibilidade em comparação com outros anfíbios, peixes e invertebrados de diferentes grupos taxonômicos .....	88
Conclusões.....	91
Referências bibliográficas.....	91
CAPITULO 4 .....	99
Introdução .....	100
Materiais e métodos .....	102
Organismos-teste e condições de cultura .....	102
Taxa de predação e seletividade alimentar .....	104
Análise dos dados .....	105
Resultados e Discussão.....	105
Taxas de predação.....	105
Taxa de predação por item oferecido (Índice de Seletividade de Ivlev).....	108
Conclusões.....	111
Referências bibliográficas.....	112

## 1. INTRODUÇÃO GERAL

A água é considerada uma substância essencial e de importância imensurável para a vida em seus mais diversos aspectos. Neste sentido, destaca-se sua indiscutível pluralidade, característica que representa sua importância, especialmente no que refere ao prisma econômico-produtivo. Ainda, percebe-se que a água, e mais precisamente os recursos hídricos, representam em tempos recentes fonte de riqueza e de conflitos (MELO, 2016; SANTOS; CESAR; BONADIO, 2016).

O crescente aumento da demanda pela água, contrapondo os métodos de governança que nem sempre conseguem fazer refletir na prática a importância do tema podem levar a um déficit global de água cada vez maior (UNESCO, 2015), sendo que o debate acerca do uso da água merece uma especial atenção ao aprofundar-se aos meandros do consumo e disponibilidade hídrica, devido à água doce constituir um recurso indispensável e finito para todas as formas de vida presentes na terra (SANTOS; CESAR; BONADIO, 2016).

Os ecossistemas aquáticos superficiais exercem diversas funções ambientais valiosas, sendo locais de intensa reciclagem de nutrientes, de purificação da água, e de atenuação de enchentes, contribuindo também para a recarga das águas subterrâneas e fornecendo habitat para a vida selvagem (NATIONAL RESEARCH COUNCIL, 1992). Estes ecossistemas apresentam uma alta biodiversidade, especialmente os de água doce, no entanto estão incluídos entre os ambientes mais ameaçados no mundo (SAUNDERS; MEEUWIG; VINCENT, 2002). A maior parte das perturbações que ocorrem nos sistemas aquáticos é decorrente de impactos antrópicos, que além de alterar as características físicas e químicas da água também influenciam a estrutura das diversas comunidades nela presentes (TUNDISI; MATSUMURA-TUNDISI, 2008).

A poluição dos sistemas aquáticos por compostos químicos tóxicos é um problema preocupante e progressivo em todo o planeta e, ainda que seja uma questão abordada por legislação específica em diversos países, sua ocorrência prossegue pela falta de controle e fiscalização em relação ao descarte de efluentes domésticos, industriais e agrícolas, principais fontes responsáveis pela contaminação dos mesmos (LEMOS et al., 2005; MATSUMOTO ET al., 2006; KUMAR, 2012).

Essa constante descarga, ou a liberação acidental de substâncias químicas nocivas nos ambientes aquáticos podem perturbar a estrutura e a função dos ecossistemas naturais e, portanto, representar uma grave ameaça à diversidade biológica

(KUMAR et al., 2012). As potenciais reservas de água doce estão drasticamente reduzidas, e esse fato se deve à distribuição irregular das chuvas e das populações humanas, ao aumento exponencial do consumo total de água em decorrência do crescimento demográfico, severa degradação da qualidade da água (WETZEL, 1993), urbanização e o advento das superpopulações humanas, que justificam a urgência de se avaliar a saúde dos sistemas ecológicos assim como de seus componentes bióticos (CARVALHO, 2017). Ademais, a poluição provocada pelo ser humano, o precário tratamento dos efluentes domésticos aliados à baixa disponibilidade hídrica em alguns locais, também geram a escassez da água tornando-a inutilizável ao ponto de não estar mais disponível para o consumo humano, para a vida aquática ou para outras destinações (ANA, 2015).

Nas últimas décadas, os ambientes aquáticos têm dado sinais de esgotamento na qualidade e na quantidade de água, mesmo havendo registros de que essas mudanças são resultantes de problemas naturais como inundações, secas, intemperismos e erosões. Contudo, estes ambientes têm sido os mais comprometidos por atividades antrópicas como a falta de saneamento urbano e industrial, a destruição das matas ciliares, além da expansão das atividades agropastoris com o uso intensivo de fertilizantes, herbicidas e fungicidas (ALVES; TERESA; NABOUT, 2014; OLIVEIRA; NOGUEIRA; SARTORI, 2014). Essas atividades produzem e favorecem o escoamento de águas não tratadas contendo substâncias químicas como os metais, que são os contaminantes mais encontrados em águas residuais, os quais retornam aos ecossistemas aquáticos podendo interagir com a água e com a biota além de alcançar diferentes extensões por longos períodos, afetando toda a biodiversidade (ESPINOZA-QUIÑONES et al., 2009; ALI; KHAN; SAJAD, 2013).

As análises químicas possuem limitações inerentes em sua habilidade de caracterizar a composição das misturas de compostos e permitir uma avaliação ecotóxica químico-específica devido à natureza química complexa dos compostos. Em contrapartida, os bioensaios fornecem um meio de avaliação da toxicidade de misturas complexas na ausência de um conhecimento prévio sobre a composição química das mesmas (CLAXTON; HOUK; HUGHES, 1998). Os bioensaios são empregados no monitoramento de efluentes, substâncias químicas e poluentes emergentes lançados em corpos receptores a partir da exposição de organismos-teste a várias diluições da amostra a ser testada, por um período determinado de tempo, e os valores são obtidos em fatores de toxicidade aguda, crônica, subcrônica ou genotoxicidade (ABNT, 2016).

A utilização dos bioensaios resultou na avaliação de uma vasta gama de efluentes e misturas industriais, uma demanda urgente quando se trata de países com abundantes recursos hídricos, tais como o Brasil (CLAXTON; HOUK; HUGHES, 1998).

## **2. JUSTIFICATIVA**

Os metais são elementos particularmente importantes devido à sua alta toxicidade, mesmo em baixas concentrações (VATANDOOST et al., 2018), sendo cerca de trinta (dos metais existentes) considerados potencialmente tóxicos para os seres vivos (SARKAR, 2002), incluindo o cádmio, o cobre, o mercúrio e o manganês. Relativamente poucos estudos ecotoxicológicos tem sido realizados para espécies de regiões tropicais quando comparados com as de regiões temperadas, como por exemplo, Moreira et al. (2017) e Rocha et al. (2018), resultando na freqüente utilização de dados de espécies de clima temperado para as avaliações de risco para espécies de ambiente tropical (DAAM; RICO, 2016; MOREIRA et al., 2017).

Contudo, a sensibilidade das espécies de diferentes regiões pode ser diferente entre os compostos (DOMINGUES et al., 2007). No entanto há poucos estudos de toxicidade realizados com espécies de nativas da região Neotropical como os realizados por rocha et al., 2018. Desta forma há uma lacuna de informações científicas em diversos aspectos, tais como distribuição geográfica, biologia, ecologia, ciclo de vida e, especialmente de dados sobre toxicidade. Sabe-se que toda a fauna testada (KALKMAN et al., 2008; MARTENS et al., 2008), podendo-se também supor a possibilidade de que entre estes haja também maior número de espécies sensíveis, o que torna viável que bioensaios de toxicidade em condições tropicais possam ser realizados com espécies nativas. Isto evitaria a super ou a sub-estimação de risco para as espécies locais, baseadas em testes realizados com espécies de regiões temperadas.

## **3. OBJETIVOS**

O objetivo do presente projeto visa estabelecer conhecimentos sobre os potenciais impactos da contaminação dos ecossistemas aquáticos neotropicais por metais de cobre, cádmio e mercúrio sobre populações nativas. Assim como analisar os efeitos dos metais na sucessão ecológica das comunidades, na cadeia trófica e no comportamento das populações.

### 3.1. Objetivos específicos

- Estudar a composição taxonômica e a estrutura das comunidades bentônica e zooplancônica da Lagoa Mayaca (São Carlos, SP) e analisar a dinâmica do processo de recolonização por estas comunidades a partir do início de retenção de água.
- Avaliar a sensibilidade de nove espécies da biota aquática tropical: *Astyanax paranae* (peixe), *Boana faber* (anfíbio), *Scinax fuscovarius* (anfíbio), *Macrothrix spinosa* (cladócer), *Dero digitata* (oligoqueto), *Berosini* sp. (coleóptero), *Belostoma* sp. (hemiptero), *Culex* sp. (díptero) e *Anax* sp. (Odonata) a três metais.
- Avaliar os efeitos de três metais (cobre, cádmio e mercúrio) sobre a intensidade de predação e a seletividade alimentar das ninfas de *Anax* sp. (Odonata) e de *Belostoma* sp. (Hemiptera).

## 4. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ABNT - Associação Brasileira de Normas Técnicas. **Ecotoxicologia aquática - Toxicidade Aguda: Teste com peixes**. NBR 15088. Brasil. 2011.
- ANDRADE, M.T.; VEADOR, M.A.R.V., MENEZES, M.Â. de B.C., ALÍPIO, V. de C., **Análise Da Concentração De Metais Pesados No Rio Piracicaba, Minas Gerais**. Encontro Nac. Eng. Produção. 2010.
- ATLI, G.; CANLI, M. Response of antioxidant system of fresh water fish *Oreochromis niloticus* to acute and chronic metal (Cd, Cu, Cr, Zn, Fe) exposures. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, n.73, 2010. p.1884-1889.
- BAIRD, C. **Environmental chemistry**. New York: WH Freeman Pub. 484 p. 1995.
- BERTOLUCI, J.A.; RODRIGUES, M.T. Utilização de habitats reprodutivos e microhabitats de vocalização em uma taxocenose de anuros (Amphibia) da Mata Atlântica do sudeste do Brasil. **Papéis Avulsos de Zoologia**, v. 42, 2002. p.287-297.
- BUCH, A.C., BROWN, G.G., CORREIA, M.E.F., LOURENÇATO, L.F., SILVA-FILHO, E.V. Ecotoxicology of mercury in tropical forestsoils: Impact on earth worms. **Sci. Total Environ.** 589, 2017. p.222–231.
- CETESB. **Significado Ambiental E Sanitário Das Variáveis De Qualidade Das Águas E Dos Sedimentos E Metodologias Analíticas E De Amostragem, Qualidade Das Águas Interiores No Estado De São Paulo**. São Paulo. 2009
- CORBI, J.J., STRIXINO, S.T., SANTOS, A. Do, GRANDE, M. Del, Diagnóstico ambiental de metais e organoclorados em Córregos adjacentes A Áreas de cultivo de canade-açúcar (estado de São Paulo, Brasil). **Quim. Nova**, 29, 2006. 61–65.

DOLAGARATZ-CARRICAVUR, A.; CHIODI-BOUDET, L.; ROMERO, M.B.; POLIZZI, P.; MARCOVECCHIO, J.E.; GERPE, M. Toxicological responses of *Laonereis acuta* (Polychaeta, Nereididae) after acute, subchronic and chronic exposure to cadmium. **Ecotoxicol. Environ. Saf.** 149, 2018. p.217–224.

ESTEVEES, FA. **Fundamentos em Limnologia**. Rio de Janeiro: Interciência. 199 p. 2008.

ERICKSON, R.J., BENOIT, D. a., MATTSON, V.R., LEONARD, E.N., NELSON, H.P., The effects of water chemistry on the toxicity of copper to fathead minnows. **Environ. Toxicol. Chem.** 15, 1996. p.181–193.

GARUTTI, V.; BRITSKI, H. A. Descrição de uma espécie nova de *Astyanax* (Teleostei: Characidae) da bacia do alto rio Paraná e considerações sobre as demais espécies do gênero na bacia. **Comunicações do Museu de Ciências e Tecnologia da PUCRS, Série Zoologia** 13, 2000. p.65-88.

HAMADA, N.; NESSIMIAN, J.L. & QUERINO, R.B. **Insetos aquáticos na Amazônia Brasileira: Taxonomia, Biologia e Ecologia**. Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia, 728p.2014.

HARFORD, A.J., MOONEY, T.J., TRENFIELD, M. a., VAN-DAM, R. Manganese toxicity to tropical fresh water species in low hardness water. **Environ. Toxicol. Chem.** 34, 2015. p.2856–2863.

JOACHIM, S., ROUSSEL, H., BONZOM, J.M., THYBAUD, E., MEBANE, C. a., VAN-DEN-BRINK, P., GAUTHIER, L., 2017. A long-term copper exposure in a fresh water ecosystem using lotic mesocosms: Invertebrate community responses. **Environ. Toxicol. Chem.** N.36, 2017. p.2698–2714.

JORDÃO, C. P.; PEREIRA, J. L.; JHAM, G. N. Chromium contamination in sediment, vegetation and fish cause by tanneries in the State of Minas Gerais, Brazil. **The Science of the Total Environment**, v. 207, 1997. p. 1-11

KUMAR, P., KUMAR, R.; NAGPURE, N.; NAUTIYAL, P.; DABAS, A., KUSHWAHA, B.; LAKRA, W. Genotoxic and mutagenic assessment of hexavalent chromium in fish following in vivo chronic exposure. **Hum. Ecol. Risk Assess.** 18, 2012. p.855–870.

MATSUMOTO, S., MANTOVANI, M., MALAGUTTI, M., DIAS, A.L., FONSECA, I., MARIN-MORALES, M.A., 2006. Genotoxicity and mutagenicity of water contaminated with tannery effluents, as evaluated by the micronucleus test and comet assay using the fish *Oreochromis niloticus* and chromosomal aberrations in onion root-tips. **Genet. Mol. Biol.** 29, 2006. p.148–158.

MERRIT, R.W. & CUMMINS, K.W. **An introduction to the aquatic insects of North America**. Dubuque: Kendall/ Hunt Publication Company. 1158p.1996.

MERT, R.; ALAS, A.; BULUT, S.; ÖZCAN, M.M. Determination of heavy metal contents in some freshwater fishes. **Environmental Monitoring and Assessment**, n.186, 2014. p.8017–8022.

MICHALKE, B., FERNSEBNER, K., 2014. New insights into manganese toxicity and speciation. **J. Trace Elem. Med. Biol.** 28, 2014. p.106–116.

PIERRE-MARIE, B., FRANÇOIS, D., OLIVIER, A., GREGORIO, C., Combined Exposure to Mixture of Chemicals. Na Impossible Challenge? **Pestic. – Impacts Pestic. Expo.**, 2011. p.67–90.

RICCIARDI, A.; PALMER, M. E.; YAN, N. D. Should biological invasions be managed as natural disasters? **BioScience**, v. 61, 2011. p. 312-317.

SANDERS, M.J., DU-PREEZ, H.H., VAN-VUREN, J.H., The Fresh water River Crab, *Potamonautes warreni*, as a Bioaccumulative Indicator of Iron and Manganese Pollution in Two Aquatic Systems. **Ecotoxicol. Environ. Saf.** 41, 1998. p.203–214.

SÁNCHEZ-BAYO, F. Insecticides Mode of Action in Relation to Their Toxicity to Non-Target Organisms. **J. Environ. Anal. Toxicol.** 2012.

SEYLER, P. T.; BOAVENTURA, G. R.. Distribution and partition of trace metals in the Amazon basin. **Hydrological Processes**, v. 17, 2003. p.1345–1361.

STRASKRABA, M.; TUNDISI, J. G. **Reservoir water quality management. Guidelines of Lake Management.** Shiga: ILEC. 229 p. 1999.

SHIBATTA, O. A.; GEALH, A. M.; BENNEMANN, S. T. Ictiofauna dos trechos alto e médio da bacia do rio Tibagi, Paraná, Brasil. **Biota Neotropica**, 7(2), 2007. p.125-134

TUNDISI, J. G. Represas do Paraná superior: limnologia e bases científicas para o gerenciamento. In: BOLTOVSKOY, A. & LÓPEZ, H.L. Eds. **Conferencias de Limnologia.** La Plata: Instituto de Limnologia “Dr. RA Ringuelet”. 41-52 p. 1993.

VASCONCELOS, A.M. **Avaliação dos efeitos do agrotóxico Vermitec 18CE sobre girinos de *Lithobates bebianus* (Amphibia, Anura, Ranidae).** Tese (Escola de Engenharia de São Carlos (EESC) – Universidade do Estado de São Paulo, 2014.

USEPA. United States of Environmental Protection Agency. **The History of Drinking Water Treatment.** [Fact Sheet (EPA-816-F-00-006)]. Washington: Environmental Protection Agency - Office of Water. 2000.

## CAPITULO 1

### DINÂMICA DA COLONIZAÇÃO DE INVERTEBRADOS AQUÁTICOS EM UMA LAGOA TEMPORÁRIA NEOTROPICAL

#### **Resumo**

O estudo da sucessão ecológica e dos fatores que afetam a colonização das comunidades de invertebrados aquáticos (bentos e zooplâncton), vem sendo bastante estudados nos processos ecológicos de ecossistemas aquáticos. O objetivo do presente estudo foi avaliar a dinâmica da sucessão ecológica da comunidade das comunidades bentônica e zooplânctônica em uma pequena lagoa temporária no Cerrado brasileiro. As variáveis ambientais mensuradas foram: pH, condutividade, temperatura, oxigênio dissolvido e profundidade. Os resultados mostraram que as variáveis ambientais de oxigênio dissolvido, profundidade e precipitação, assim como o desenvolvimento da macrófita aquática *Mayaca fluviatilis* foram determinantes para a dinâmica da colonização. As espécies *Ilyocryptus spinifer* e *Lecane lunaris* (zooplâncton) e *Tramea* sp. (bentos) foram consideradas indicadoras do ambiente. A colonização de invertebrados em lagoas temporárias ocorre de forma gradual e diversificada até 45 dias de colonização, ocorrendo flutuações sazonais até o ápice de diversidade com 90 dias de colonização.

**Palavras-chave:** macroinvertebrados bentônicos, zooplâncton, sucessão ecológica.

**Abstract**

The study of ecological succession and the factors that affect the colonization of aquatic invertebrate communities (benthic and zooplankton), Has been extensively studied regarding the ecological processes of aquatic ecosystems. The objective of the present study was to evaluate the dynamics of ecological succession in the community of the benthic and zooplankton communities in a small temporary lagoon in the Brazilian Cerrado. The environmental variables measured were: pH, conductivity, temperature, dissolved oxygen and depth. The results showed that the environmental variables of dissolved oxygen, depth and precipitation, as well as the development of the aquatic macrophyte *Mayaca fluviatilis* were determinant for the dynamics of colonization. The species *Ilyocryptus spinifer* and *Lecane lunaris* (zooplankton) and *Tramea* sp. (bentos) were considered indicators of the environment. The colonization of invertebrates in temporary ponds occurs gradually and diversified up to 45 days of colonization, with seasonal fluctuations occurring until the peak of diversity with 90 days of colonization.

**Keywords:** benthic macroinvertebrates, zooplankton, ecological succession.

## Introdução

Lagos temporários são corpos d'água lênticos naturais ou artificiais que contém água doce ou salina em baixos volumes por períodos limitados (meses a anos) (IRGANG; GASTAL 1996), ocorrendo uma fase seca inicial previsível, assim como a duração do período de cheia (WILLIAMS, 2006). Normalmente ocorrem em regiões semi-áridas e áridas em diversas regiões do mundo, onde as combinações de temperatura e precipitação resultam em precipitação-evaporação líquida baixa ou negativa (THAMES; EVANS 1981; DAVIES; WALMSLEY 1985).

Apesar de serem comuns, as áreas de inundação temporárias variam grandemente em função da frequência, duração e tempo de inundação (BOULTON; BROCK (1999). Podem ser semi-permanentes ou quase permanentes quando a inundação anual é superior à perda mínima em 90%. Também podem ser intermitentes, com alternância entre períodos secos e chuvosos, porém com menos frequência e regularidade que as áreas sazonais ou podem ocorrer de forma esporádica, inundando raramente e irregularmente, embora possam durar por meses (BOULTON; BROCK 1999; BROCK et al. 2003). E podem ser sazonais, quando determinados por eventos extremos de acordo com a estação do ano, ou seja, estação chuvosa e seca anualmente, como comumente ocorre em biomas brasileiros como o Cerrado.

O regime de intermitência dos ecossistemas aquáticos temporários afeta substancialmente todos os organismos aquáticos que os colonizam, pois, a alteração do habitat de disponível para indisponível é transitória, passando de inabitável para habitável e depois de volta ao inabitável (SCHWARTZ; JENKINS 2000). Portanto, os organismos aquáticos se dispersam para outros habitats, formando metapopulações espaciais (IMS; YOCCOZ, 1997) ou permanecem inativos até que as condições permitam a atividade novamente, formando metapopulações temporais (OLIVIERI; GOUYON, 1997). As mudanças hidrológicas podem alterar as condições naturais do substrato, interferindo na dinâmica e estrutura das comunidades de invertebrados (WHITTON, 1975). Nestes ambientes é comum a morte de peixes no período de seca devido à diminuição do volume de água e aumento na concentração de nutrientes, o que pode ocasionar fortes efeitos em cascata em vários níveis tróficos do lago (WELLBORN *et al.*, 1996; JEPPESEN *et al.*, 1997). Na falta dos peixes, os predadores invertebrados passam a ter maior influência (BENNDORF *et al.*, 2000; HOBBAEK *et al.*, 2002; MENDES *et al.*, 2014).

O processo de sucessão de invertebrados em ambientes temporários começa quando os organismos colonizam um novo substrato, em resposta às propriedades físicas do mesmo (BRACCI et al. 2014). A dinâmica de sucessão em uma área peculiar é inicialmente reconhecida pela presença de táxons menos especializados, também chamados organismos pioneiros. Eles podem alterar as características do local e facilitar a colonização por outros indivíduos que extinguem seus precursores (CARVALHO; UIEDA, 2004). Contudo cada ecossistema é único e precisa ser investigado em detalhes em relação às suas características e dinâmica. Lagos temporários têm assim, grande importância, pois podem abrigar biotas diversificadas de organismos com estratégias importantes para persistir nestes ecossistemas na forma de estruturas de resistência (anabióticas) ou recolonizá-los rapidamente quando estes são reconstituídos. No entanto, especialmente nas regiões tropicais e no Brasil, apesar de serem muito numerosos estes sistemas tem sido negligenciado em relação a estudos ecológicos (MOREIRA et al., 2016).

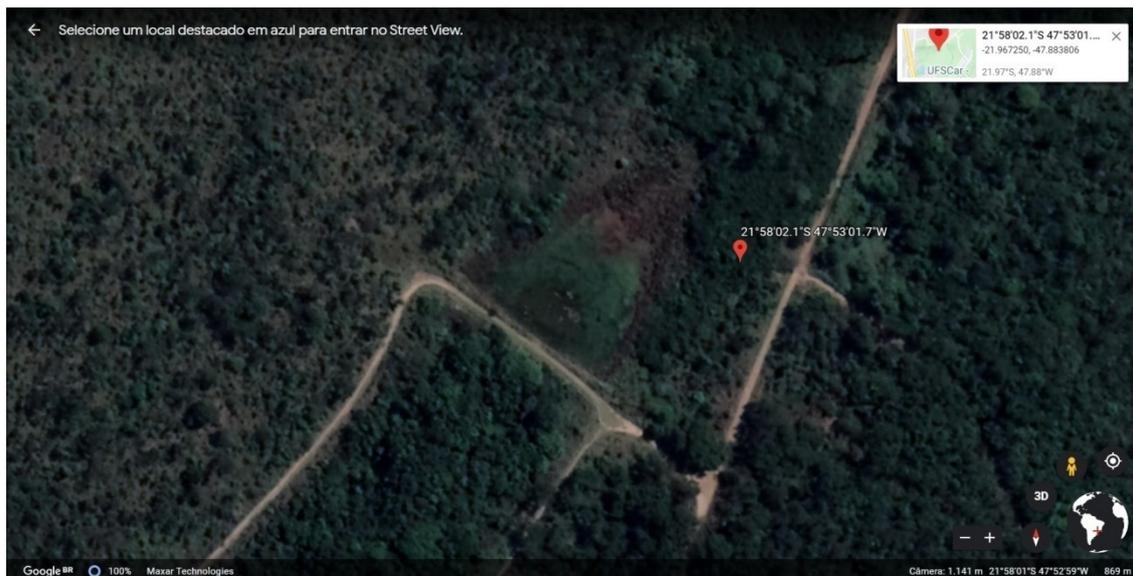
Neste contexto, o presente estudo teve por objetivo estudar a composição taxonômica e a estrutura das comunidades bentônica e zooplancônica da Lagoa Mayaca (São Carlos, SP) e analisar a dinâmica do processo de recolonização por estas comunidades a partir do início de retenção de água. Para isso as seguintes hipóteses foram formuladas: 1) a comunidade zooplancônica da Lagoa Mayaca, apesar de ser um ecossistema temporário assemelha-se à dos pequenos lagos permanentes em ambientes semelhantes, sendo composta principalmente por rotíferos, cladóceros e copépodos; 2) a comunidade bentônica é composta principalmente pelos insetos aquáticos, sendo os Diptera Chironomidae o grupo dominante; 3) a composição e densidades dos organismos zooplancônicos tipicamente litorâneos aumenta em riqueza e densidade com o aumento da profundidade; 4) a composição e abundância dos organismos bentônicos aumentam com o aumento da biomassa da macrófita *Mayaca fluviatilis*.

## **Material e métodos**

### **Área de estudo**

Este estudo foi realizado em uma pequena lagoa de águas transparentes e volume reduzido, pertencente à *Bacia Hidrográfica do Rio Tietê-Jacaré*, denominada *Lagoa Mayaca*. É uma pequena represa situada em área preservada de vegetação

primária de Cerrado, localizada no campus da Universidade federal de São Carlos município de São Carlos, SP (21°58'02.1" S - 47° 53'01.7" W) (ROQUE et al., 2003). A lagoa foi formada após o represamento de um pequeno tributário do córrego Fazzari (localizado na mesma área) com finalidade de suprir o abastecimento de água para uma estação de piscicultura (SANTOS, 1999). Desta forma a lagoa faz parte da microbacia deste córrego (ESCARPINATI,2006) (Figura 1).



**Figura 1:** Lago Mayaca, localizado no município de São Carlos, SP, Brazil (21° 01' S, 47° 53' W). Acesso em 02/03/2020: <https://earth.google.com/web>

Caracterizada como um ecossistema aquático temporário, devido ao ciclo hidrológico sazonal, em que o corpo d'água fica seco no outono-inverno até novo preenchimento no período de chuvas, que se inicia no final da primavera ou início do verão, a Lagoa Mayaca pode ou não permanecer cheia durante o ano todo, com permanência por mais de um ano, dependendo da pluviosidade anual. É uma lagoa semi-fechada (que não recebe água de nenhum tributário, exceto afloramento de água subterrânea de nascente no local). Seu ciclo hidro-período é mantido principalmente pela água da chuva e/ou escoamento da bacia de drenagem, e pelos processos fisiológicos de perda de água da macrófita aquática *Mayaca fluviatilis*, muito abundante na represa, fixa ao sedimento (ESCARPINATI, 2006), ou flutuante submersa (Figura 2 e 3).



**Figura 2:** Lagoa do Mayaca, localizado no município de São Carlos, SP, Brazil ( $21^{\circ} 01' S$ ,  $47^{\circ} 53' W$ ) no dia 26 de outubro de 2018 após a primeira cheia.



**Figura 3:** Lagoa do Mayaca, localizado no município de São Carlos, SP, Brazil ( $21^{\circ} 01' S$ ,  $47^{\circ} 53' W$ ) no dia 13 de janeiro de 2019.

## **Delineamento e amostragem**

As amostras para a análise da comunidade de macroinvertebrados bentônicos e zooplancônica foram coletadas no período de novembro de 2018 a fevereiro de 2019, sendo selecionados quatro pontos para a amostragem na área da lagoa Mayaca em campanhas realizadas a cada 15 dias (total de 90 dias). Foram realizadas um total de 7 campanhas e coletadas 28 amostras.

Para cada ponto foi coletada uma amostrada comunidade necto-bentônica utilizando uma rede tipo “D” por um período de um minuto. As amostras foram levadas ao laboratório e lavadas em uma peneira (Granutest) com 210  $\mu\text{m}$  de abertura de malha. Terminada essa etapa, as amostras foram depositadas em bandejas transluminadas para triagem dos organismos. Os organismos triados foram fixados em álcool 70% para posterior análise e identificação sob microscópio estereoscópico. A identificação dos indivíduos coletados foi realizada até o nível taxonômico de gênero ou espécie, utilizando guias e chaves especializadas de Róldan-Pérez (1988), Merritt; Cummins (1996), Segura et al. (2011), Trivinho-Strixino (2011) e Hamada et al. (2014).

As amostragens da comunidade zooplancônica foram realizadas utilizando um balde plástico com capacidade de 10 litros. Em cada ponto foram coletadas 3 baldes, totalizando 30 litros de água por ponto. Foram realizados arrastos horizontais próximos à margem e em bancos de macrófitas quando presentes. A água foi filtrada em uma rede de 68  $\mu\text{m}$  de abertura de malha e os organismos fixados com formol na concentração final de 4%.

As contagens dos rotíferos e náuplios de Copepoda foram feitas em câmara de Sedgewick-Rafter com capacidade de 1 mL, contando-se entre 1 até 3 mL dependendo da abundância dos organismos destes grupos. Para o restante dos organismos o volume total restante da amostra foi contado em placas de acrílico quadriculadas, sob microscópio estereoscópico com aumento de até 50 vezes. A identificação dos organismos foi feita utilizando um microscópio óptico da marca Zeiss<sup>®</sup>, com câmara clara e com aumento de até 1000 vezes, com ocular micrometrada.

Os táxons foram identificados até o nível de gênero ou espécie, com o auxílio de bibliografia especializada de Smirnov (1974), Koste (1978), Reid (1985), Koste; Shiel (1986), Nogrady *et al.* (1993); Segers (1995), Elmoor-Loureiro (1997); Nogrady; Segers (2002); Segers; Shiel (2003), Silva (2003), Silva; Matsumura-Tundisi (2005), Kotov (2009) e Perbiche-Neves 2011.

## **Desenvolvimento da macrófita aquática *Mayaca fluviatilis***

Em cada campanha foram amostrados três quadrados (*quadrats*) de 1m<sup>2</sup> de área, solo (fase seca) ou sedimento (fase de enchimento) da lagoa, recoberto pela macrófita *Mayaca fluviatilis* seca ou em regeneração. As localidades para amostragem foram determinadas por arremessos aleatórios do quadrado em quatro pontos aproximadamente equidistantes, na região litorânea da Lagoa Mayaca, totalizando, ao longo do período amostrado, 84 amostras. As amostras foram coletadas nos intervalos de 0, 15, 30, 45, 60, 75 e 90 dias do início do processo de enchimento da lagoa, após um período de vários meses (junho a novembro) do período de seca total (desaparecimento) do corpo de água. Para o experimento de crescimento em laboratório desta macrófita foram selecionados 30 exemplares pequenos e medidos os seguintes parâmetros: biomassa e comprimento longitudinal da extremidade da raiz à extremidade do caule. As partes foram individualmente pesadas (peso úmido) e colocadas em estufa por 4 dias a 60°C para secagem. Depois de secas foram retiradas, deixadas para esfriar e novamente pesadas. A diferença entre o peso inicial e o peso final correspondeu ao peso seco da macrófita e este dado foi utilizado para o cálculo da biomassa por unidade de área da lagoa.

### **Análise de dados**

Após a organização dos dados, as relações entre a abundância dos táxons e as variáveis limnológicas foram avaliadas através de uma análise de correspondência canônica – PCA. Para estabelecer uma possível diferença na abundância total (N) dos macoinvertebrados e do zooplâncton existentes em cada período amostrado, foi utilizada uma análise de variância permutacional PERMANOVA.

Para cada ponto de amostragem nas distintas áreas de estudo foram calculadas as métricas biológicas: diversidade (H') - utilizando-se o índice de Shannon; dominância (D) - medida pelo índice de Simpson; equitatividade (J) - estimada pelo índice de Pielou; riqueza ponderada (Mg) - estimada pelo índice de Margalef.

Para complementar e verificar a ocorrência de gêneros específicos para cada período de colonização foi aplicada a análise de espécies indicadoras de Dufrêne; Legendre (1997) utilizando-se o software R (R CORE TEAM, 2020) através dos pacotes “vegan” (OKSANEN et al., 2012) e “labdsv” (ROBERTS, 2012).

## Resultados

### Variáveis físicas e químicas da água

Os valores obtidos para as variáveis físicas e químicas da água no período de 90 dias de colonização da Lagoa Mayaca estão sumarizados na Tabela 1. Observa-se que não houve diferença significativa ( $p < 0,05$ ) no pH e temperatura da água entre os dias de colonização amostrados. A turbidez e condutividade elétrica da água aumentaram gradualmente, ao longo dos 90 dias de duração do estudo. A condutividade variou entre  $16,99 \mu\text{S.m} \pm 1,13$  no primeiro dia de colonização a  $66,15 \mu\text{S.m} \pm 3,94$  com 90 dias., e a turbidez variou entre  $1,40 \text{ NTU} \pm 0,29$  no primeiro dia a  $2,37 \text{ NTU} \pm 0,38$  aos 90 dias de enchimento e re-colonização da lagoa. A profundidade aumentou nos primeiros 30 dias de colonização atingindo  $63,5 \text{ cm} \pm 11,82$  aos 30 dias. Posteriormente diminuiu entre 30 a 60 dias para  $42,75 \pm 10,63 \text{ cm}$  e aumentou nos últimos 30 dias, chegando ao nível máximo aos 90 dias no período estudado:  $101,00 \pm 22,29 \text{ cm}$ . A concentração de oxigênio dissolvido foi máxima no primeiro dia com  $8,39 \text{ mg/L} \pm 0,36$  e decresceu até alcançar a concentração mínima aos 90 dias  $6,07 \text{ mg/L} \pm 0,22$  (Tabela 1). Em todas as variáveis analisadas houve tendência de leve aumento para temperatura e pH médios, mas sem significância estatística dada a pequena variação e variabilidade, enquanto as demais variáveis variaram significativamente ao longo do período.

**Tabela 1:** Valores médios e desvio padrão dos parâmetros obtidos para as variáveis físicas e químicas medidas em quatro pontos da lagoa Mayaca, município de São Carlos, SP.

Dias de colonização	Temperatura (°C)	pH	Oxigênio dissolvido (mg/L)	Condutividade ( $\mu\text{S.m}$ )	Turbidez (NTU)	Profundidade (cm)
1 Dia	$21,25 \pm 0,17$	$5,96 \pm 0,05$	$8,39 \pm 0,36$	$16,99 \pm 1,13$	$1,40 \pm 0,29$	$51,50 \pm 12,92$
15 Dias	$22,42 \pm 0,13$	$6,24 \pm 0,15$	$8,40 \pm 0,17$	$24,95 \pm 2,42$	$1,52 \pm 0,15$	$59,25 \pm 14,59$
30 Dias	$21,35 \pm 0,10$	$6,47 \pm 0,17$	$7,49 \pm 0,42$	$27,13 \pm 1,74$	$1,50 \pm 0,23$	$63,50 \pm 11,82$
45 Dias	$21,27 \pm 0,10$	$6,22 \pm 0,11$	$7,59 \pm 0,19$	$36,61 \pm 6,36$	$1,55 \pm 0,40$	$54,50 \pm 14,39$
60 Dias	$21,80 \pm 0,08$	$6,45 \pm 0,15$	$6,48 \pm 0,19$	$52,86 \pm 2,95$	$1,90 \pm 0,16$	$42,75 \pm 10,63$
75 dias	$22,07 \pm 0,05$	$6,76 \pm 0,05$	$6,48 \pm 0,29$	$56,47 \pm 2,70$	$2,52 \pm 0,31$	$91,00 \pm 22,46$
90 Dias	$21,85 \pm 0,06$	$6,88 \pm 0,05$	$6,07 \pm 0,22$	$66,15 \pm 3,94$	$2,37 \pm 0,38$	$101,00 \pm 22,29$

### Comunidade de macroinvertebrados bentônicos

Um total de 829 espécimes de macroinvertebrados bentônicos distribuídos em 29 táxons foram identificados ao longo de 90 dias, durante o processo de enchimento

da lagoa e re-colonização. Dentre estes, os macroinvertebrados da Classe Insecta foram os mais representativos, com 26 táxons (90% do total de organismos). Os insetos aquáticos da Ordem Diptera, tiveram a maior riqueza de táxons com 11 táxons (38%), sendo a família Chironomidae a mais expressiva com 7 táxons (24%). Os hemípteros aquáticos constituíram o segundo grupo mais representativo com 5 táxons (17%), com destaque para a família Corixidae com 2 táxons (7%). Os anelídeos foram representados pela família Naididae, com 2 táxons (7%).

A abundância de todos os táxons identificados em todos os períodos re-colonização é apresentada na Tabela 2. Para a comunidade de macroinvertebrados bentônicos o táxon mais representativo em todos os pontos e em todos os períodos foi *Culex* sp (Diptera: Culicidae), com abundância total de 248 indivíduos representando 30% do total de organismos) variando entre 3 indivíduos no primeiro dia a 65 indivíduos com 45 dias. O segundo táxon mais abundante foi *Tramea* sp. (Odonata: Libellulidae) com 142 ninfas, representando 17% do total de indivíduos da comunidade. Para este táxon, nenhum organismo foi coletado no primeiro dia e o ápice de abundância ocorreu aos 90 dias de colonização, com 40 indivíduos coletados na lagoa. Dentre os quironomídeos, *Chironomus* sp. foi o gênero mais representativo com 104 indivíduos amostrados no período de estudo, representando 13% do total de macroinvertebrados com abundância variando entre 1 indivíduo no primeiro dia a 22 indivíduos aos 15 e 45 dias após o início da re-colonização.

A maior riqueza de táxons foi observada com 90 dias de colonização com 21 táxons, ao passo que a menor riqueza foi registrada no primeiro dia com apenas 4 táxons tendo colonizando a lagoa. Aos 15 dias a riqueza total foi de 19 táxons, contudo aos 30 dias a riqueza diminuiu para 12 táxons. Após 45 dias houve novamente um aumento da riqueza para 16 táxons e uma segunda redução do número de táxons com 60 dias ocorrência de 11 táxons. Aos 75 dias a riqueza registrada foi de 17 táxons que aumentou novamente atingindo o máximo aos 90 dias de colonização com 21 táxons.



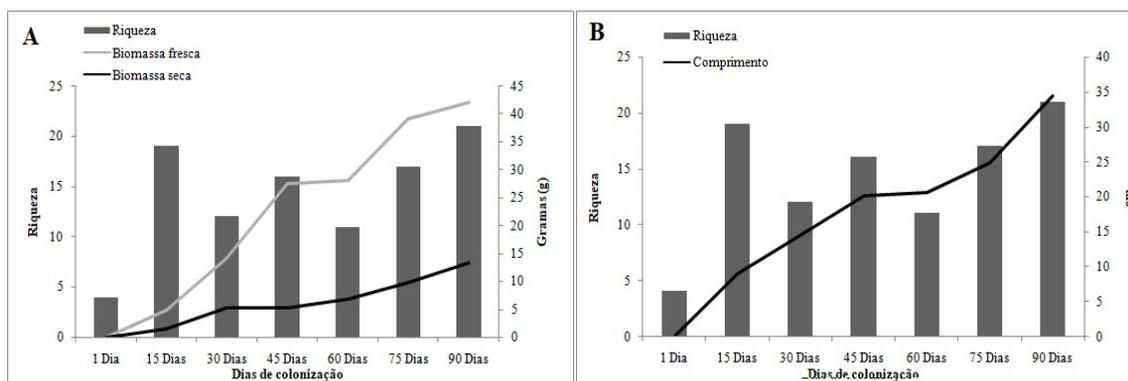
A Tabela 3 mostra o desenvolvimento da macrófita aquática *Mayaca fluviatilis*, principal produtor primário e componente do substrato da lagoa Mayaca. Observamos que após o enchimento da lagoa a produção de biomassa e o comprimento da planta aumentam gradualmente em relação aos dias de colonização, alcançando o ápice de seu desenvolvimento com 90 dias de colonização.

A Figura 2 mostra a relação da riqueza de táxons em relação ao tempo de colonização da lagoa e o desenvolvimento da macrófita aquática *Mayaca fluviatilis*, (Tabela 3). Observa-se que no início do enchimento da lagoa e início do desenvolvimento das macrófitas aos 15 dias, houve uma rápida colonização pelos organismos bentônicos. Entre 30 e 60 dias de colonização a comunidade amostrada flutuou em número de táxons colonizadores, enquanto a macrófita se desenvolveu e estabilizou entre 45-60 dias. Na amostragem após 75 dias ocorreu novamente o aumento no número de táxons presentes na comunidade de macroinvertebrados, assim como o aumento da biomassa e comprimento das macrófitas que continuaram a se desenvolver e crescer até os 90 dias de duração do estudo.

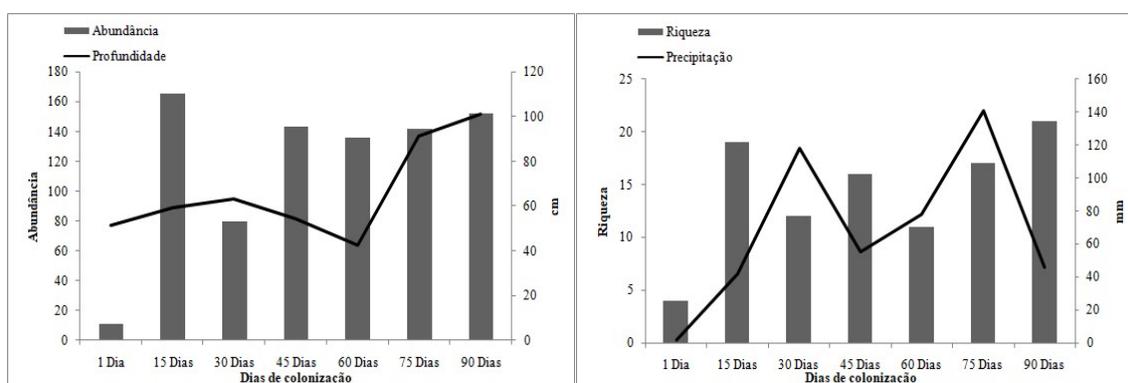
**Tabela 3:** Desenvolvimento da macrófita *Mayaca fluviatilis* nos 90 dias de colonização da lagoa Mayaca, São Carlos.

Parâmetro	1 Dia	15 Dias	30 Dias	45 Dias	60 Dias	75 Dias	90 Dias
<b>Biomassa fresca</b>	0,00	4,80	14,16	27,58	28,16	39,16	42,00
<b>Biomassa seca</b>	0,00	1,44	5,24	5,31	6,75	9,79	13,26
<b>Comprimento</b>	0,00	8,99	14,56	20,24	20,70	24,85	34,50

No primeiro dia de colonização, quando ainda não há *M. fluviatilis* na composição do substrato, há uma baixa riqueza. Entretanto com o aumento da profundidade, devido às precipitações, há um aumento no desenvolvimento das macrófitas na lagoa, gerando uma diversidade de habitats favoráveis a colonização por outras espécies de macroinvertebrados (Figura 4 e Figura 5).



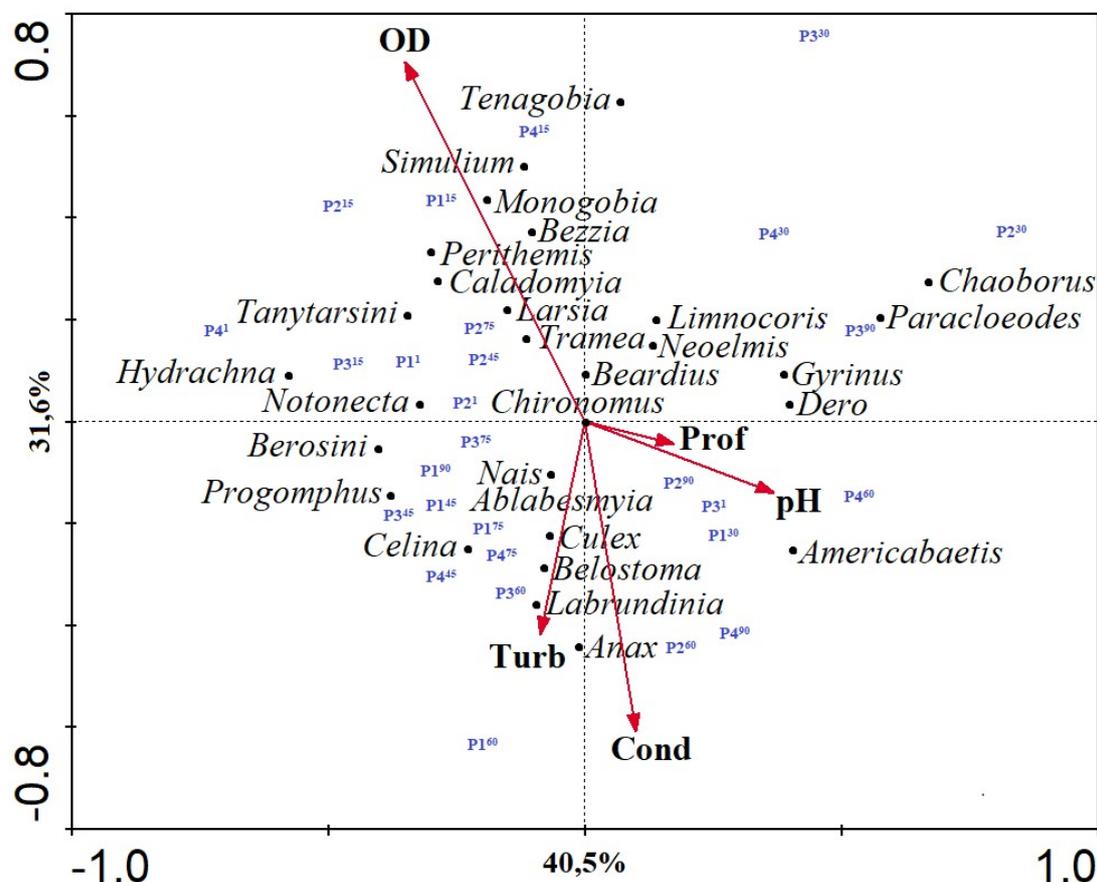
**Figura 4:** Variação da riqueza (número de táxons) de macro-invertebrados bentônicos, em função da variação na biomassa (A) e do comprimento (B) da macrófita *Mayaca fluviatilis* biomassa ao longo do período experimental (90 dias).



**Figura 5:** Variação na riqueza do úmero de táxons da comunidade de macroinvertebrados bentônicos (A) em função da profundidade da lagoa (em cm) e (B) da precipitação pluviométrica na área da lagoa (mm), ao longo do período experimental (90 dias).

Na Figura 6 é apresentado o resultado da Análise de Componentes Principais relacionando as abundâncias dos componentes da comunidade de macroinvertebrados bentônicos e as variáveis físicas e químicas da água para todos os pontos e períodos estudados. Cerca de 72% da variabilidade dos dados foram explicados nos dois primeiros eixos da análise. O eixo 1 explicou 40,50% dos dados, apresentando correlação negativa com as variáveis de oxigênio dissolvido e turbidez. Positivamente o eixo 1 foi correlacionado com as variáveis de pH e profundidade. Já o eixo 2 explicou 31,6% da variabilidade dos dados, apresentando uma forte correlação positiva com oxigênio dissolvido. Negativamente o eixo 2 se correlacionou com as variáveis de condutividade, turbidez e pH. O resultado apresentado na CCA mostra a formação de um grupo composto pelos táxons *Culex* sp., *Belostoma* sp. e *Labrundinia* sp. nos períodos entre 45-60 dias de colonização e com menores valores de turbidez. Já os táxons *Tenagobia* sp., *Monogobia* sp., *Simulium* sp. *Bezzia* sp. e *Perithemis* sp. foram associados aos primeiros 15 dias de colonização, quando a concentração de oxigênio

dissolvido foi maior. A CCA ainda isolou espacialmente o táxon *Americabaetis* sp. relacionado aos períodos intermediários de colonização, entre 30-60 dias.



**Figura 6:** Análise de Componentes Principais relacionando as variáveis físicas e químicas da água e as abundâncias dos componentes da comunidade de macroinvertebrados bentônicos em 90 dias de colonização na Lagoa Mayaca, São Carlos, SP.

### Comunidade de zooplânctônica

Foram identificados um total de 28 táxons na comunidade zooplânctônica amostrada na lagoa do Mayaca: sendo 17 de Rotifera, 7 de Cladocera e 4 de Copepoda. Dos 17 táxons de Rotifera a família Lecanidae foi a mais representativa com 10 espécies identificadas, dentre elas as 3 espécies mais abundantes e que foram constantes (>80%) durante o estudo: *Lecanebulla*, *L. lunares* e *L. quadridentata*. Em relação à amostragem realizada após 15 dias do início do enchimento da lagoa, *L. bulla* ocorreu em todos os pontos em alta densidade, mas foi diminuindo em abundância ao longo do tempo, ocorrendo em apenas dois pontos na coleta de 90 dias e em densidade reduzida (Tabela 4).

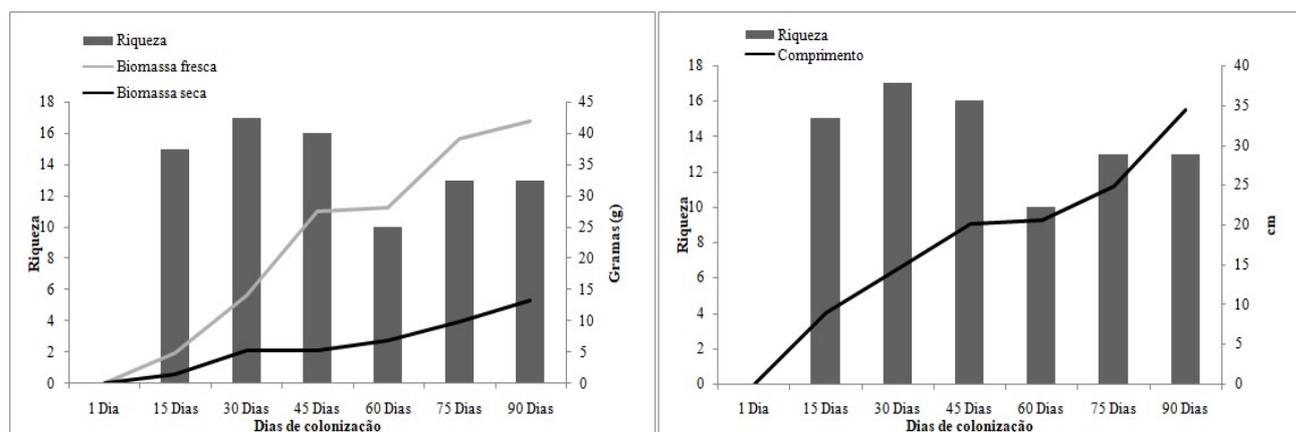
O grupo Cladocera foi representado por sete espécies, sendo a maior riqueza registrada na família Chydoridae (3). *Alonella dadayi* foi constante durante todo o período de coleta aumentando significativamente em densidade aos 60 dias de colonização e ocorrendo em menores densidades após esta amostragem, em todos os pontos de coleta. As duas outras espécies de Chydoridae também foram registradas no início do período de colonização, mas não mais foram registrados ao longo do estudo. *Alona guttata* foi registrada até a amostragem aos 45 dias, enquanto *Notoalona sculpta* foi registrada apenas em três pontos, na coleta aos 15 dias (Tabela 4). As demais famílias, Moinidae, Daphnidae, Macrothricidae e Ilyocryptidae estiveram representadas por apenas uma espécie cada. *Ilyocryptus spinifer* foi constante atingindo as maiores densidades na coleta realizada aos 45 dias e *Macrothrix spinosa* foi frequente, ocorrendo em pequena abundância aos 30 dias, com densidade relativamente maior aos 45 dias de colonização.

Tabela 6: Densidade e riqueza da comunidade zooplancônica da Lagoa Mayaca em São Carlos-SP no período de 90 dias de colonização.

Espécie	1 dia				15 dias				30 dias				45 dias				60 dias				75 dias				90 dias				Total	Freq. %	
	P1	P2	P3	P4	P1	P2	P3	P4	P1	P2	P3	P4	P1	P2	P3	P4	P1	P2	P3	P4	P1	P2	P3	P4	P1	P2	P3	P4			
<i>Moina minuta</i>									129		77	88																	294	0,009	
<i>Ceriodaphnia silvestrii</i>					40																								40	0,001	
<i>Macrothrix spinosa</i>									14286	51	58	1101	131	1157			1310	2850	4432	833	9204	6187	1867	1981	371	571	950		47341	1,431	
<i>Alona guttata</i>					167	333	167	100	245		95	119	327	385,71	238,10										495				2672	0,081	
<i>Alonella dadayi</i>					33	33			14286	103	143	381	87		476	100488	5222	6608	11818	5619	5745	4667	3590	10276	6514	4886	1010		181985	5,501	
<i>Notoalona sculpta</i>					33	33	33																						100	0,003	
<i>Ilyocryptus spinifer</i>					233	3800	2000	1467	1238	6551	7614	7745	9855	5937	12857	20762	1938	1312	4674	4167	312	276	867	371	3714	1371	1221	631	100914	3,050	
copepodito calanoida																													313	0,009	
copepodito cyclopoida					51	67	133	133	190	45	112	671	1778			1429	105		105	238	1249				914	271			7490	0,226	
nauplio cyclopoida																													126	0,811	
<i>Mesocyclops longisetus</i>																													100	0,003	
<i>Thermocyclops minutus</i>																													512	0,015	
copepodito harpacticoida																													88	0,003	
<i>Asplanchnopus</i> sp.					76000	144000	184000	98000	82												84286	27619	533	86667	2207	3395	136	1124	708048	21,401	
<i>Lecane bulla</i>					44333	32000	15333	7000	172	14286	112	189	503	259	25714	236		9048	20952	476	312		400	12381		114	126		183948	5,560	
<i>Lecane curvicornis</i>																					56190	69048							125238	3,785	
<i>Lecane cf. haliclysta</i>																					140	13810	267	743					28337	0,856	
<i>Lecane leontina</i>																													258	0,008	
<i>Lecane ludwigii</i>																													286	0,009	
<i>Lecane lunaris</i>																															
<i>Lecane papuana</i>																															
<i>Lecane cf. pertica</i>																															
<i>Lecane quadridentata</i>					6333	8000	33		13333	82	19524	48	59	306	129	119		9048	105		98333	41429			371	2452	45714	136	500	246053	7,437
<i>Lecane signifera</i>					101333	32000	23000	33	571	163	9762	72	81	131	129			105											182401	5,513	
<i>Lepadella</i> sp																													8129	0,246	
<i>Trichocerca cylindrica</i>																													25952	0,784	
<i>Trichocerca cf. colaris</i>																													37857	1,144	
<i>Trichocerca</i> sp									762	28571	29286	190	59		129														58997	1,783	
<i>Bdelloidea</i> sp.									13333	245	9762	48	252	326	45000			90	15714	516									118286	3,575	
Rotífero n identificado 1									95																				95	0,003	
<b>Densidade total</b>	0	0	0	0	228517	236493	224873	107141	48035	93616	174449	18658	114188	99258	233486	309331	145850	45665	53889	80469	396824	288582	62600	192895	20866	81795	34879	16136	3308495	100,000	
<b>Riqueza</b>	0	0	0	0	9	14	10	8	11	14	12	13	13	12	13	10	7	7	9	10	14	11	10	11	9	10	9	7	28		

A menor riqueza foi registrada no grupo Copepoda (4 táxons). As duas espécies da ordem Cyclopoida identificadas *Mesocyclops slongisetus* e *Thermocyclops minutus* foram raras ocorrendo em poucos pontos, porém as fases juvenis foram frequentes durante todo o estudo. *M. longisetus* foi registrado aos 15 dias de colonização apenas nos pontos P3 e P4 e *T. minutus* no ponto P4 aos 30 dias e nos pontos P2 e P4 aos 75 dias de colonização. As ordens Calanoida e Harpacticoida estiveram representadas apenas pelas fases juvenis a partir dos 15 dias de colonização, não podendo ser identificadas pela ausência de adultos nas amostras (Figura 7).

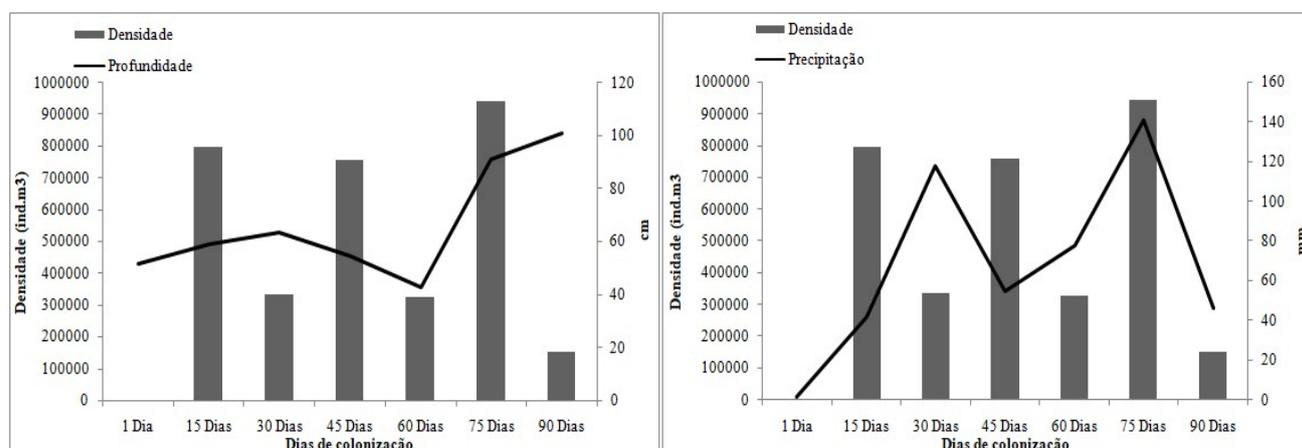
A Figura 7 também mostra a relação riqueza de espécies da comunidade zooplanctônica em relação ao tempo de colonização da lagoa e o desenvolvimento da macrófita aquática *Mayaca fluviatilis*. A densidade da comunidade zooplanctônica acompanhou o aumento de biomassa da macrófita. Entre 45 e 60 dias de colonização houve uma estabilização na biomassa da macrófita e ocorreu uma redução na densidade da comunidade zooplanctônica. Após esse período as macrófitas voltaram a crescer e a riqueza da comunidade zooplanctônica aumentou novamente.



**Figura 7:** Variação na riqueza de táxons da comunidade zooplanctônica (A) em função da profundidade e da biomassa (fresca e seca) da macrófita *Mayaca fluviatilis* na lagoa (em cm) e (B) da precipitação pluviométrica na área da lagoa (mm), ao longo do período experimental (90 dias).

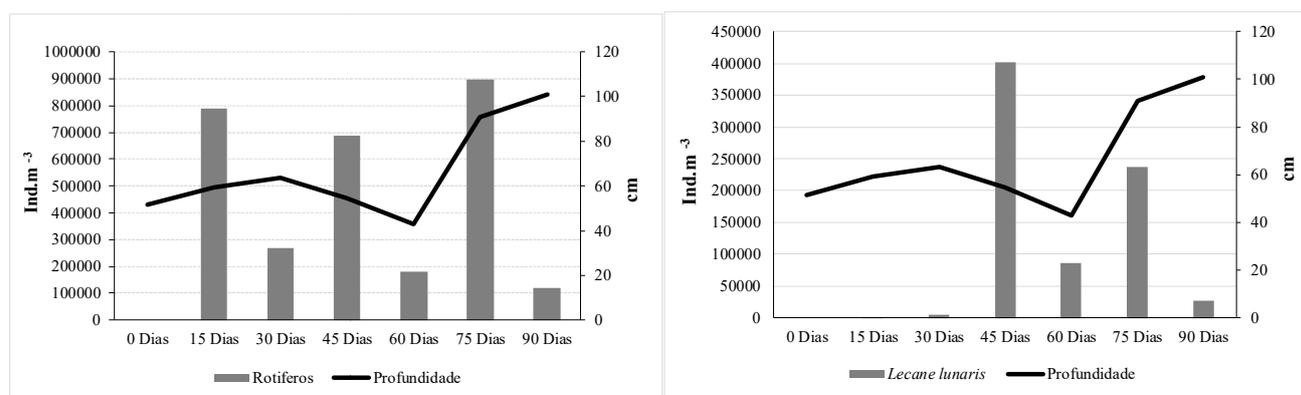
No início da colonização não foram registrados organismos zooplanctônicos, porém, com as primeiras chuvas e aumento da profundidade do ambiente, após 15 dias de colonização pode se já observar uma densidade considerável de organismos zooplanctônicos, tendo já atingido a densidade de  $787.466 \text{ ind.m}^{-3}$ . A maior densidade registrada para a comunidade zooplanctônica foi de  $898.519 \text{ ind.m}^{-3}$ , aos 75 dias de

colonização quando o nível da água se encontrava já próximo à profundidade máxima registrada durante o estudo (100 cm) (Figura 8).



**Figura 8:** Variação na densidade total de organismos (no. de indivíduos/m<sup>3</sup>) da comunidade zooplancônica (A) em função da profundidade (em m<sup>3</sup>) e (B) em função da precipitação pluvial (em mm) na área da lagoa Mayaca, ao longo do período experimental de 90 dias, (26 de outubro de 2018 a 24 de janeiro de 2019).

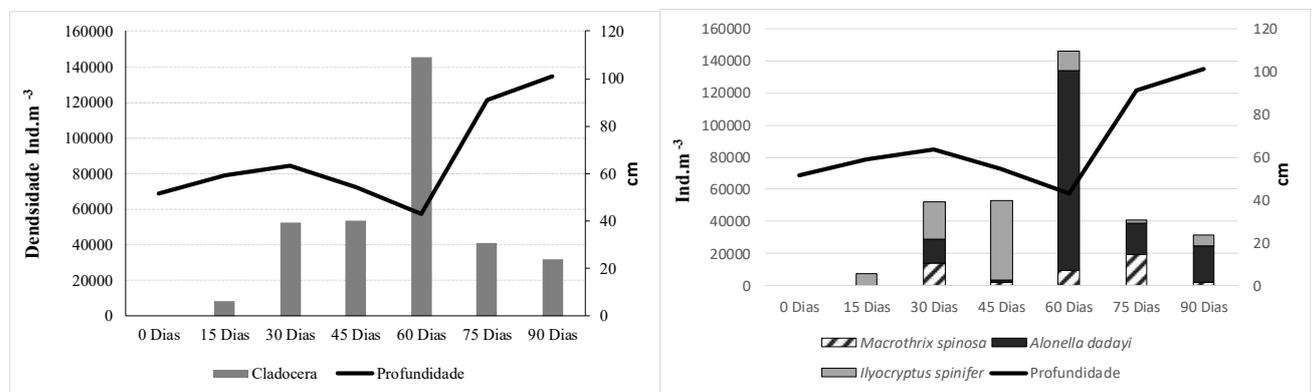
Esta mesma tendência pode também ser observada quando se analisa separadamente o grupo Rotifera já que grande parte das densidades da comunidade zooplancônica foi representada por espécies deste Filo. Dentro do grupo, a espécie *Lecane lunarisse* destacou por ter atingido altas densidades em curto período de colonização, chegando a atingir a densidade de 401. 666 ind.m<sup>-3</sup> aos 45 dias de colonização, contribuindo significativamente para a densidade da comunidade nesse período. A densidade desta espécie diminuiu, no entanto, aos 60 dias, período em que o corpo d'água já estava com menor nível (Figura 9).



**Figura 9:** Variação na densidade do grupo Rotifera (A) e (B) da espécie *Lecane lunaris* (Rotifera, Lecanidae), em função da profundidade da Lagoa Mayaca (em cm) ao longo dos 90 dias de recolonização.

Com 30 dias de colonização houve redução da precipitação e consequentemente o nível da água da lagoa também diminuiu atingindo a menor profundidade registrada ao longo do período de estudo de 42,75 cm de profundidade.

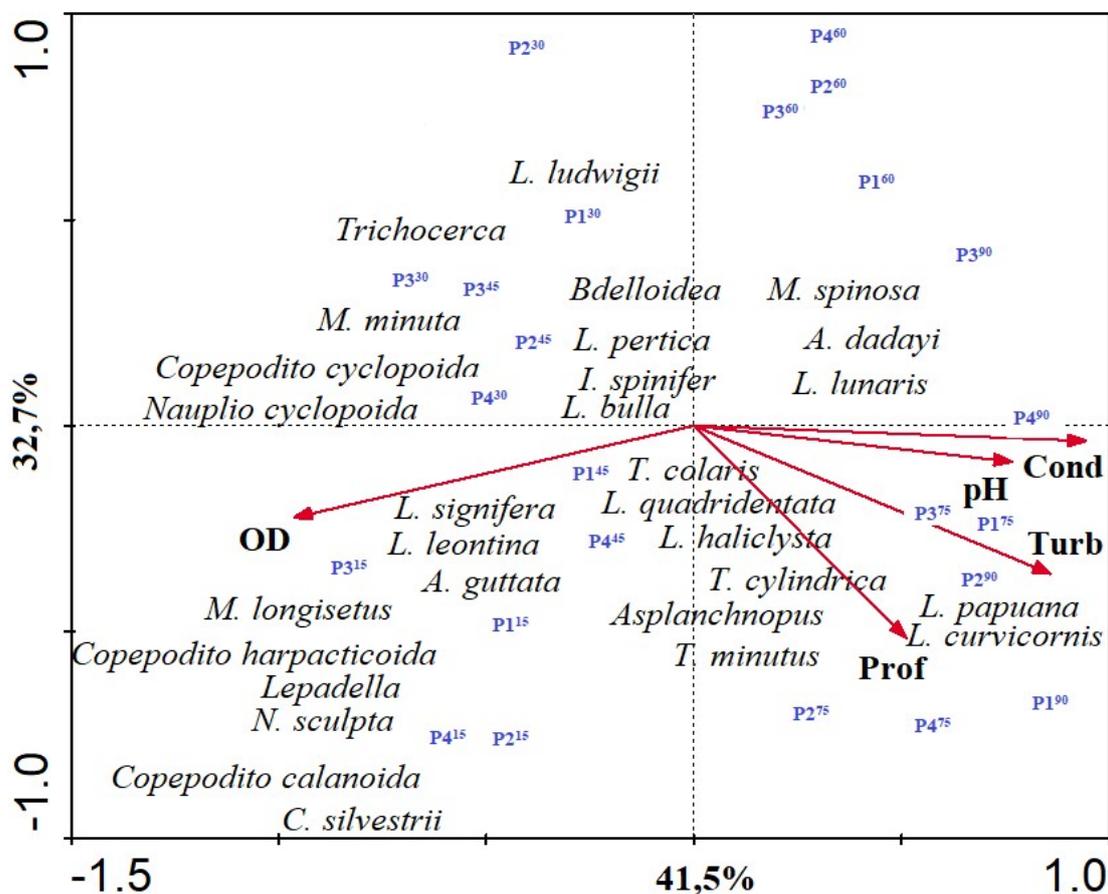
Analisando-se individualmente o grupo Cladocera pode se observar que com a menor profundidade do ambiente ocorreram as maiores densidades. Esse resultado está diretamente relacionado com as altas densidades de *A. dadayi*, *I. spinifer* e *M. spinosa* registrados na coleta de 60 dias de colonização (Figura 10).



**Figura 10:** Variação na densidade do grupo Cladocera (A) e (B) das espécies *A. dadayi*, *I. spinifer* e *M. spinosa*, em função da profundidade da Lagoa Mayaca (em cm) ao longo dos 90 dias de recolonização.

A Figura 11 exibe o resultado da Análise de Componentes Principais para as abundâncias da comunidade de zooplânctônica e as variáveis físicas e químicas da água para todos os pontos e períodos estudados. Cerca de 74% da variabilidade dos dados foram explicados nos dois primeiros eixos da análise. O eixo 1 explicou 41,50% dos dados, apresentando correlação negativa com as variáveis de condutividade, turbidez e profundidade. Positivamente o eixo 1 foi correlacionado com oxigênio dissolvido. Já o eixo 2 explicou 32,70% da variabilidade dos dados, apresentando correlação negativa com as variáveis de turbidez, profundidade e oxigênio dissolvido. O resultado apresentado na CCA mostra a formação de um grupo composto *T. colaris*, *L. quadridentata*, *L. haliclysta*, *T. cylindrica*, *Asplanchnopus sp.*, *T. minutus*, *L. papuana* e *L. curvicornis*, relacionando a maiores profundidades e com os períodos finais da colonização (75-90 dias). Outro grupo formado pelas espécies *L. ludwigii*, *Tricocerca*

sp., *Bdelloidea* sp., *M. minuta* e os copepoditos e nauplios cyclopoida a períodos intermediários de colonização e menores profundidades e turbidez.



**Figura 11:** Análise de Componentes Principais relacionando as variáveis físicas e químicas da água com as abundâncias dos táxons da comunidade zooplancônica aos 90 dias de colonização na Lagoa Mayaca, São Carlos-SP.

### Índice de espécies indicadoras para as comunidades de macroinvertebrados bentônicos e para a comunidade zooplancônica e índices ecológicos

Os resultados obtidos para o índice de espécies indicadoras para as comunidades de macroinvertebrados bentônicos, e para a comunidade zooplancônica, em função das condições limnológicas da lagoa Mayaca são apresentados na Tabela 5. Em relação aos macroinvertebrados bentônicos, somente a espécie *Tremea* sp. foi considerada bioindicadora ( $p = 0,029$  e  $\text{Indval} = 0,20$ ). Não houve nenhuma espécie indicadora um período específico de colonização.

Para a comunidade zooplancônica o índice de espécies indicadoras (Tabela 5) evidenciou as espécies *Ilyocryptus spinifer* (Cladocera, Ilyocryptidae ( $p = 0,018$  e

*Indval* = 0,88) e *Lecane lunaris* (Rotifera, Lecanidae) ( $p = 0,021$  e *Indval* = 0,70) como indicadoras das condições gerais da lagoa. Nenhuma espécie foi considerada indicadora para um período específico de colonização.

**Tabela 5:** Relação das espécies indicadoras (\*) ( $p < 0,05$ ), nas comunidades de macroinvertebrados bentônicos e zooplâncton da Lagoa Mayaca, São Carlos-SP, com base nos resultados.

Macroinvertebrados bentônicos			Zooplâncton		
Espécie	IndVal	p-value	Espécie	IndVal	p-value
<i>Dero</i> sp.	0,41	0,220	<i>Alona guttata</i>	0,21	0,120
<i>Nais</i> sp.	0,50	0,774	<i>Alonella dadayi</i>	0,31	0,307
(Adulto) <i>Berosini</i> sp.	0,16	0,732	<i>Asplanchnopus</i> sp.	0,30	0,142
(Adulto) <i>Celina</i> sp.	0,54	0,291	<i>Bdelloidea</i> sp.	0,30	0,404
(Adulto) <i>Gyrinus</i> sp.	1,00	0,386	<i>Ceriodaphnia silvestrii</i>	1,00	0,366
(Adulto) <i>Neelmis</i> sp.	0,50	0,606	Copepodito calanoida	0,60	0,482
(Larva) <i>Celina</i> sp.	0,21	1,000	Copepodito cyclopoida	0,18	0,872
(Larva) <i>Neelmis</i> sp.	0,50	0,599	Copepodito harpacticoida	0,66	0,520
<i>Ablabesmyia</i> sp.	0,17	0,402	<i>Ilyocryptus spinifer</i>	0,88*	0,018*
<i>Americabaetis</i> sp.	0,28	0,566	<i>Lecane bula</i>	0,21	0,129
<i>Anax</i> sp.	0,31	0,646	<i>Lecane cf. haliclysta</i>	0,31	0,520
<i>Beardius</i> sp.	0,18	0,750	<i>Lecane cf. pertica</i>	0,31	0,051
<i>Belostoma</i> sp.	0,17	0,454	<i>Lecane curvicornis</i>	0,32	0,714
<i>Bezzia</i> sp.	0,60	0,099	<i>Lecane leontina</i>	0,33	1,000
<i>Caladomyia</i> sp.	0,22	0,912	<i>Lecane ludwigii</i>	0,33	0,899
<i>Chaoborus</i> sp.	0,50	0,788	<i>Lecane lunaris</i> *	0,70	0,021*
<i>Chironomus</i> sp.	0,13	0,909	<i>Lecane papuana</i>	0,40	0,515
<i>Culex</i> sp.	0,17	0,173	<i>Lecane quadridentata</i>	0,20	0,706
<i>Hydrachna</i> sp.	0,66	0,490	<i>Lecane signifera</i>	0,35	0,627
<i>Labrundinia</i> sp.	0,28	0,328	<i>Lepadella</i> sp.	0,66	0,519
<i>Larsia</i> sp.	0,19	0,867	<i>Machrothrix spinosa</i>	0,23	0,656
<i>Limnocois</i> sp.	0,14	0,958	<i>Mesocyclops longisetus</i>	0,21	1,000
<i>Monogobia</i> sp.	0,46	0,516	<i>Moina minuta</i>	0,54	0,286
<i>Notonecta</i> sp.	0,52	0,280	Nauplio cyclopoida	0,26	0,502
<i>Paracloeodes</i> sp.	0,45	0,666	<i>Notoalona sculpta</i>	0,42	0,570
<i>Perithemis</i> sp.	0,55	0,417	Rotífero n identificado 1	0,33	1,000
<i>Progomphus</i> sp.	0,75	0,172	<i>Thermocyclops minutus</i>	0,45	0,115
<i>Simulium</i> sp.	0,42	0,560	<i>Trichocerca cf. colaris</i>	0,60	0,074
<i>Tanytarsini</i> sp.	0,50	0,618	<i>Trichocerca cilíndrica</i>	0,21	1,000
<i>Tenagobia</i> sp.	0,33	1,000	<i>Trichocerca</i> sp.	0,24	0,852
<i>Tramea</i> sp.*	0,20	0,029*			

Em relação aos índices ecológicos de diversidade, equitabilidade e dominância, observou-se a mais baixa diversidade para a comunidade de macroinvertebrados bentônicos no primeiro dia de amostragem, com um aumento significativo aos 15 dias de colonização (0,76 bits.ind<sup>-1</sup>). Entre os períodos de 30-60 dias a diversidade flutuou entre 1,27 a 1,57 bits.ind<sup>-1</sup>. A estabilização da diversidade ocorreu nos dois últimos períodos de amostragem, alcançando o valor máximo com 90 dias (1,97 bits.ind<sup>-1</sup>). Já a uniformidade de distribuição dos organismos amostrados entre os táxons, foi maior no

primeiro dia de amostragem. Entretanto poucos organismos foram coletados neste período, havendo dominância do coleóptero *Berosini* sp. Nos períodos subsequentes a dominância foi alterada para os dípteros *Chironomus* sp. e *Culex* sp. (Tabela 6).

**Tabela 6:** Índices ecológicos de diversidade, equitabilidade e dominância para a comunidade de macroinvertebrados bentônicos e zooplânctônica.

Dias de colonização	Riqueza		Diversidade		Equitabilidade		Dominância	
	Bentos	Zooplâncton	Bentos	Zooplâncton	Bentos	Zooplâncton	Bentos	Zooplâncton
1 Dia	4	0	0,76	0	0,95	0	0,48	0
15 Dias	19	16	1,59	0,85	0,74	0,35	0,32	0,35
30 Dias	12	17	1,27	1,43	0,85	0,52	0,34	0,52
45 Dias	16	16	1,57	1,27	0,79	0,51	0,3	0,51
60 Dias	11	10	1,27	1,3	0,77	0,63	0,35	0,63
75 Dias	17	14	1,81	1,61	0,85	0,66	0,21	0,66
90 Dias	21	13	1,97	1,28	0,81	0,58	0,19	0,58

## Discussão

As comunidades zooplânctônicas e bentônicas são diretamente atingidas pelas mudanças físicas e químicas dos ecossistemas aquáticos. No presente estudo as variáveis de oxigênio dissolvido e turbidez foram determinantes no processo de colonização, estabelecendo um padrão no gradiente de colonização ao longo do período estudado. O oxigênio dissolvido é um fator de extrema importância para o metabolismo da fauna bentônica, e sua concentração depende da respiração da comunidade, fluxo de água, e do balanço entre produção e decomposição de matéria orgânica (Ward et al. 1988). Os táxons mais sensíveis a baixas concentrações de OD não colonizam regiões com anoxia, como por exemplo, os táxons das ordens Trichoptera, Ephemeroptera, Plecoptera e Megaloptera, que são restritos a ambientes lóticos com alta concentração de oxigênio dissolvido. Logo, estes táxons não foram encontrados no lago Mayaca no período de 90 dias estudado. As interações entre fatores bióticos e abióticos, assim como a intensidade destas interações também influenciam a colonização, principalmente em nível de paisagem, pois atividades antrópicas podem desestruturar e modificar habitats e os padrões abióticos fundamentais para a colonização destes habitats nos sistemas aquáticos. Winkelmann et al. (2003) e Graça et al. (2004), relatam a importância dos fatores abióticos na estruturação da comunidade, uma vez que tais fatores podem favorecer, limitar ou inibir a colonização.

O processo de seca do lago do Mayca foi um fator de estresse sobre as comunidades o que provavelmente levou a produção de estruturas de dormência

deixando um banco de ovos no sedimento. Com o início das chuvas as condições bióticas e abióticas voltaram a ser favoráveis a sobrevivência das comunidades bentônicas e zooplanctônicas e esses ovos começaram a eclodir, estabelecendo as comunidades bentônicas e zooplanctônicas na coluna d'água novamente. Como resposta às alterações negativas do ambiente (alterações no nível da água, no pH, oxigênio dissolvido) e a presença de predadores ou outra condição desfavorável, os organismos zooplanctônicos podem alterar o comportamento, a morfologia e até mesmo a história de vida, tentando manter o seu genótipo e a persistência das populações (SANTANGELO, 2009). Alguns organismos da comunidade bentônica também produzem ovos resistentes às variações ambientais e em altas taxas (KATANO et al. 1998) o que permite que colonizem novos ambientes de forma mais rápida e eficiente.

O zooplâncton é um organismo essencial nos ecossistemas aquáticos, pois responde rapidamente às mudanças das características físicas e químicas de qualidade da água. Desta forma a sensibilidade destes organismos é uma diretriz indicadora para controle da qualidade da água, (LAMPERT, 1987; SENDACZ *et al.*, 2006; REIS, 2015), assim como a comunidade bentônica que exercem um papel fundamental na ciclagem de nutrientes e no fluxo de energia nos ecossistemas aquáticos, participando ativamente da fragmentação e decomposição da matéria orgânica, que alteram as características do substrato, contribuindo para o processo de sucessão ecológica (STRIXINO & TRIVINHO-STRIXINO, 2006, MUGNAI et al. 2010; BAGATINI et al. 2012).

Grande parte da riqueza de espécies da comunidade zooplanctônica registrada no presente estudo foram registradas por LUCINDA (2007) no Fazzari (21°58'S e 47°53'W), um pequeno reservatório próximo a lagoa do Mayaca. Este corpo d'água devido à proximidade da lagoa do Mayaca pode ter servido de fonte colonizadora, como o copépodo *M. longisetus*, os cladóceros *A. dadayi*, *M. minuta*, *I. spinifer* e os rotíferos *Lepadella* sp., *Trichocerca* sp., Bdelloidea e várias espécies de *Lecanes* que ocorreram no presente estudo. A colonização da comunidade zooplânctônica é fortemente influenciada por seus respectivos vetores de dispersão. Portanto a capacidade de colonização está altamente relacionada a dispersão por fatores externos (VANSCHOENWINKEL et al. 2018), como chuva, ventos e animais (especialmente mamíferos, aves e insetos) (MORAIS-JUNIOR et al. 2019).

O grupo Rotifera foi o mais representativo com o maior número de espécies. A dominância numérica do grupo na comunidade zooplanctônica é comumente registrada nos ambientes aquáticos continentais (lagos, rios, reservatórios e poças) (ROCHA et al., 1995). Esse fato pode ser atribuído, entre outros fatores, às altas taxas de crescimento populacional e oportunismo frente às periódicas alterações nas condições limnológicas que podem ocorrer nos ambientes (ALLAN, 1976). Por colonizarem diversos ambientes, apresentarem altas taxas reprodutivas e curto ciclo de vida, em média uma semana podem ser considerados oportunistas (STREBLE; FROST, 1987) colonizando rapidamente o ambiente e se mantendo ao longo dos 90 dias de colonização estudado. Este comportamento foi observado claramente com a espécie *L. bulla* que colonizou e teve altas densidades no início da colonização e foi reduzindo suas densidades ao longo do processo, provavelmente com o aumento da competição por outras espécies.

A presença da macrófita *Mayaca* provavelmente contribuiu para a maior riqueza da família Chydoridae dentre os Cladoceros. A ocorrência de macrófitas representa maior heterogeneidade espacial, servindo de refúgio para muitas espécies zooplanctônicas, além de desempenharem importante papel na estabilização de condições ambientais (NESSIMIAN; De-LIMA, 1997). Esta região forma uma variedade de habitats, favorecendo o desenvolvimento de condições especiais para o crescimento de espécies de Chydoridae. Como foi possível observar nos registros de *A. dadayi* ao longo do processo de colonização, a espécie aumentou suas densidades rapidamente conforme a profundidade da coluna d'água aumentava, a diminuição da precipitação e consequente diminuição do nível da água alteraram as condições, até então ideais para a espécie, levando a diminuição das suas densidades (SANTANGELO, 2009). Os cladóceros *I. spinifer* e *M. spinosa* também foram constantes e diminuíram suas densidades ao longo do período de colonização. *I. spinifer* é um cladóceros característico de região bentônica, associado ao sedimento e as macrófitas (SANTOS-WISNIESWI et al., 2002) e com aumento da profundidade da coluna d'água, as amostras da comunidade zooplanctônica coletadas estava mais distante do sedimento o que pode ter reduzido o número de indivíduos amostrados da espécie.

Os fatores que afetam e/ou alteram a comunidade também atingirão a dinâmica dos ecossistemas aquáticos, já que são organismos capazes de influenciar processos ecológicos fundamentais (WETZEL, 1983). O zooplâncton é considerado o elo entre os

produtores (fitoplâncton) e os consumidores maiores da cadeia alimentar como peixes e larvas de inseto, graças a seu elevado metabolismo, possui um papel central na dinâmica de um ecossistema aquático (ARMENGOL, 1980; LAZZARO, 1987; RAMOS, 2002; RUSSO; HAHN, 2006). Por tanto, a comunidade zooplânctônica foi fonte importante de alimento no processo de recolonização. No processo de recolonização da lagoa do Mayaca não ocorreram peixes, na falta dos peixes, os predadores invertebrados passam a apresentar maior influência (BENNDORF *et al.*, 2000; HOBBAEK *et al.*, 2002; MENDES *et al.*, 2014).

A sucessão da comunidade de macroinvertebrados está relacionada a uma mudança na composição das espécies, na biomassa e nas características ambientais (BROWER; ZAR, 1984; CARVALHO & UIEDA, 2004). A composição dos macroinvertebrados bentônicos em ecossistemas aquáticos é bastante diversificada, sendo os insetos (larvas, ninfas e adultos) os principais componentes desta fauna. Também são representados por diversos outros grupos como os anelídeos, crustáceos, moluscos e nematódeos. A colonização dos ecossistemas lênticos temporários pelos macroinvertebrados acontece na maioria dos táxons por oviposição. Até mesmos os táxons mais ativos se beneficiam da estratégia de migração para a colonização. Estudos realizados por Grzybkowska *et al.* (2004); Callisto & Goulart (2005) e Barbero *et al.* (2013) mostram a importância deste fator no processo de distribuição espacial da comunidade de invertebrados aquáticos. No entanto, a colonização também pode ocorrer através de busca ativa por alimentos, comum em táxons de indivíduos predadores (e.g. Odonata e Hemiptera).

A composição e a distribuição espacial da fauna de invertebrados aquáticos bentônicos de lagos temporários depende de vários fatores ambientais (HEPP; SANTOS, 2009; HEPP *et al.*, 2010), mas principalmente das variações no nível de água e do tipo de substrato disponível para colonização (VANNOTE *et al.* 1980; BAPTISTA *et al.* 2000; LORION; KENNEDY 2009; LEITNER *et al.* 2015; SANTOS *et al.* 2016). O nível de água pode também atuar na natureza do substrato, interferindo na estrutura das comunidades de invertebrados (WHITTON, 1975; SHI *et al.* 2019).

A predominância de quironomídeos e culicídeos em todos os períodos de colonização ocorre devido à alta taxa de produção de ovos resistentes às variações ambientais destes grupos (KATANO *et al.* 1998). Além de táxons família Chironomidae e Culicidae, os primeiros períodos de colonização são caracterizados também tanto por táxons que possuem características de colonizadores iniciais como por exemplo

espécies das famílias Dytiscidae e Hydrophilidae (Coleoptera). A dominância de poucos táxons nos estágios iniciais é uma característica comum no processo de colonização.

Aos 15-30 dias do processo de sucessão ecológica, a substituição de táxons começa a ser evidente. A abundância e a riqueza se tornam mais expressivas. Neste período também começaram a se estabelecerem táxons de espécies predadoras, como as dos grupos Odonata e Hemiptera, que migram para o novo habitat devido à presença de espécies que servem como presas para os mesmos (e.g. larvas de quironomídeos e culicídeos). O processo de sucessão ocorre a partir do momento em que o ambiente vai se modificando com a carga de matéria orgânica (BROWER, 1984; THOMAZZI et al. 2008), que no lago Mayaca é oriunda principalmente do desenvolvimento e decomposição da macrófita *Mayaca flutivalis* que vai se acumulando no sedimento. Os táxons mais exigentes vão substituindo ou excluindo os táxons pioneiros que iniciaram esse processo de colonização. Estes táxons que iniciaram a colonização ficam em desvantagem competitiva por recursos, uma vez que táxons de colonização tardia apresentam vantagens morfológicas que lhes conferem melhor capacidade de movimentação e dispersão.

Pode-se considerar que o ápice do processo de colonização foi atingido neste lago temporário, assim como em riachos naturais, aos 90 dias de colonização. Os resultados obtidos neste estudo são semelhantes aos apresentados por Carvalho & Uieda (2004). Em experimento realizado pelos autores com substratos artificiais, os maiores valores de densidade e riqueza ocorreram aos 45 dias de colonização. A colonização e sucessão ecológica ocorrem de forma diversificada até o período de 60 dias, com tendência à estabilização e/ou reinício do ciclo até o período de 90 dias.

O entendimento de processos ecológicos envolve o estudo de interações entre os componentes bióticos e abióticos dos ecossistemas aquáticos e podem ser melhores previsores de qualidade ambiental do que determinar os índices de diversidade, pois tais estudos não se limitam a quantificar a biodiversidade em determinada área, e sim a avaliar as condições necessárias para que as espécies se mantenham e interajam.

## Conclusões

- A comunidade zooplanctônica da Lagoa Mayaca, apesar de ser um ecossistema temporário assemelha-se à dos pequenos lagos permanentes em ambientes semelhantes, sendo composta principalmente por rotíferos, cladóceros e copépodos;
- A comunidade de macroinvertebrados bentônicos é composta quase que em totalidade pelos insetos aquáticos, sendo os dípteros das famílias Culicidae e principalmente Chironomidae, o grupo mais dominante e representativo em riqueza e abundância.
- Fatores ambientais como precipitação, profundidade e turbidez se mostram determinantes no processo de colonização e substituição espécies dos invertebrados aquáticos ao longo do tempo.
- Com base no índice de espécies indicadoras a espécie de odonata da família Libellulidae *Tramea* sp. foi considerada a espécie indicadora do ambiente. Já para a comunidade zooplanctônica as espécies indicadoras foram, *Ilyocryptus spinifer* e *Lecane lunaris*.
- A colonização e sucessão ecológica das comunidades de invertebrados ocorrem de forma gradual e diversificada até o período de 45 dias, com tendência a estabilização e/ou reinício do ciclo até o período de 60 dias, até o ápice de diversidade com 90 dias de colonização.
- Os estudos de processos ecológicos envolvem interações entre os componentes bióticos e abióticos dos ecossistemas aquáticos podem ser melhores previsores de qualidade ambiental do que determinar índices de diversidade, pois tais estudos não se limitam a quantificar a biodiversidade em determina área, e sim avaliar as condições necessárias mínimas para que as espécies se mantenham e interajam.

## Referências bibliográficas

- ALLAN, J. D. 1976. Life history patterns in zooplankton. **American Naturalist**, v.110, p:165-80.
- ARMENGOL, J. 1980. Colonización de los embalses españoles por crustáceos planctónicos y evolución de la estructura de sus comunidades. **Oecologia Aquatica**, v. 4, p. 45-70.

- BAGATINI, Y.M., DELARIVA, R.L. and HIGUTI, J. 2012. Benthic macroinvertebrate community structure in a stream of the north-west region of Paraná State, Brazil. *Biota Neotropica*, vol. 12, no. 1, p. 307-317.
- BAPTISTA, D.F.; DORVILLÉ, L.F.M.; BUSS, D.F.; NESSIMIAN, J.L. 2001. Spatial and temporal organization of aquatic insect assemblages in the longitudinal gradient of atropical river. **Brazilian Journal of Biology**, 61(2): 295-304.
- BARBERO, M.D.; OBERTO, A.M.; GUALDONI, C.M. 2013. Spatial and temporal patterns of macroinvertebrates in drift and on substrate of a mountain stream (Cordoba, Central Argentina). **Acta Limnologica Brasilienses**, v.24, n.4, p.375-386.
- BENNDORF, J.; WISSEL, B.; SELL, A. F.; HORNIG, U.; RITTER, P.; BOING, W. 2000. Food Web Manipulation by Extreme Enhancement of Piscivory: an Invertebrate Predator Compensates for the Effects of Planktivorous Fish on a Plankton Community. **Limnologia**, v. 30, p. 235-245.
- BOULTON, A.J.; BROCK, M.A. 1999. Australian Freshwater Ecology. Processes and Management. **Gleneagles Publishing**, Adelaide, Australia, 250p.
- BRACCIA, A.; EGGERT, S. L.; KING, N. 2014. Macroinvertebrate colonization dynamics on artificial substrates along an algal resource gradient. **Hydrobiologia**, v. 727, p. 1-18.
- BROCK, M.A.; NIELSEN, D.L.; SHIEL, R.; GREEN, J.D.; LANGLEY, A.D. 2003. Drought and aquatic community resilience: the role of eggs and seeds in sediments of temporary wetlands. **Freshwater Biology**. 48, 1207–1218.
- BROWER, J.H. 1984. The natural occurrence of the egg parasite, *Trichogramma*, on almond moth eggs in peanut storages in Georgia. **Journal of the Georgia Entomology Society**, v.19, p.285-290.
- BROWER, J.E.; ZAR, J.H. 1984. **Field and laboratory methods for general ecology**. 2.ed. Dubuque: W. C. Brown Company, 226p.
- CALLISTO, M.; GOULART, M. 2005. Invertebrate drift along a longitudinal gradient in a Neotropical stream in Serra do Cipó National Park, Brazil. **Hydrobiologia**, v.539, p.47-56.
- CARVALHO, E.M.; UIEDA, V.S. 2004. Colonização por macroinvertebrados bentônicos em substrato artificial e natural em um riacho da serra de Itatinga, São Paulo, Brasil. **Revista Brasileira de Zoologia** [online]. vol.21, n.2, pp.287-293.
- DAVIES, B.R.; WALMSLEY, R.D. 1985. Perspectives in Southern Hemisphere Limnology Proceedings of a Symposium, held in Wilderness, South Africa, 1984. **Hydrobiologia**. 125: 85-110
- DUFRENE, M.; LEGENDRE, P. 1997. Species assemblages and indicator species: the need for a flexible asymmetrical approach. **Ecological Monographs**, 67: 345-366.
- ELMOOR-LOUREIRO, L.M.A. 1997. Manual de identificação de cladóceros límnicos do Brasil. Brasília, **Universa**. p156.

ESCARPINATI, S.C. 2006. Composição e dinâmica da família Chironomidae em dois períodos hidrológicos distintos, durante o ciclo fenológico de *Mayca fluviatilis* Aublet, 1775. Dissertação. Programa de Pós Graduação em Ecologia e Recursos Naturais. **Universidade Federal de São Carlos**.

GRAÇA, M.A.S.; PINTO, P.; CORTES, R.; COIMBRA, N.; OLIVEIRA, S.; MORAIS, M.; CARVALHO, M.J.; MALO, J. 2004. Factors Affecting Macroinvertebrate Richness and Diversity in Portuguese Streams: a Two-Scale Analysis. **Hydrobiologia**, v.82, n.2, p.151-164.

GRZYBKOWSKA, M.; MALGORZATA, D.; FIGEL, K.; SZCZERKOWSKA, E. & TSZYDEL, M. 2004. Dynamics of macroinvertebrate drift in a lowland river. **Zoologica Poloniae**, v.49, p.111-127.

HAMADA, N.; NESSIMIAN, J.L.; QUERINO, R.B. 2014. **Insetos aquáticos na Amazônia Brasileira: Taxonomia, Biologia e Ecologia**. Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia, 728p.

HEPP, L. U.; MILESI, S. V.; BIASI, C.; RESTELLO, R. M. 2010. Effects agricultural and urban impacts on macroinvertebrates assemblages in streams (Rio Grande do Sul, Brazil). **Revista Brasileira de Zoologia**, v. 27, n.1, p.106-113,

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

HOBBAEK, A.; MANCA, M.; ANDERSEN, T. 2002. Factors influencing species richness in lacustrine zooplankton. **Acta Oecologica**, v. 23, p. 3, p. 155-163.

IRGANG, B.E.; GASTAL, C.V. 1996. **Macrófitas aquáticas da planície costeira do RS**. 1ª edição, Porto Alegre, 290p.

IMS, R.A.; YOCCOZ, N.G. 1997. Chap. 11 – Studying transfer processes in metapopulations: emigration, migration, and colonization. In: HANSKI, I.A.; GILPIN, M.E. (eds.), **Metapopulation Biology: Ecology, Genetics and Evolution**. Academic Press, New York, pp. 247–266.

JEPPESEN, E.; JENSEN, J. P.; SONDERGAARD, M.; LAURIDSEN, T.; PEDERSEN, L. J.; JENSEN, L. 1997. Top-down control in freshwater lakes: the role of nutrient state, submerged macrophytes and water depth. **Hydrobiologia**, v. 342-343, n. 0, p. 151-164.

OLIVIERI, I.; GOUYON, P.H. 1997. Evolution of migration rate and other traits: the metapopulation effect. In: HANSKI, I.A.; GILPIN, M.E. (eds.), **Metapopulation Biology: Ecology, Genetics and Evolution**. Academic Press, New York, pp. 293–324

KATANO, O.J.T.; MAEKAWA K.; IGUCHI, K. 1998. Colonization of an artificial stream by fishes and aquatic macroinvertebrates. **Ecological Research**, v.13, p.83-96.

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

- KOSTE, W.; SHIEL, R.J. 1986. Rotifera from Australian Inland waters I. Bdelloidea (Rotifera: Digononta). **Australian Journal of Marine and Freshwater Research**, v.37, p: 765-792.
- KOTOV, A.A. 2009. A revision of *Leydigia* Kurz, 1875 (Anomopoda, Cladocera, Branchiopoda), and subgeneric differentiation within the genus. **Zootaxa**, v. 2082, p. 1-84.
- LAMPERT, N.Z.J. 1987. Laboratory studies on zooplankton–cyanobacteria interactions. **Mar. Freshwater Research**. 21, pp. 483-490.
- LAZZARO, X. 1987. A review of planktivorous fishes: their evolution, feeding, behaviours, selectivities, and impacts. **Hydrobiologia**. v. 146, p. 97–167.
- LEITNER, P.; HAUER, T.; OFENBÖCK, T.; PLETTERBAUER, F.; SCHMIDT-KLOIBER.; GRAF W. 2015. Fine sediment deposition affects biodiversity and density of benthic macroinvertebrates: A case study in the freshwater pearl mussel river Waldaist (**Upper Austria**). *Limnologia*. V. 50, p.54-57
- LUCINDA, I. 2007. Estudo de comunidades planctônicas (bacterioplâncton, nanoflagelados, fitoplâncton e zooplâncton) em um pequeno reservatório tropical - experimentos com mesocosmos. 271 f. Tese (Doutorado em Ciências Biológicas) - **Universidade Federal de São Carlos**, São Carlos.
- LORION C.; KENNEDY B. 2009. Relationships between deforestation, riparian forest buffers and benthic macroinvertebrates in neotropical headwater streams. **Freshwater Biology** 54, 165–180.
- MORAIS-JUNIOR, C.S.; MELO-JÚNIOR, M.; SOUZA, T.G.; LYRA-NEVES, R.M. 2019. Zoochory of zooplankton: seasonality and bird morphological diversity can influence metacommunity dynamics of temporary ponds. **Journal of Plankton Research**. 41(4): 465–477.
- MERRIT, R.W.; CUMMINS, K.W. 1996. **An introduction to the aquatic insects of North America**. Dubuque: Kendal/ Hunt Publication Company. 1158p.
- MOREIRA, R. A.; ODETE, R.; MARTINS, R. S.; DIAS, E.S.; MOREIRA, F. W. A.; ESKINAZI-SANTANNA, E. M. 2016. Composition, body-size structure and biomass of zooplankton in a high-elevation temporary pond (Minas Gerais, Brazil). **Oecologia australis**, v. 20, n. p. 81-93.
- MUGNAI, R.; NESSIMIAN, J. L.; BAPTISTA, D. F. 2010. **Manual de Identificação de Macroinvertebrados Aquáticos do Estado do Rio de Janeiro**. Rio de Janeiro: Technical books Editora.
- NESSIMIAN, J. L.; De-LIMA, I. H. A. G. 1997. Colonização de três espécies de macrófitas por macroinvertebrados aquáticos em um brejo no litoral do estado do Rio de Janeiro. *Acta Limnologica Brasiliensia*, v. 9, p. 149–163.
- NOGRADY, T.; H. SEGERS (eds), 2002. Rotifera 6; The Asplanchnidae, Gastropodidae, Lindiidae, Microcodinidae, Synchaetidae, Trochosphaeridae. In Dumont, H. J. (ed.), **Guides to the Identification of the Microinvertebrates of the**

**Continental Waters of the World**18. Back huys Publishers BV, Dordrecht, The Netherlands.

NOGRADY, T.; WALLACE, RL.; SNELL, TW. 1993. Rotifera: biology, ecology and systematic. In: DUMONT, HJF. **Guides to the identification of the microinvertebrates of the continental waters of the world. Netherlands: SPB Academic Publishing**, v.1: p: 1-142.

OKSANEN, J., BLANCHET, F. G., KINDT, R., LEGENDRE, P., O'HARA, R. B., SIMPSON, G. L., SOLYMOS, P., STEVENS, M. H. & WAGNER, H. 2012. Multivariate Analysis of Ecological Communities in R: package "vegan", (URL <http://vegan.r-forge.r-project.org/>).

PERBICHE-NEVES, G. 2011. Copépodes planctônicos (Calanoida e Cyclopoida) em reservatórios e trechos lóticos da bacia do Rio da Prata (Brasil, Paraguai, Argentina e Uruguai): taxonomia, distribuição geográfica e atributos ecológicos. Tese de Doutorado. **Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho, UNESP- São Paulo**.

RAMOS, M. E. C. 2002. Diagnóstico da comunidade zoobentônica do infralitoral da Baía de Garapua, Cairu - BA. 2002. 78f. Monografia (Bacharel em Ciências Biológicas) - **Universidade Federal da Bahia**, Salvador.

REID, J.W. 1985. Chave de identificação para as espécies continentais sulamericanas de vida livre da Ordem Cyclopoida (Crustacea, Copepoda). *Boletim de Zoologia*, v.9, p: 17-143.

R CORE TEAM. R: 2020. **A language and environment for statistical computing**. Vienna: R Foundation for Statistical Computing.

ROBERTS, D.W. 2012. **Labdsv: ordination and multivariate analysis for Ecology**. R package, version 1.6 - 1.

ROCHA, O.; SENDACZ, S.; MATSUMURA-TUNDISI, T. Composition, biomass and productivity of zooplankton in natural lakes and reservoirs of Brazil. In: TUNDISI, JG.; BICUDO, CEM.; MATSUMURA-TUNDISI, T. (Eds). *Limnology in Brazil*. Rio de Janeiro: ABC/SBL. p.151-165. 1995.

RÓLDAN-PÉREZ, G. 1988. **Guía para el estudio de los macro invertebrados acuáticos del Departamento de Antioquia**. Bogotá: Universidad de Antioquia, 216 p.

REID, J.W. 1985. Chave de identificação para as espécies continentais sulamericanas de vida livre da Ordem Cyclopoida (Crustacea, Copepoda). *Boletim de Zoologia*, v.9, p: 17-143.

REIS, K. P. 2015. Estrutura da comunidade zooplanctônica de lagos de grande altitude com ênfase nas alterações das populações de *Bosmina freyi* (Cladocera, Bosminidae) (ocorrência de macho e ovos de resistência). Dissertação (Mestre em Ciências Ambientais) - **Universidade Federal de Alfenas**, Alfenas, Minas Gerais.

ROQUE, O.; CORREIA, L.C.S.; TRIVINHO-STRIXINO S.; STRIXINO G. 2003. A review of chironomidae studies in lentic systems in the State of São Paulo, Brazil. **Biota Neotropica**, 4:2, 1-19.

RUSSO, M. R.; HAHN, N. S. 2006. Importance of zooplankton in the diet of a small fish in lagoons of the upper Paraná River floodplain, Brazil. **Acta Limnol. Bras.**, v.18, n.4, p.357-366.

SANTANGELO, J. M.2009. Produção, eclosão e implicações ecológicas e evolutivas dos estágios dormentes do zooplâncton. **LIMNOtemas**, v.7, p.1-36.

SANTOS, J.E.; PAESE, S.R.; PIRES, S.R. 1999. Unidades de paisagem (Biótopos) do campus da UFScar. **Carta temática**. Programa de Pós Graduação em Ecologia e Recursos Naturais.

SANTOS, L.B.; BRUNO, C.G.C.; SANTOS, J.C. 2016. Colonization by benthic macroinvertebrates in two artificial substrate types of a Riparian Forest **Acta Limnologica Brasilienses**. vol.28.

SANTOS-WISNIEWSKI, M. J; ROCHA, O.; GÜNTZEL, A. M.; MATSUMURA-TUNDISI, T. Cladocera Chydoridae of highaltitude water bodies (Serra da Mantiqueira), in Brazil. **Braz.Journ Biology**, v. 62, n. 4, p. 681-687, 2002.

SCHWARTZ, S.S. JENKINS, D.G. 2000. Temporary aquatic habitats: constraints and opportunities. **Aquatic Ecology** 34: 3–8.

SENDACZ, S.; KUBO, E.; CESTAROLLI, M.A. 1985. Limnologia de reservatórios do sudeste do Estado de São Paulo, Brasil. **Boletim do Instituto de Pesca**, v. 12, n. 1, p. 187-207.

SEGRS, H. 1995. Rotifera: the Lecanidae (Monogononta) In: Dumont, H.J.F. Guides to the identification of the microinvertebrates of the continental waters of the world. Netherlands: SPB Academic, v.2. 226 p.

SEGRS, H.; SHIEL, RJ. 2003. Microfaunal diversity in a biodiversity hotspot: new rotifers from South western Australia. **Zoological Studies**, v.42, n.4: 516-521.

SEGURA, M.O.; VALENTE-NETO, F.; FONSECA-GESSNER, A.P. 2011. Chave de famílias de Coleoptera aquáticos (Insecta) do Estado de São Paulo, **Biota Neotropical**, v.11, n.1.

STREBLE, J. H.; FROST, B. W. 1987. Atlas de los microorganismos de agua dulce: la vida en una gota de agua. Omega: Barcelona, p. 83-85.

SILVA, W.M.; MATSUMURA-TUNDISI, T. 2005. Taxonomy, ecology, and geographical distribution of the species of the genus *Thermocyclops* Kiefer, 1927 (Copepoda, Cyclopoida) in São Paulo state, Brazil, with description of a new species. **Brazilian Journal of Biology**, v.65, n.3: 521-531.

SILVA, W.M. 2003. Diversidade dos Cyclopoida (Copepoda, Crustacea) de água doce do estado de São Paulo: taxonomia, ecologia e genética. Tese de Doutorado. **Universidade Federal de São Carlos, São Carlos**. 154 p.

SHI, X.; LIU, J.; YOU, X.; BAO, K.; MENG, B. 2019. Shared effects of hydromorphological and physico-chemical factors on benthic macroinvertebrate integrity for substrate types. **Ecological Indicators**, V 105, Pages 406-414.

SMIRNOV, N. N. 1974. **Chydoridae of the world's fauna. Fauna of the URSS – Crustacea 1**: 1-644. Windermere, UK: Freshwater Biological Association.

THAMES, J. L.; D. D. EVANS, 1981. **Desert ecosystems: An overview**. In: EVANS, D. D.; THAMES, J. L. (eds), *Water in Desert Ecosystems*, Dowden, Hutchinson & Ross. Inc., Stroudsburg. 1-12.

THOMAZI, R.D.; KIIFER, W.P.; FERREIRA-JR, P.D.; SÁ, F. A. 2008. Seasonal ecologic succession of benthic maroinvertebrates in diferente artificial attractors types in the Bubu river, Cariacica, E.S. **Natureza On Line**, v.6, n.1. p.1-8.

TRIVINHO-STRIXINO, S. 2011. **Larvas de Chironomidae: Guia de identificação**. São Carlos, UFSCar. 371p.

VANNOTE, R. L., MINSHALL G. W., CUMMINS K. W., SEDELL J. R. & CUSHING C. E. 1980. The river continuum concept. **Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences**. 37:130–137.

VANSCHOENWINKEL, B.; GIELEN, S.; SEAMAN, M.; BRENDONCK, L. 2008. Any way the wind blows - frequent wind dispersal drives species sorting in ephemeral aquatic communities. **Oikos**. 117:125–134.

WARD, J.V.; BRETSCHKO, G.; BRUNKE, M.; DANIELOPOL, D.J.; GILBERT, J.; GONSER, T. & HILDREW, G. 1998. The boundaries of river systems: the metazoan perspective. **Freshwater. Biology**. v.40, p.531-569.

WELLBORN, G. A.; SKELLY, D. K.; WERNER, E. E. 1996. Mechanisms creating community structure across a freshwater habitat gradient. **Annual Review of Ecology and Systematics**, v. 27, p. 337-363.

WETZEL, R.G. **Limnology**, 2 ed. Philadelphia: Saunders College Publishing, 679p, 1983.

WILLIAMS, D.D. 2006. **The biology of temporary waters**. Oxford University. Press, Oxford, U.K. 337p.

WHITTON, B.A. 1975. **River ecology**. California, University of California Press, 725p.

WINKELMANN, C.; KOOP, J.H.E; BENNDORF, J. 2013. Abiotic features and macroinvertebrate colonization of the hyporheic zones of two tributaries of the river Elbe (Germany). **Limnologica**, v.33, p.112-121.

SILVA, W.M. 2003. Diversidade dos Cyclopoida (Copepoda, Crustacea) de água doce do estado de São Paulo: taxonomia, ecologia e genética. Tese de Doutorado. **Universidade Federal de São Carlos, São Carlos**. 154 p.

SHI, X.; LIU, J.; YOU, X.; BAO, K.; MENG, B. 2019. Shared effects of hydromorphological and physico-chemical factors on benthic macroinvertebrate integrity for substrate types. **Ecological Indicators**, V 105, Pages 406-414.

SMIRNOV, N. N. 1974. **Chydoridae of the world's fauna. Fauna of the URSS – Crustacea 1**: 1-644. Windermere, UK: Freshwater Biological Association.

THAMES, J. L.; D. D. EVANS, 1981. **Desert ecosystems: An overview**. In: EVANS, D. D.; THAMES, J. L. (eds), *Water in Desert Ecosystems*, Dowden, Hutchinson & Ross. Inc., Stroudsburg. 1-12.

THOMAZI, R.D.; KIIFER, W.P.; FERREIRA-JR, P.D.; SÁ, F. A. 2008. Seasonal ecologic succession of benthic maroinvertebrates in diferente artificial attractors types in the Bubu river, Cariacica, E.S. **Natureza On Line**, v.6, n.1. p.1-8.

TRIVINHO-STRIXINO, S. 2011. **Larvas de Chironomidae: Guia de identificação**. São Carlos, UFSCar. 371p.

VANNOTE, R. L., MINSHALL G. W., CUMMINS K. W., SEDELL J. R. & CUSHING C. E. 1980. The river continuum concept. **Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences**. 37:130–137.

VANSCHOENWINKEL, B.; GIELEN, S.; SEAMAN, M.; BRENDONCK, L. 2008. Any way the wind blows - frequent wind dispersal drives species sorting in ephemeral aquatic communities. **Oikos**. 117:125–134.

WARD, J.V.; BRETSCJKO, G.; BRUNKE, M.; DANIELOPOL, D.J.; GILBERT, J.; GONSER, T. & HILDREW, G. 1998. The boundaries of river systems: the metazoan perspective. **Freshwater. Biology**. v.40, p.531-569.

WELLBORN, G. A.; SKELLY, D. K.; WERNER, E. E. 1996. Mechanisms creating community structure across a freshwater habitat gradient. **Annual Review of Ecology and Systematics**, v. 27, p. 337-363.

WETZEL, R.G. **Limnology**, 2 ed. Philadelphia: Saunders College Publishing, 679p, 1983.

WILLIAMS, D.D. 2006. **The biology of temporary waters**. Oxford University. Press, Oxford, U.K. 337p.

WHITTON, B.A. 1975. **River ecology**. California, University of California Press, 725p.

WINKELMANN, C.; KOOP, J.H.E; BENNDORF, J. 2013. Abiotic features and macroinvertebrate colonization of the hyporheic zones of two tributaries of the river Elbe (Germany). **Limnologica**, v.33, p.112-121.

## CAPITULO 2

### TOXICIDADE AGUDA DE TRÊS METAIS (COBRE, CÁDMIO E MERCÚRIO) PARA NOVE ESPÉCIES DE DIFERENTES GRUPOS TAXONÔMICOS DA BIOTA AQUÁTICA TROPICAL

#### Resumo

A sensibilidade de espécies pertencentes a diferentes grupos taxonômicos tanto de invertebrados como de vertebrados da região Neotropical ainda é pouco estudada. Por isso, a fim de contribuir para o aumento do conhecimento sobre a sensibilidade de espécies nativas tropicais quando expostas a metais foram realizados testes de toxicidade aguda com nove espécies de diferentes grupos taxonômicos da biota aquática de uma lagoa ultra-oligotrófico em área preservada com vegetação de cerrado no município de São Carlos, para avaliar a toxicidade de três metais: cádmio - Cd, cobre – Cu e mercúrio - Hg. Os dados de toxicidade produzidos nos permitiram comparar a sensibilidade entre as espécies do mesmo ambiente e com espécies de outros ambientes e regiões (temperadas e tropicais). A ordem da sensibilidade ao metal foi diferente para as nove espécies utilizadas como organismos-teste: *Astyanax paranae* (peixe): Hg > Cu > Cd; *Boana faber* (anfíbio): Cu > Hg > Cd; *Scinax fuscovarius* (anfíbio): Cu > Hg > Cd; *Macrothrix spinosa* (cladóceros): Cd > Hg > Cu; *Dero digitata* (oligoqueto): Hg > Cd > Cu; *Berosini* sp. (coleóptero): Hg > Cd > Cu; *Belostoma* sp. (hemíptero): Hg > Cd > Cu; *Culex* sp. (díptero): Hg > Cd > Cu; *Anax* sp. (Odonata): Hg > Cd > Cu. Contudo, o mercúrio foi o metal mais tóxico dentre aqueles testados, pois cinco dentre as nove espécies estudadas foram mais sensíveis a esse metal. A classificação de acordo com a sensibilidade dos organismos-teste para os metais foram apresentadas e no geral o cladóceros *M. spinosa* foi a espécie mais sensível, sendo mais sensível ao Cu e ao Hg e teve a segunda maior sensibilidade ao Cd. Devido à necessidade de ampliação de estudos com espécies autóctones, todas as espécies utilizadas no presente estudo são consideradas organismos-teste adequados para avaliações de toxicidade de metais em regiões tropicais. Estudos futuros também devem avaliar a toxicidade crônica e incluir outras rotas importantes de exposição aos metais, como sedimentos e alimentação.

**Palavras-chave:** invertebrados, cadeia trófica, sensibilidade.

## Abstract

The sensitivity of species belonging to different taxonomic groups of both invertebrates and vertebrates in the Neotropical region is still poorly studied. Therefore, in order to contribute to the increase in knowledge about the sensitivity of tropical native species when exposed to metals, acute toxicity tests were carried out with nine species from different taxonomic groups of the aquatic biota of an ultra-oligotrophic lagoon in a preserved area with vegetation of cerrado in the municipality of São Carlos, to evaluate the toxicity of three metals: cadmium - Cd, copper - Cu and mercury - Hg. The toxicity data produced allowed us to compare the sensitivity between species from the same environment and with species from other environments and regions (temperate and tropical). The order of sensitivity to metal was different for the nine species used as test organisms: *Astyanax paranae* (fish): Hg> Cu> Cd; *Boana faber* (amphibian): Cu> Hg> Cd; *Scinax fuscovarius* (amphibian): Cu> Hg> Cd; *Macrothrix spinosa* (cladocerus): Cd> Hg> Cu; *Dero digitata* (oligoquet): Hg> Cd> Cu; *Berosini* sp. (coleoptera): Hg> Cd> Cu; *Belostoma* sp. (hemipter): Hg> Cd> Cu; *Culex* sp. (diptera): Hg> Cd> Cu; *Anax* sp. (Odonata): Hg> Cd> Cu. However, mercury was the most toxic metal among those tested, as five of the nine species studied were more sensitive to this metal. The classification according to the sensitivity of the test organisms to metals was presented and in general the cladocerus *M. spinosa* was the most sensitive species, being more sensitive to Cu and Hg and had the second highest sensitivity to Cd. In order to expand studies with native species, all species used in this study are considered suitable test organisms for assessing the toxicity of metals in tropical regions. Future studies should also assess chronic toxicity and include other important routes of exposure to metals, such as sediment and food.

**Keywords:** invertebrates, food chain, sensitivity.

## Introdução

A denominação de metal se refere a qualquer elemento metálico que tenha uma densidade parcialmente alta e que seja tóxico, mesmo em baixa concentração (LENNTECH, 2004; DURUIBE et al. 2007). Esta denominação geral se aplica ao grupo de metais e metalóides com densidade atômica 3 a 5 vezes maior que a água (HAWKES, 1997; VAKHRUSHEV et al., 2020). Os metais incluem: chumbo (Pb), cádmio (Cd), zinco (Zn), mercúrio (Hg), arsênio (As), prata (Ag) cromo (Cr), cobre (Cu) ferro (Fe) e os metais do grupo dos elementos: platina (Pt), paládio (Pd), rádio (Rd), rutênio (Rh), irídio (Ir) e ósmio (Os) (FARLEX, 2005).

Naturalmente grandes quantidades de metais estão sempre presentes nos ecossistemas aquáticos, oriundos de fontes vulcânicas ou erosão do solo, intemperismo de rochas, e reciclagem geoquímica de elementos de metais (ZVINOWANDA et al., 2009; SALATI; MOORE, 2010; PARELHO et al., 2014). Estes elementos podem ser acumulados no sedimento, e estar relacionados na absorção, co-precipitação e formação de complexos metálicos Também podem ser co-adsorvidos com outros elementos como óxidos, hidróxidos de Fe, Mn ou podem ocorrer em forma de partículas (MOHIUDDIN et al., 2010; SOUZA et al., 2015). Os metais em concentrações-traço exercem uma função fundamental para a manutenção da funcionalidade dos organismos vivos, uma vez que estes necessitam de uma concentração pequena de metais essenciais (e.g. cobre, ferro, zinco e manganês) para manterem em equilíbrio todas suas atividades metabólicas, como a produção enzimática e hormonal, a estabilização de estruturas biológicas e até prevenção de doenças (ANDRADE et al., 2010; ROSABAL et al., 2015; NORDBERG et al., 2014).

No entanto, nos últimos anos a poluição dos ecossistemas aquáticos por metais se tornou um problema global (SIN et al., 2001; SIKDER et al. 2003; ARMITAGE et al., 2007; MACFARLANE; BURCHETT, 2000; YUAN et al., 2011; MANI et al., 2014), devido à sua potencial toxicidade, abundância, persistência ambiental e capacidade de bioacumulação em ecossistemas aquáticos (CENSI et al., 2006). Sendo assim existe um potencial ameaça à saúde dos organismos vivos (MANI et al., 2014), principalmente em países subdesenvolvidos (OCHIENG et al., 2008; SEKABIRA et al., 2010).

Grandes quantidades de metais foram liberadas nos rios em todo o mundo devido ao rápido crescimento populacional global e às atividades antrópicas intensivas,

como a produção industrial, agrícola (ISLAM et al., 2014) e a mineração, uma das principais fontes de mercúrio no ambiente (PEPLOW, 1999). Os rios nas áreas urbanas também estão associados a problemas de qualidade da água devido à prática de se descarregarem resíduos domésticos e industriais não tratados nos corpos d'água, o que leva ao aumento do nível de metais na água (VENUGOPAL et al., 2009). Desta forma a toxicidade por metais vêm se tornando um risco ambiental significativo para invertebrados, peixes e também seres humanos (ARANTES et al., 2016), nos quais estes metais podem ser acumulados e biomagnificados ao longo da cadeia alimentar aquática, resultando em efeitos subletais ou morte das populações (XU et al., 2004; YI et al. 2011).

Assim, a contaminação por metais constitui um grande problema para a biodiversidade de ecossistemas tropicais, uma vez que biomas como o Cerrado brasileiro, que atualmente é considerado um dos 25 “*hotspots*” do planeta Terra devido à alta proporção de endemismo e por estar nas últimas décadas passando por perda exponencial de habitat e por intensa contaminação dos recursos hídricos (RIBEIRO-JÚNIOR; BERTOLUCI, 2009).

Em consequência da complexidade do ambiente aquático e da diversificada rede de processos físicos, químicos e biológicos relacionados aos contaminantes neste ambiente. Dificilmente os testes de toxicidade realizados em laboratório vão gerar informações extrapoladas para a escala ambiental. Além disso, deve se considerar que devido às várias e diferentes condições abióticas e bióticas presentes nos ecossistemas aquáticos, não há organismo nem comunidade ecológica que possam ser usados para avaliar todos os efeitos possíveis sobre esses ecossistemas. Para que os efeitos em escala ambiental pudessem ser previstos a partir dos testes de toxicidade, as informações toxicológicas deveriam ser conectadas a modelos populacionais. Apesar desta problemática, os testes de toxicidade realizados sob condições controladas e padronizadas é uma alternativa para se criarem informações para avaliação dos efeitos ecológicos de contaminantes tóxicos (COSTA et al., 2008).

Embora seja reconhecido que existem diferenças entre as sensibilidades dos organismos pertencentes a diferentes regiões climáticas, tais diferenças ainda não foram detalhadamente investigadas, por exemplo, em relação à sensibilidade a diferentes classes de compostos químicos, diferentes fatores e mecanismos de toxicidade (como os modos dissimilares de ação tóxica dos compostos-teste), diferenças relacionadas a alterações da temperatura no metabolismo, absorção e desintoxicação entre espécies

tropicais e temperadas, dentre outras (KWOKET al., 2007). Por isso, vários autores têm realizado comparações da sensibilidade das espécies de regiões tropicais com a sensibilidade das espécies de regiões temperadas, quando expostas a diferentes poluentes (FREITAS; ROCHA, 2014; DAAM; RICO, 2016; MANSANO et al., 2016; MOREIRA et al., 2017; BUCH et al., 2017).

O objetivo do presente estudo foi avaliar a sensibilidade de nove espécies da biota aquática tropical: *Astyanax paranae* (peixe), *Boana faber* (anfíbio), *Scinax fuscovarius* (anfíbio), *Macrothrix spinosa* (cladóceros), *Dero digitata* (oligoqueto), *Berosini* sp. (coleóptero), *Belostoma* sp. (hemiptero), *Culex* sp. (díptero) e *Anax* sp. (Odonata) a três metais, esperando-se primeiramente a utilização dessas espécies nativas como organismos-teste em bioensaios e também conhecer a sensibilidade, se equivalente, maior ou menor do que espécies recomendadas em protocolos padronizados e utilizadas em testes ecotoxicológicos. Para este fim, foram realizados testes de toxicidade aguda em laboratório para avaliar a sensibilidade destes organismos ao sulfato de cobre ( $\text{CuSO}_4$ ), cloreto de cádmio ( $\text{CdCl}_2$ ) e cloreto de mercúrio ( $\text{HgCl}_2$ ).

## **Materiais e métodos**

### **Organismos-teste**

Os espécimes de anuros das espécies *Boana faber* e *Scinax fuscovarius* foram obtidos no lago Mayaca, um pequeno reservatório intermitente localizado no Campus da Universidade Federal de São Carlos (UFSCar - SP) onde foram coletadas desovas de ambas as espécies. As desovas coletadas foram levadas ao laboratório e aclimatadas em aquários de 50L até os animais completarem o desenvolvimento embrionário. Os girinos foram mantidos em água reconstituída (ABNT 2016), e alimentados diariamente, utilizando-se ração de peixe (Alcon Basic<sup>®</sup>), como alimento. A alimentação foi interrompida 24 horas antes da realização dos testes ecotoxicológicos. Para ambas as espécies, a água reconstituída tinha as seguintes características: pH ( $7,40 \pm 0,60$ ), dureza ( $180 \pm 5,5$  mg  $\text{CaCO}_3/\text{L}$ ), temperatura ( $23,00 \pm 1,2^\circ\text{C}$ ) e condutividade elétrica ( $260 \pm 72\mu\text{S cm}$ ). A temperatura no laboratório foi controlada a  $25 \pm 2^\circ\text{C}$  e com fotoperíodo natural. Durante o período de desenvolvimento dos girinos, a água dos aquários foi renovada semanalmente em 50% do volume total, visando manter a qualidade da água para o melhor desenvolvimento dos organismos. Estas condições

(temperatura, luz e regime alimentar) são as usualmente estabelecidas em experimentos com girinos (JIQUIRIÇÁ 2010; MOREIRA et al. 2019; FREITAS et al. 2019), caracterizando-se como adequadas para manutenção destes em condições saudáveis no laboratório. Somente indivíduos saudáveis, julgados pela morfologia externa e comportamento (Bantleet al. 1991), foram selecionados para os experimentos. As espécies nativas foram coletadas sob autorização concedida pela licença n°. 17559-10, autorizada pelo Instituto Brasileiro de Meio Ambiente e Recursos Naturais Renováveis (IBAMA).

Indivíduos de *Dero digitata* (Oligochaeta: Naididae) foram coletados em tanques de cultivo em água doce, na Estação Experimental de Aquicultura, do Departamento de Hidrobiologia da Universidade Federal de São Carlos, SP (Figura 7) no campus da UFSCar (21°58'54,7" S 47°52'39,3" W), sob elevadas temperaturas e abundante biomassa da alga Chlorophyta *Chlorella sorokiniana*. Os indivíduos coletados foram mantidos para aclimação durante pelo menos uma semana antes dos testes. As culturas foram mantidas sob fotoperíodo controlado (16 h Luz: 8h Escuro) e temperatura constante de 25 °C ± 2 °C. Os oligoquetos foram cultivados em água reconstituída com características conhecidas de oxigênio dissolvido (8,56-11,30 mg/L), dureza (90,0-400,0 mg CaCO<sub>3</sub> L<sup>-1</sup>), condutividade (150,0-350,0 µScm<sup>-1</sup>), temperatura e pH (6,0-9,0). Os oligoquetas foram alimentados com biomassa da alga Chlorophyta *Chlorella sorokiniana* esterilizada e seca em estufa a 60 °C, por quatro dias.

As ninfas predadoras de *Anax* sp. (Odonata: Aeshnidae) e *Belostoma* sp. (Hemiptera: Belostomatidae), o peixe *Astyanax paranae* (Characiformes: Characidae) e o coleóptero *Berosini* sp. (Coleoptera: Hydrophilidae) foram coletados na Lagoa Mayaca. Após as coletas os predadores foram mantidos no laboratório em frascos de plástico individuais contendo água reconstituída (ABNT 2016), e diariamente alimentados com náuplios de *Artemia franciscana* (Crustacea, Anostraca). A alimentação foi interrompida por 24 horas antes da realização dos testes ecotoxicológicos. Para ambas as espécies, a água reconstituída tinha as seguintes características: pH: 7,40 ± 0,60, dureza: 180 ± 5,5 mg CaCO<sub>3</sub>/L; temperatura: 23,00 ± 1,2°C e condutividade elétrica: 260 ± 72µS cm.



**Figura 1:** Vista geral dos organismos-teste utilizados no presente estudo para a realização de testes de toxicidade com metais: o peixe *Astyanax paranae* (A); o Odonata *Anax* sp. (B); o anfíbio *Scinax fuscovarius* (C); o anfíbio *Boana faber* (D); o coleóptero *Berosini* sp. (E); o hemíptero *Belostoma* sp. (F); o cladóceros *Macrothrix spinosa* (G); o díptero *Culex* sp. (H) e o oligoqueto *Dero digitata* (I) ©David Liittschwager, 2015.

### Testes de toxicidade aguda

Foram submetidos aos testes de sensibilidade os peixes (*Astyanax paranae*) de três lotes, e girinos (*Boana faber* e *Scinax fuscovarius*) e de três desovas de cada espécie, coletados em períodos distintos. O intuito foi verificar as condições fisiológicas dos animais e garantir que as potenciais causas de mortalidade nos testes de toxicidade fossem relacionadas apenas com a exposição dos organismos aos metais e não devido à debilitação da saúde dos indivíduos. Após a fase de aclimação dos organismos às condições de laboratório, os mesmos foram expostos a soluções com sulfato de cobre (número CAS-7758-99-8 da marca Synth) a partir de uma solução-estoque de 100 mg/L por 96 horas nas concentrações nominais mostradas na Tabela 1.

Para *Boana faber* foram realizados 20 testes de toxicidade aguda. As concentrações foram selecionadas com base nos resultados obtidos em testes preliminares. Para cada concentração, foram estabelecidas quatro réplicas com três organismos no estágio 25 conforme a Tabela de Gosner (Gosner, 1960; Sparling et al. 2010). Cada recipiente continha três litros de água reconstituída (1 L/indivíduo) preparada conforme as recomendações da ABNT (2016). Após o período de exposição (96h) foi avaliada a mortalidade dos indivíduos. As exposições foram realizadas nas mesmas condições de manutenção dos girinos no laboratório (temperatura  $24 \pm 2$  °C, 12:12 h fotoperíodo claro/escuro, pH 7,0-8,0). No entanto, estes não foram alimentados durante as 96 h de exposição. No início e ao final de cada teste foram feitas medidas das variáveis físicas e químicas da água como: temperatura, pH, oxigênio dissolvido, e condutividade elétrica da água.

Nos testes de toxicidade com as duas espécies de insetos aquáticos predadores, *Belostoma* sp. e *Anax* sp. foram feitas quatro repetições estabelecidas por concentração (Tabela 1), com três indivíduos cada. Contudo os indivíduos foram colocados em recipientes individuais, evitando-se a predação dos organismos quando juntos e sem alimentação. Cada réplica consistia em um recipiente de plástico contendo 10 ml de solução-teste e uma ninfa de libélula. Os experimentos foram realizados em temperatura controlada de  $25 \pm 1$  °C, no escuro, e os animais não foram alimentados durante os testes, os quais tiveram a duração de 96 horas. Para a elaboração da carta controle foram realizados 20 testes com o sulfato de cobre utilizando como organismo-teste o hemíptero *Belostoma* sp.

Para os testes de toxicidade aguda realizados com o oligoqueto *Dero digitata* (96h de exposição) e com o díptero *Culex* sp. (48h de exposição) com os metais cobre, cádmio e mercúrio, foram estabelecidas quatro repetições para cada tratamento de metal, com cinco diferentes concentrações de cada composto, além de um controle, exceto para o cobre, pois foram realizados 20 testes para elaboração da carta controle. Para certificar a reprodutibilidade dos valores de toxicidade e levar em consideração a variabilidade dos resultados, foram realizados cinco testes de toxicidade aguda definitiva para os quatro compostos. Os testes foram realizados em copos de plástico com cinco organismos para testes isolados em 10 mL da solução-teste ou 10 mL da água reconstituída, para o controle. Uma vez realizados os testes preliminares, foram estabelecidas as faixas de concentrações experimentais para cada composto (Tabela 1). Os experimentos foram mantidos sob temperatura constante de  $22 \pm 2$  °C, em

incubadora, no escuro e semalimentação. As leituras foram realizadas, após 48h e 96h de exposição. Para isso os indivíduos experimentais foram observados sob um estereomicroscópio da marca Zeiss, em aumento de até 50X, e os números de organismos mortos foram contados e utilizados para calcular a Concentração Letal média (96-h LC50).

Para os testes de toxicidade aguda com o Cladocera *Macrothrix spinosa* foram utilizados neonatos da terceira e quarta ninhada com idade entre 6 e 24 horas e estes foram expostos aos metais estudados. Foram utilizadas quatro réplicas para cada concentração (Tabela 1) contendo três organismos em cada réplica, distribuídos em placas multicelulares contendo 10 mL em cada réplica. Durante os testes, os organismos foram mantidos no escuro, a  $25\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 0,5$ , em incubadora, sem alimentação. A leitura dos ensaios foi realizada utilizando-se um estereomicroscópio. Foi considerada a mortalidade os organismos que não foram capazes de nadar em um intervalo de 15 segundos. O composto químico utilizado como substância de referência foi o sulfato de cobre como recomendado por Ossana et al. (2010).

**Tabela 1:** Concentrações utilizadas nos testes de toxicidade com o sulfato de cobre, cloreto de cádmio e cloreto de mercúrio para as oito espécies de teste. Em todos os testes, um tratamento controle (concentração de metal = 0 mg/L) também foi incluído. As concentrações de teste são fornecidas em mg/L.

Organismo-teste	Sulfato de Cobre ( $\text{CuSO}_4$ )	Cloreto de Cádmio ( $\text{CdCl}_2$ )	Cloreto de Mercúrio ( $\text{HgCl}_2$ )
<i>Boana faber</i>	0,02; 0,04; 0,06; 0,08; 0,10	2,20; 2,30; 2,40; 2,50; 2,60	0,08; 0,10; 0,12; 0,14; 0,16
<i>Scinax fuscovarius</i>	0,10; 0,20; 0,30; 0,40; 0,50	1,80; 2,20; 2,60; 3,00; 3,40	0,10; 0,20; 0,30; 0,40; 0,50
<i>Dero digitata</i>	0,27; 0,38; 0,54; 0,75; 1,05	0,04; 0,06; 0,08; 0,10; 0,12	0,03; 0,04; 0,05; 0,06; 0,07
<i>Belostomas p.</i>	0,60; 0,80; 1,00; 1,20; 1,40	1,80; 2,20; 2,60; 3,00; 3,40	0,10; 0,20; 0,30; 0,40; 0,50
<i>Culex sp.</i>	4,00; 6,00; 8,00; 10,00; 12,00	0,10; 0,20; 0,30; 0,40; 0,50	0,01; 0,02; 0,03; 0,04; 0,05
<i>Macrothrix spinosa</i>	0,20; 0,25; 0,30; 0,35; 0,40	0,01; 0,02; 0,03; 0,04; 0,05	0,008; 0,016; 0,032; 0,064; 0,128
<i>Berosini sp.</i>	0,20; 0,40; 0,60; 0,80; 1,00	0,10; 0,20; 0,30; 0,40; 0,50	0,02; 0,04; 0,06; 0,08; 0,10
<i>Anas p.</i>	0,30; 0,60; 0,90; 1,20; 1,50	0,30; 0,60; 0,90; 1,20; 1,50	0,10; 0,20; 0,30; 0,40; 0,50
<i>Astyanax paranae</i>	0,06; 0,12; 0,24; 0,48; 0,96	2,00; 4,00; 6,00; 8,00; 10,00	0,05; 0,06; 0,07; 0,08; 0,09

### Distribuição da sensibilidade das espécies

Para permitir a comparação da sensibilidade das espécies utilizadas como organismos-teste no presente estudo foram construídas curvas de distribuição de sensibilidade das espécies (SSDs) para os três metais testados. As SSDs foram construídas utilizando o programa ETX versão 2.0 (VAN-VLAARDINGENET al.,

2004). A  $HC_5$  (concentração perigosa para 5% das espécies) e  $HC_{50}$  (concentração perigosa para 50% das espécies) e seus limites de confiança foram também determinados com a utilização desse software, baseado na metodologia descrita por Aldenberg e Jaworska (2000). Como uma distribuição log-normal dos dados é assumida neste programa, a log-normalidade foi avaliada com o teste de Anderson-Darling incluído no pacote do software ETX, no nível de significância de 5%.

Os valores de 96 h- $CL_{50}$  foram calculados por regressão não linear, usando a curva logística de três parâmetros no software Statistica 7.0 (STATSOFT, 2004). A faixa de sensibilidade ao sulfato de cobre foi estabelecida por meio de um modelo desenvolvido pelo USEPA (1985), o gráfico de carta-controle, que consiste em uma linha representando o valor médio das 96 h- $CL_{50}$  de 20 testes de toxicidade aguda e os limites superiores e inferiores do intervalo de confiança de 95%, que são mostrados como duas linhas, que correspondem a mais (superior) ou menos (inferior) duas vezes o desvio da média.

## **Resultados**

### **Variáveis físicas e químicas e validade dos ensaios de toxicidade**

Os parâmetros físicos e químicos das soluções-teste obtidos no início e ao final dos testes de toxicidade aguda demonstraram a estabilidade nos ensaios realizados para ambas as espécies, como pode ser observado na Tabela 1.

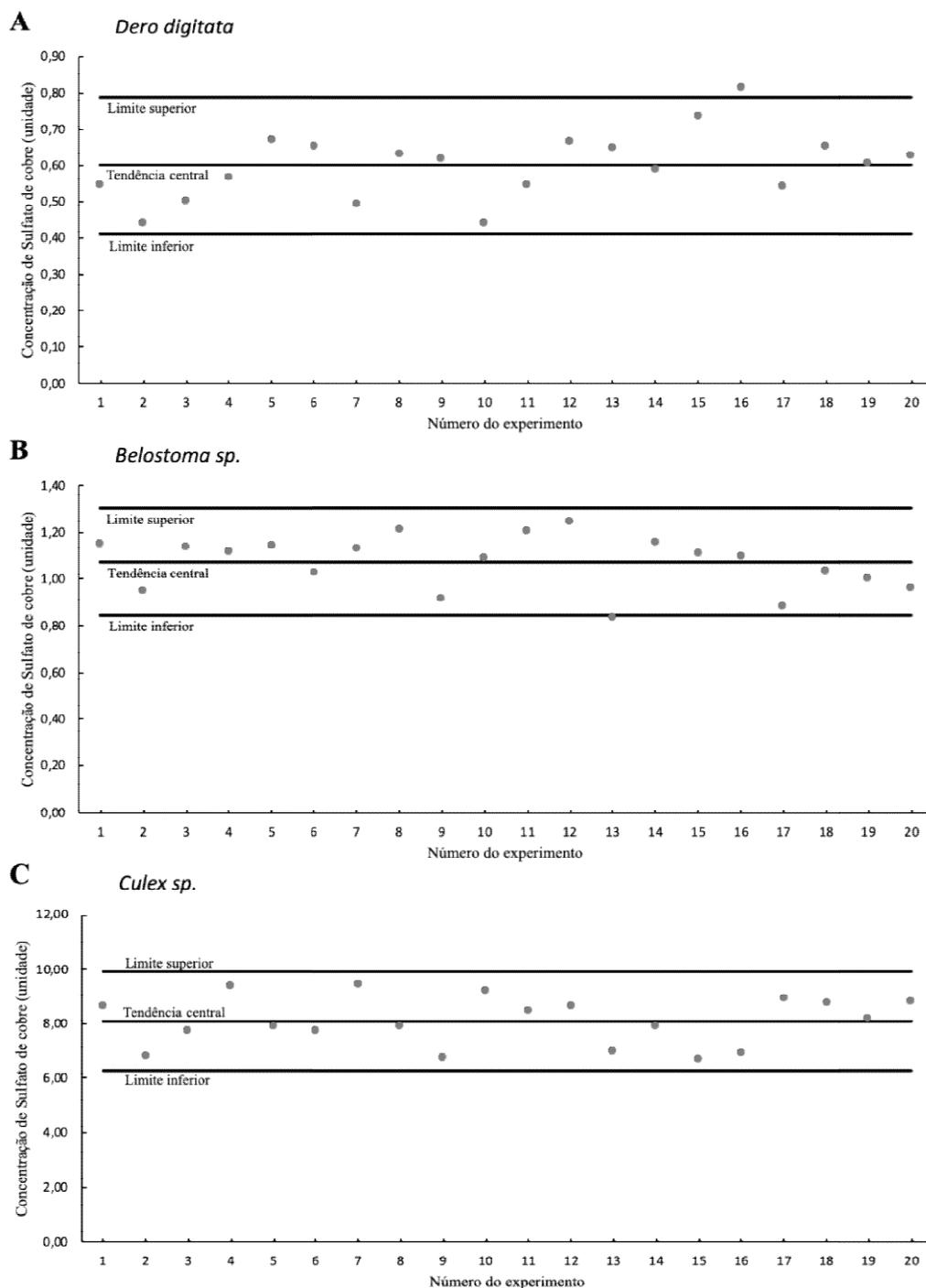
**Tabela 2:** Valores médios e respectivos desvios-padrão para variáveis físicas e químicas medidas no início e no final dos experimentos com as nove espécies da biota aquática tropical (*B. faber* = *Boana faber*; *S. fuscovarius* = *Scinax fuscovarius*; *D. digitata* = *Dero digitata*; *M. spinosa* = *Macrothrix spinosa*; *A. paranae* = *Astyanax paranae*)

Parâmetro/Espécie	<i>B. faber</i>	<i>S. fuscovarius</i>	<i>D. digitata</i>	<i>Belostoma sp.</i>	<i>Culex sp</i>	<i>M. spinosa</i>	<i>Berosini sp.</i>	<i>Anax sp.</i>	<i>A. paranae</i>
pH - inicial	7,6 ± 0,21	7,7 ± 0,20	7,4 ± 0,14	7,2 ± 0,85	7,5 ± 0,29	7,2 ± 0,36	7,7 ± 0,23	7,9 ± 0,74	7,6 ± 0,28
pH - final	7,4 ± 0,19	7,4 ± 0,24	7,1 ± 0,26	7,3 ± 0,11	7,4 ± 0,22	7,3 ± 0,21	7,5 ± 0,37	7,4 ± 0,08	7,4 ± 0,74
Condutividade elétrica – inicial ( $\mu\text{S cm}^{-1}$ )	629 ± 52	622 ± 91	652 ± 74	631 ± 52	601 ± 75	620 ± 41	619 ± 91	623 ± 88	666 ± 41
Condutividade elétrica – final ( $\mu\text{S cm}^{-1}$ )	627 ± 66	606 ± 101	609 ± 93	619 ± 31	612 ± 93	618 ± 33	606 ± 101	601 ± 93	612 ± 52
Temperatura – inicial (°C)	23 ± 0,30	23 ± 0,15	23 ± 0,19	23 ± 0,10	23 ± 0,07	23 ± 0,15	23 ± 0,15	23 ± 0,07	23 ± 0,11
Temperatura – final (°C)	23 ± 0,62	23 ± 0,22	23 ± 0,54	22 ± 0,97	23 ± 0,19	23 ± 0,09	23 ± 0,22	23 ± 0,27	23 ± 0,17
Dureza – inicial ( $\text{mg CaCO}_3 \text{L}^{-1}$ )	182 ± 7,2	186 ± 9,1	191 ± 8,6	176 ± 5,6	201 ± 8,7	180 ± 5,9	186 ± 9,1	192 ± 11,9	195 ± 7,6
Dureza – final ( $\text{mg CaCO}_3 \text{L}^{-1}$ )	198 ± 9,3	201 ± 8,9	207 ± 7,7	202 ± 10,0	206 ± 11,6	191 ± 4,6	201 ± 8,9	210 ± 12,9	209 ± 9,33

### **Faixa de sensibilidade das espécies e resultados dos testes de toxicidade aguda**

As variações nos valores de  $CL_{50-96}$  h gerados nos vinte testes com sulfato de cobre são apresentadas na Figura 2, enquanto o valor médio e desvio padrão dos testes de toxicidade são apresentados na Tabela 3. De acordo com os nossos conhecimentos, a toxicidade do sulfato de cobre para o oligoqueta *Dero digitata*, o hemíptera (*Belostoma* sp.) e o díptera *Culex* sp. nunca foram avaliadas antes. Para se obter uma melhor indicação da variação nos vinte valores de  $CL_{50-96}$  h, a distribuição destes valores de toxicidade foi calculada para cada um dos três organismos-teste tomando-se a razão dos limites superior e inferior do IC 95% (cf. Brock et. al., 2008). A faixa de sensibilidade ao sulfato de cobre das espécies foi estabelecida por meio de um modelo desenvolvido pelo USEPA (1985). O gráfico consiste na representação dos valores de  $CL_{50-96}$  h calculado para cada um dos 20 ensaios. Os limites superiores e inferiores do intervalo são mostrados como duas linhas, que correspondem aproximadamente a duas variações padrão acima e abaixo da média dos 20 valores para o  $CL_{50}$  de 96 horas. Embora se reconheça que o intervalo obtido no presente estudo ainda não abranja a variação interlaboratorial, os intervalos de toxicidade do sulfato de cobre apresentados podem servir como valores de referência iniciais para as três espécies selecionadas.

Em relação à toxicidade aguda, verificou-se que para o peixe *Astyanax paranae* o cloreto de mercúrio foi o composto mais tóxico comparado aos outros compostos metálicos testados, seguido do sulfato de cobre e do cloreto de cádmio (Tabela 3).



**Figura 2:** Faixas de sensibilidade das espécies nativas tropicais de oligoqueta (A) *Dero digitata*, do hemíptero (*Belostoma sp.*) (B) e do díptero (C) *Culex sp.* ao composto de referência sulfato de cobre ( $\text{CuSO}_4$ ) como indicado nos 20 testes de toxicidade aguda realizados com cada espécie. Os limites superior e inferior dos intervalos de confiança de 95% também são indicados nas figuras.

**Tabela 3:** Valores médios ( $\pm$  desvio-padrão) da  $CL_{50}$ -96 h (todas as espécies) e  $CE_{50}$ -48h (para o cladóceros *Macrothrix spinosa* e o díptero *Culex* sp.) dos metais sulfato de cobre ( $CuSO_4$ ), cloreto de cádmio ( $CdCl_2$ ) e cloreto de mercúrio ( $HgCl_2$ ) obtido em testes de toxicidade aguda para as nove espécies da biota aquática tropical.

Organismo teste	$CuSO_4$ (mg/L)	$CdCl_2$ (mg/L)	$HgCl_2$ (mg/L)
<i>Boana faber</i>	0,08 $\pm$ 0,01	2,46 $\pm$ 0,02	0,11 $\pm$ 0,01
<i>Scinax fuscovarius</i>	0,27 $\pm$ 0,05	2,79 $\pm$ 0,05	0,31 $\pm$ 0,02
<i>Dero digitata</i>	0,60 $\pm$ 0,09	0,08 $\pm$ 0,01	0,07 $\pm$ 0,02
<i>Belostoma</i> sp.	1,07 $\pm$ 0,11	2,64 $\pm$ 0,18	0,31 $\pm$ 0,02
<i>Culex</i> sp.	8,09 $\pm$ 0,91	0,31 $\pm$ 0,08	0,03 $\pm$ 0,00
<i>Macrothrix spinosa</i>	0,23 $\pm$ 0,02	0,02 $\pm$ 0,00	0,02 $\pm$ 0,01
<i>Berosini</i> sp.	0,45 $\pm$ 0,05	0,23 $\pm$ 0,06	0,06 $\pm$ 0,01
<i>Anax</i> sp.	0,94 $\pm$ 0,07	0,88 $\pm$ 0,28	0,22 $\pm$ 0,03
<i>Astyanax paranae</i>	0,39 $\pm$ 0,12	5,86 $\pm$ 1,31	0,07 $\pm$ 0,00

Voccia et al. (1994) observaram que tanto a capacidade fagocítica de leucócitos, como a de macrófagos e de granulócitos dos peixes *Oncorhynchus mykiss* foram inibidas após exposição a concentrações subletais de Hg (0,5 ppb), provavelmente devido à citotoxicidade do mercúrio. O modo de ação deste metal parece estar relacionado à interrupção do processo fagocitário em etapas como a sinalização química, ligação com o alvo, ingestão celular e digestão intracelular (FERREIRA, 2004). Ainda, em uma recente revisão, foi indicado que o mercúrio reage com nucleófilos de biomoléculas, podendo causar estresse oxidativo e resultar assim, na depleção de antioxidantes das biomoléculas, o que gera um aumento da formação de espécies reativas de oxigênio (WU et al., 2016).

Para o anfíbio *Boana faber* e para a outra espécie de anura, *S. fuscovarius*, o sulfato de cobre foi o metal mais tóxico, seguido do cloreto de mercúrio e por último o cloreto de cádmio. Oliveira et al. (2018) observaram alterações no comportamento e perdas de peso em peixes da espécie *Carassius auratus* expostos ao cobre por curto período de tempo (durante 24 horas). A alta toxicidade do cobre também foi verificada para a anêmona *Aiptasia pulchella* (HOWEET al., 2014), nas quais as concentrações desse metal inibiram o crescimento dos organismos por interromperem a fotossíntese realizada pelas algas simbióticas, a produção de adenosina trifosfato (ATP) e a síntese de pigmentos.

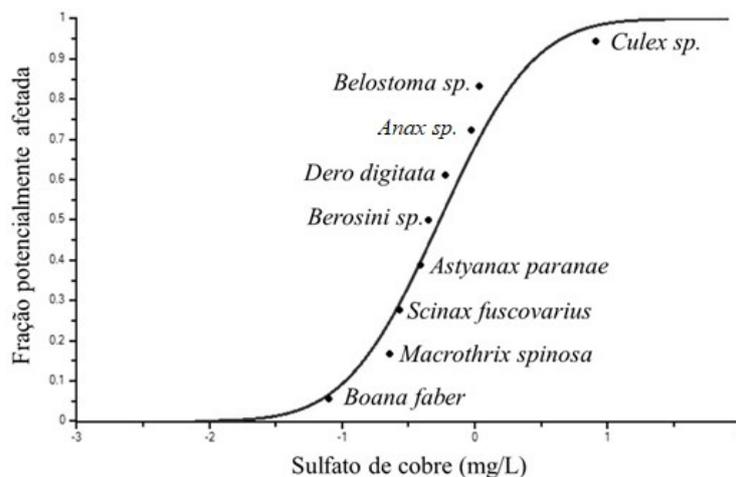
O cladóceros *Macrothrix spinosa* foi o mais sensível quando exposto ao cloreto de cádmio, cloreto de mercúrio e sulfato de cobre, respectivamente. Carvalho et al.

(2018) avaliaram a toxicidade crônica de baixas concentrações de cádmio para o cladócero exótico *Ceriodaphnia dubia* e demonstraram que o cádmio causou redução na reprodução da espécie, por duas gerações. Efeitos negativos do cádmio também foram descritos para características do ciclo de vida das larvas de *Chironomus riparius* por Postma et al. (1995) os quais relatam que o cádmio, em altas concentrações no ambiente aquático, pode causar alterações no crescimento dessa espécie de díptero.

Para o oligoqueto *Dero digitata*, o coleóptero *Berosini* sp., o hemíptero *Belostoma* sp., o díptero *Culex* sp. e o Odonata *Anax* sp. a toxicidade do cloreto de mercúrio foi maior, seguida pelo cloreto de cádmio e por último a pelo sulfato de cobre, quando essas espécies foram expostas aos respectivos metais. O mercúrio tem potencial para causar efeitos graves em diferentes traços da história de vida (crescimento, reprodução e sobrevivência) de invertebrados, como indicado por seu alto fator de bioacumulação (BAF) em oligoquetos (Buchet al. 2017).

### **Comparação da sensibilidade entre os organismos-teste**

A curva SSD construída para o sulfato de cobre (Figura 3) mostrou que, em relação aos nove organismos-teste utilizados neste estudo, o anfíbio *B. Faber* foi a espécie mais sensível ( $CL_{50-96h} = 0,079 \mu\text{g/L}$ ), seguida do cladócero *M. spinosa* ( $CE_{50-48h} = 0,229\text{mg/L}$ ) e de uma outra espécie de anfíbio anuro *S. fuscovarius* ( $CL_{50-96h} = 0,273\text{mg/L}$ ). A espécie menos sensível foi o inseto da ordem díptera *Culex* sp. ( $CE_{50-96h} = 8,090 \text{mg/L}$ ). Em relação aos grupos, a ordem decrescente de sensibilidade das espécies ao sulfato de cobre foi: anfíbio>cladócero>anfíbio>peixe>coleóptero>oligoqueto>odonato>hemíptero>díptero (Tabela 3). Os valores das concentrações de perigo para 5% ( $HC_5$ ) e 50% ( $HC_{50}$ ) das espécies são apresentados na Tabela 4.



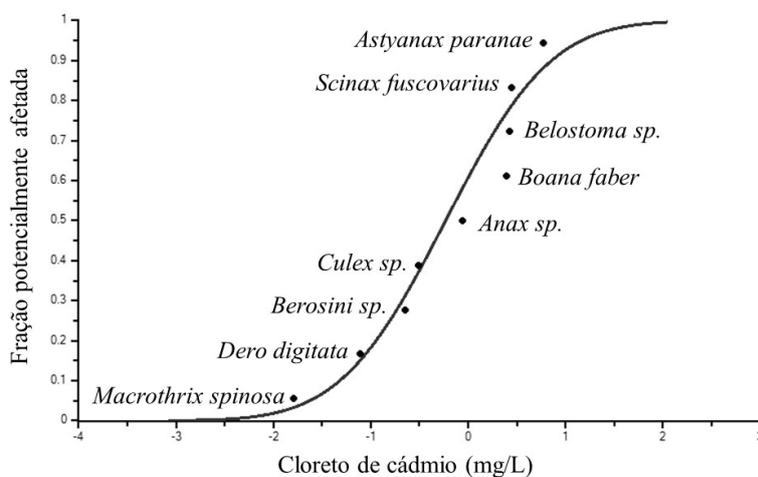
**Figura 3:** Distribuições de sensibilidade de espécies (SSD) construídas com valores médios de  $CL_{50-96}$  h (todas as espécies) e  $CE_{50-48h}$  (para o cladóceros *Macrothrix spinosa*) para espécies testadas com o metal sulfato de cobre no presente estudo.

Ossana et al. (2010) ao avaliarem girinos expostos ao cobre observaram diminuição da sobrevivência dos indivíduos. Os autores relacionaram a exposição aguda ao metal aos impactos genotóxicos observados nas células sanguíneas (eritrócitos). Assim como para o anfíbio, a elevada sensibilidade ao sulfato de cobre foi observada para a espécie de cladóceros *M. spinosa*. Lima et al. (2019) construíram SSDs utilizando médias geométricas de valores de toxicidade aguda para invertebrados aquáticos expostos ao cobre e as espécies de cladóceros *Daphnia magna* e *Ceriodaphnia dubia* apresentaram as maiores sensibilidades, com valores de  $CE_{50}$  de 0,016 mg/L e 0,029 mg/L, respectivamente. É amplamente conhecido que espécies de cladóceros são sensíveis a muitos poluentes e podem ser facilmente cultivados em condições de laboratório, sendo, portanto, muito úteis em Ecotoxicologia como organismo-teste (BOWNIK, 2017). Os cladóceros são ecologicamente importantes devido ao seu papel em muitas redes alimentares aquáticas. Atuam como consumidores primários e, assim, controlam populações de produtores primários. Além disso, também fornecem uma fonte de alimento para muitos consumidores secundários. Conseqüentemente, a resposta dos cladóceros à contaminação aquática pode afetar todo o ecossistema (DEMILLE et al., 2016).

Nos ecossistemas aquáticos naturais, o cobre pode ocorrer em concentrações em torno de 20  $\mu\text{g/L}$ , e o aporte desse composto para os corpos d'água ocorre por intemperismo do solo, pelo despejo de efluentes industriais e domésticos não tratados nos ambientes aquáticos e também por aplicações intencionais, como as realizadas para o controle do crescimento de algas em sistemas eutrofizados (CETESB, 2005). Sua

toxicidade pode variar em função de alterações nas características físicas e químicas da água, tais como temperatura, compostos orgânicos dissolvidos, partículas suspensas, pH e diversos cátions e ânions inorgânicos (GROSELL ET al., 2002).

Para o cloreto de cádmio, a curva SSD (Figura 4) mostrou que o cladóceros *M. spinosa* foi a espécie mais sensível entre os nove organismos-teste estudados ( $CE_{50-48h} = 0,016 \text{ mg/L}$ ), seguida do oligoqueto *D. digitata* ( $CL_{50-96h} = 0,078 \text{ mg/L}$ ) e do coleóptero *Berosini sp.* ( $CL_{50-96h} = 0,228 \text{ mg/L}$ ). O peixe *A. paranae* apresentou baixa sensibilidade a este composto ( $CL_{50-96h} = 5,863 \text{ mg/L}$ ), sendo a espécie menos sensível dentre as avaliadas. Em relação aos grupos, a ordem decrescente de sensibilidade das espécies ao cloreto de cádmio foi: cladóceros > dípteros > coleópteros > oligoqueto > peixe > anfíbio > hemíptero > anfíbio > peixe (Tabela 3). Os valores das concentrações de perigo para 5% ( $HC_5$ ) e 50% ( $HC_{50}$ ) das espécies são apresentados na Tabela 4.



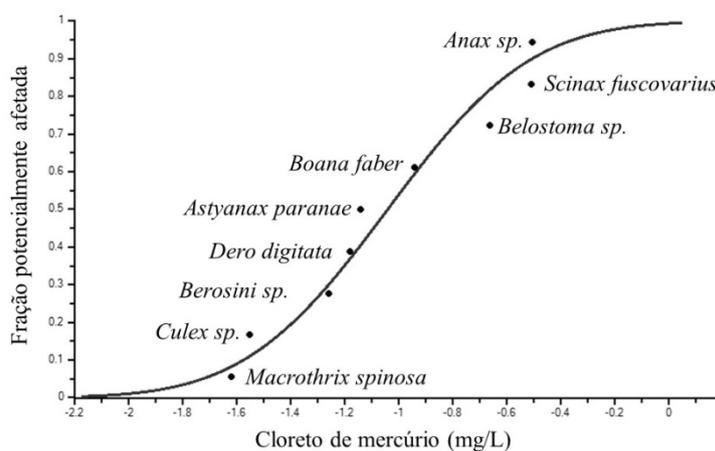
**Figura 4:** Distribuição da sensibilidade de espécies (SSD) construída com valores médios de  $CL_{50-96 h}$  (todas as espécies) e  $CE_{50-48h}$  (para o cladóceros *Macrothrix spinosa*) para espécies testadas com o metal cloreto de cádmio no presente estudo.

A toxicidade do cádmio sobre o zooplâncton pode ser detectado em vários níveis de organização biológica. Assim, o cádmio pode interferir na atividade das enzimas acetilcolinesterase e glutatona S-transferase (GUILHERMINO ET al., 1996), pode diminuir a reprodução e sobrevivência de indivíduos (RODGHER; ESPÍNDOLA, 2008), afetar negativamente as taxas de crescimento populacionais (HEUGENSET al.,

2006) e, pode ser biomagnificada na cadeia trófica (RUANGSOMBOON; WONGRAT, 2006).

Normalmente o cádmio ocorre em baixas concentrações em ecossistemas de água doce, sendo geralmente encontrado em valores menores que 0,5 µg/L (PAN et al., 2010). No entanto, estudos recentes relataram elevados valores de cádmio, como por exemplo, em Bangladesh, em que já foram registradas concentrações variando de 5,29 a 27,45 µg/L (ALI et al., 2016), na Polônia valores entre 8,0 a 14,5 µg/L (WOJTKOWSKA et al., 2016) e na China com variações entre 0,2 a 5,89 µg/L (LI; ZHANG, 2010) e níveis muito altos em áreas de muita poluição no norte da China (4.500 µg/L) no rio Guangdong (1.120 a 4.474 µg/L) e no rio Luan (LI; LIU, 2009).

A análise da curva SSD nos permite observar que, para o cloreto de mercúrio (Figura 5), as três espécies testadas (*M. spinosa*, *Culex* sp. e *Berosini* sp.) apresentaram maior sensibilidade quando comparadas com os outros organismos-teste, sendo os valores de toxicidade de  $CE_{50-48h} = 0,024$  mg/L,  $CL_{50-96h} = 0,028$  mg/L e  $CL_{50-96h} = 0,055$  mg/L, respectivamente. O anfíbio *S. fuscovarius* foi a espécie testada mais resistente ( $CL_{50-96h} = 0,310$  mg/L). Em relação aos grupos, a ordem decrescente de sensibilidade das espécies ao cloreto de cádmio foi: cladócero > díptero > coleóptero > oligoqueto > peixe > anfíbio > odonata > hemíptero > anfíbio (Tabela 3). Os valores das concentrações de perigo para 5% ( $HC_5$ ) e 50% ( $HC_{50}$ ) das espécies são apresentados na Tabela 4.



**Figura 5:** Distribuição de sensibilidade de espécies (SSD) construída com valores médios de  $CL_{50-96}$  h (todas as espécies) e  $CE_{50-48h}$  (para o cladóceros *Macrothrix spinosa*) para espécies testadas com o metal cloreto de mercúrio no presente estudo.

O mercúrio é um metal altamente tóxico para o zooplâncton. Em concentrações em nível de  $\mu\text{g}$ , esse metal causa redução significativa na sobrevivência e reprodução do zooplâncton (Ramírez-Pérez et al., 2004). A toxicidade aguda e crônica do Hg para cladóceros, particularmente para *Daphnia magna*, está bem documentada na literatura já há alguns anos (BIESINGER; CHRISTENSEN, 1972; KHANGAROT; RAY, 1989). No entanto, para cladóceros nativos da região tropical essa informação é escassa.

Gazonato-Neto et al. (2018) ao comparar a sensibilidade de duas espécies de oligoquetos tropicais (*Allonais inaequalis* e *Dero furcatus*) às de espécies de regiões temperadas (*Tubifex tubifex* e *Lumbriculus variegatus*) observaram que as sensibilidades das espécies nativas foram superiores ou semelhantes às de outras espécies -teste frequentemente utilizadas. Para o cloreto de mercúrio, foi encontrado o valor de  $CL_{50-96h}$  de 129  $\mu\text{g/L}$  para *A. inaequalis* e de 92  $\mu\text{g/L}$  para *D. furcatus*.

Em um recente estudo, no qual foi avaliada a toxicidade aguda dos metais cobre, cádmio, mercúrio e manganês para três invertebrados bentônicos da biota aquática Neotropical, *Tramea cophysa* (Insecta, Odonata), *Chlamydotheca* sp. e *Strandesia trispinosa* (Crustacea, Ostracoda) (LIMA et al., 2019). Os organismos apresentaram valores médios de  $CL_{50}$  de 0,611, 0,844, 0,845 mg/L (*T. cophysa*); 0,378, 0,072 e 0,748 mg/L (*Chlamydotheca* sp.) e 0,749, 0,012 e 0,027 mg/L (*S. trispinosa*) para sulfato de cobre, cloreto de cádmio e cloreto de mercúrio, respectivamente (Lima et al., 2019). As espécies que apresentaram maior sensibilidade em nosso estudo foram altamente sensíveis quando comparadas aos achados por Lima et al. (2019).

**Tabela 4:**  $HC_5$  e  $HC_{50}$  (concentração de perigo para 5% e 50% das espécies, respectivamente; em mg/L) e intervalos de 95% de confiança para sulfato de cobre ( $\text{CuSO}_4$ ), cloreto de cádmio ( $\text{CdCl}_2$ ) e cloreto de mercúrio ( $\text{HgCl}_2$ ), a partir das curvas de SSD construídas com base nos valores de  $CL_{50-96}$  h (todas as espécies) e  $CE_{50-48h}$  deste composto para o cladóceros *Macrothrix spinosa*. (cf. Figuras 3,4 e 5).

Composto	$HC_5$	$HC_{50}$
$\text{CuSO}_4$	0,0609 (0,0112 - 0,1532)	0,5452 (0,2463 - 1,2068)
$\text{CdCl}_2$	0,0207 (0,0015 - 0,0845)	0,5856 (0,1743 - 1,9669)

HgCl <sub>2</sub>	0,0176 (0,0049 - 0,0351)	0,0907 (0,0500 - 0,1644)
-------------------	--------------------------	--------------------------

## Conclusões

- A avaliação da toxicidade dos metais cobre, cádmio e mercúrio, demonstram ser ambientalmente relevantes. O cobre foi potencialmente mais tóxico para as espécies de anfíbios, peixe e cládocero do que para os macroinvertebrados bentônicos. O cádmio demonstrou ser mais tóxico para espécies de invertebrados do que para vertebrados (*M. spinosa*, *D. digitata*, *Berosini* sp. e *Culex* sp.), exceto o hemíptero *Belostoma* sp. Já o mercúrio foi mais tóxico para *M. spinosa*, *Culex* sp., *Berosini* sp. e *D. digitata*. O odonato *Anax* sp., foi o organismo mais tolerante ao mercúrio.
- As espécies nativas de vertebrados e invertebrados estudadas demonstraram ser bastante sensíveis à contaminação por cobre. Se a faixa de sensibilidade registrada para o díptero *Culex* sp. fosse estabelecida para determinar limites permissíveis à contaminação de corpos d'água, teria efeito protetor a todas as espécies testadas neste estudo.
- Os resultados mostram que diferentes grupos taxonômicos que interagem e co-existem em lagos temporários apresentam sensibilidades distintas, variando de acordo com o tipo de contaminante. Portanto, vê-se a necessidade de estudos sobre os efeitos de potenciais contaminantes nestes ecossistemas, uma vez que a contaminação pode causar efeitos negativos às populações individuais e em nível de cadeia trófica.

## Referências bibliográficas

- ABNT - Associação Brasileira de Normas Técnicas. 2016. **Aquatic Ecotoxicology Acute Toxicity - Test with Daphnia Spp (Cladocera, Crustacea)**. NBR 12713. ABNT, Rio de Janeiro,
- ALDENBERG, T.; JAWORSKA, J. S. 2000. Uncertainty of the hazardous concentration and fraction affected for normal species sensitivity distributions. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 46, n. 1, p. 1-18.
- ALI, M. M.; ALI, M. L.; ISLAM, M. S.; RAHMAN, M. Z. 2016. Preliminary assessment of heavy metals in water and sediment of Karnaphuli River, Bangladesh. **Environmental Nanotechnology, Monitoring & Management**, v. 5, n. p. 27-35.

ANDRADE, M. T. de, VEADOR, M. A. R. V., MENEZES, M. Â. de B. C., ALÍPIO, V. de C. 2010. **Análise da Concentração de Metais Pesados no Rio Piracicaba , Minas Gerais**. Encontro Nacional de Engenharia de Produção,

ARANTES, F. P.; SAVASSI, L. A.; SANTOS, H. B.; GOMES, M. V. T.; BAZZOLI, N. 2016. Bioaccumulation of mercury, cadmium, zinc, chromium, and lead in muscle, liver, and spleen tissues of a large commercially valuable catfish species from Brazil. **Anais da Academia Brasileira de Ciências**, v. 88, n. 1, p. 137-147.

ARMITAGE, P. D.; BOWES, M. J.; VINCENT, H. M. 2007. Long-term changes in macroinvertebrate communities of a heavy metal polluted stream: the River Nent (Cumbria, UK) after 28 years. **River Research and Applications**, v. 23, p. 997–1015.

BIESINGER, K. E.; CHRISTENSEN, G. M. 1972. Effects of various metals on survival, growth, reproduction and metabolism of *Daphnia magna*, **Journal of the Fisheries Research Board of Canada**, v. 29, p. 1691–1700..

BOWNIK, A. 2017. *Daphnia* swimming behavior as a biomarker in toxicity assessment: A review. **Science of The Total Environment**, p. 601-602.

BROCK, T. C. M.; MALTBY, L.; HICKEY, C. H.; CHAPMAN, J.; SOLOMON, K. R. Spatial extrapolation in ecological effect management of chemicals. 2008. in: SOLOMON, K. R.; BROCK, T. C. M.; DE ZWART, D.; DYER, S. D.; POSTHUMA, L.; RICHARDS, S. M.; SANDERSON, H.; SIBLEY, P. K.; VAN DEN BRINK, P. J. (Eds.). **Extrapolation practice for ecotoxicological effect characterization of chemicals**. SETAC Europe Press, Brussels, p. 223-256.

BUCH, A. C. B.; BROWN, G. G.; CORREIA, M. E. F.; LOURENÇATO, L. F.; SILVA-FILHO, E. V. 2017. Ecotoxicology of mercury in tropical forest soils: Impact on earthworms. **Science of the Total Environment**, v. 589, p. 222-231.

CARVALHO, M. M.; LIRA, V. S.; WATANABE, C. H.; FRACÁCIO, R. 2018. Estudo da toxicidade de metais (zinco e cádmio) sobre *Ceriodaphnia dubia*, por multi vias de exposição e recuperação biológica de descendentes. **Engenharia Sanitária e Ambiental**, v. 22, n. 5, p. 961-968.

CENSI, P.; SPOTO, S.E.; SAIANO, F.; SPROVIERI, M.; MAZZOLA, S.; NARDONE, G.; DI GERONIMO, S.I.; PUNTURO, R.; OTTONELLO, D. 2006. Heavy metals in coastal water system. A case study from the north western Gulf of Thailand. **Chemosphere**, v. 64, p. 1167–1176.

CETESB – Companhia Ambiental do Estado de São Paulo. 2005. **Relatório de qualidade das águas interiores do estado de São Paulo 2004**. São Paulo, p. 297.

COSTA, C. R.; OLIVI, P.; BOTTA, C. M. R.; ESPINDOLA, E. L. G. 2008. A toxicidade em ambientes aquáticos: discussão e métodos de avaliação. **Química Nova**, v. 31, n. 7, p. 1820-1830.

DAMM, M. A.; RICO, A. 2016. Freshwater shrimps as sensitive test species for the risk assessment of pesticides in the tropics. **Environmental Science and Pollution Research**, v. 25, p. 13235-13243.

DEMILLE, C. M., ARNOTT, S. E., PYLE, G. G. 2016. Variation in copper effects on kairomone-mediated responses in *Daphnia pulex*. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 126, p. 264–272.

DURUIBE, J. O.; OGWUEGBU, M. O. C.; EGWURUGWU, J. N. 2007. Heavy metal pollution and human biotoxic effects. **International Journal of Physical Sciences**, v. 2 n. 5, p. 112-118.

FARLEX. Incorporated Definition: Environment. 2005. **The Free Dictionary**, Farlex Inc. Publishing, U.S.A.

FERREIRA, A. G. 2004. **Efeitos ecotoxicológicos da contaminação ambiental por mercúrio em Hopiasmalabaricus (Traíra – BLOCH, 1794 – Pisces – Erythridae) de quatro lagoas do Norte do Estado do Rio de Janeiro**. Centro de Biociências e Biotecnologia, Campos dos Goytacazes, RJ, p. 165.

FREITAS, E. C.; ROCHA, O. 2014. Acute and chronic toxicity of chromium and cadmium to the tropical cladoceran *Pseudosidaramosa* and the implications for ecotoxicological studies. **Environmental Toxicology**, v. 29, n. 2, p. 176-186.

GAZONATO, N. A. J.; MOREIRA, R. A.; LIMA, J. C. S.; DAAM, M. A.; ROCHA, O. 2018. Freshwater neotropical oligochaetes as native test species for the toxicity evaluation of cadmium, mercury and their mixtures. **Ecotoxicology**, v. 28, p.133-142.

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

GROSELL, M.; NIELSEN, C.; BIANCHINI, A. 2002. Taxa de rotatividade de sódio determina a sensibilidade ao cobre aguda e exposição de prata em animais de água doce. *Comparative Biochemistry and Physiology Parte C. Toxicologia e Farmacologia*, v. 133, n. 1, p. 287-303.

GUILHERMINO, L.; LOPEZ, M. C.; CARVALHO, A. P.; SOARES, A. M. V. M. 1996. Inhibition of acetylcholinesterase activity as effect criterion in acute tests with juvenile *Daphnia magna*. **Chemosphere**, v. 32, n. 727, p. 738.

HAWKES, J. S. 1997. Heavy Metals. **Journal Chemical Education**, v. 74, n.11, p. 1374.

HEUGENS, E. H. W.; TOKKIE, L. T. B.; KRAAK, M. H. S.; HENDRIKS, A. J.; VAN STRAALLEN, N. M.; ADMIRAAL, W. 2006. Population growth of *Daphnia magna* under multiple stress conditions: Joint effects of temperature, food, and cadmium. **Environmental Toxicology and Chemistry**, v. 25, p. 1399-1407.

HOWE, P. D.; MALCOLM, H.; DOBSON, S. 2005. **Manganese and its compounds: environmental aspects**. World Health Organization, Geneva, p. 70.

ISLAM, M. S.; HAN, S.; MASUNAGA, S. 2014. Assessment of trace metal contamination in water and sediment of some rivers in Bangladesh. **Journal of Water and Environment Technology**, v. 12, p. 109–121.

KHANGAROT, B. S.; RAY, P. K. 1989. Investigation of correlation between physicochemical properties of metals and their toxicity to the water flea *Daphnia magna* Straus. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 18, p. 109–120.

KWOK, K. W. H.; LEUNG, K. M. Y.; LUI, G. S. G.; CHU, S. V. K. H.; LAM, P. K. S.; MORRITT, D.; MALTBY, L.; BROCK, T. C. M.; VAN DEN BRINK, P. J.; WARNE, M. S. J.; CRANE, M. 2007. Comparison of tropical and temperate freshwater animal species acute sensitivities to chemicals: Implications for deriving safe extrapolation factors. **Integrated Environmental Assessment and Management**, v. 3, p. 49-67.

- LI, S.; ZHANG, Q. 2010. Risk assessment and seasonal variations of dissolved trace elements and heavy metals in the Upper Han River, China. **Journal of Hazardous Materials**, v. 181, p. 1051–1058.
- LI, Y. L.; LIU, J. L. 2009. Health risk assessment on heavy metal pollution in the water environment of Luan River. **Journal of Agro-Environment Science**, v. 28, p. 1177– 1184.
- LIMA, J. C. S.; NETO, A. J. G.; ANDRADE, D. P.; FREITAS, E. C.; MOREIRA, R. A.; MIGUEL, M.; DAAM, M. A.; ROCHA, O. 2019. Acute toxicity of four metals to three tropical aquatic invertebrates: The dragonfly *Tamea cophysa* and the ostracods *Chlamydotheca* sp. and *Strandesia trispinosa*. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 180, p. 535–541.
- MANI, D.; KUMAR, C. 2014. Biotechnological advances in bioremediation of heavy metals contaminated ecosystems: An overview with special reference to phytoremediation. **International Journal of Environmental Science and Technology**, v. 11, p. 843–872.
- MANSANO, A. S.; MOREIRA, R. A.; DORNFELD, H. C.; DINIZ, L. G.; VIEIRA, E. M.; DAAM, M. A.; SELEGHIM, M. H. 2016. Acute and chronic toxicity of diuron and carbofuran to the neotropical cladoceran *Ceriodaphnia silvestrii*. **Environmental Science and Pollution Research**, p. 1-12.
- MACFARLANE, G. B.; BURCHETT, M. D. 2000. Cellular distribution of Cu, Pb and Zn in the Grey Mangrove *Avicennia marina* (Forsk). **Vierh Aquatic Botanic**, v. 68, p. 45-49.
- MOHIUDDIN, K. M.; ZAKIR, H. M.; OTOMO, K.; SHARMIN, S.; SHIKAZONO, N. 2010. Geochemical distribution of trace metal pollutants in water and sediments of downstream of an urban river. **International Journal of Environmental Science and Technology**, v. 7, n. 1, p. 17-28.
- MOREIRA, R. A.; DAAM, M. A.; VIEIRA, B. H.; SANCHES, A. L. M.; REGHINI, M. V. 2017. Toxicity of abamectin and difenoconazole mixtures to a Neotropical cladoceran after simulated run-off and spray drift exposure. **Aquatic Toxicology**, v. 185, p. 58-66.
- NORDBERG, G. F.; FOWLER, B. A.; NORDBERG, M.; FRIBERG, L. T. 2007. **Handbook on the Toxicology of Metals** (Ed.) 3. ed. Amsterdam: Elsevier, p. 995.
- OCHIENG, H.; STEVENINCK, E. S.; WANDA, F. M. 2008. Mouthparts deformities in chironomides (dipteral) as indicators of heavy metal pollution in northern Lake Victoria, Uganda. **African Journal of Aquatic Science**, v. 33, n. 2, p. 135-142.
- OLIVEIRA, M, R. Eficiência de extração de cobre e níquel utilizando sistemas de microemulsionados bifásicos e trifásicos. 2014. Tese (Doutorado), **Universidade Federal do Rio Grande do Norte**, 128f. Centro de Ciências Exatas e da Terra – Programa de Pós-graduação em Química.
- OSSANA, N. A.; CASTANE, P. M.; POLETTA, G. L.; MURDRY, M. D.; SALIBIAN, A. 2010. Toxicity of Waterborne (2010) Copper in Premetamorphic Tadpoles of *Lithobates catesbeianus* (Shaw, 1802). **Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology**, v. 84, p. 712–715.
- PAN, J.; PLANT, J. A.; VOULVOULIS, N.; OATES, C. J.; IHLENFELD, C. 2010. Cadmium levels in Europe: implications for human health. **Environmental Geochemistry and Health**, v. 32, n. 1, p. 1-12.

PARELHO, C.; RODRIGUES, A. S.; CRUZ, J. V.; GARCIA, P. 2014. Linking trace metals and agricultural use in volcanic soils -A multivariate approach. **Science of the Total Environment**, v. 496, p. 241–247.

PEPLOW, D. 1999. **Environmental Impacts of Mining in Eastern Washington, Center for Water and Watershed Studies Fact Sheet**, University of Washington, Seattle.

POSTMA, J. F.; KYED, M.; ADMIRAAL, W. 1995. Site specific differentiation in metal tolerance in the midge *Chironomus riparius* (Diptera, Chironomidae). **Hydrobiologia**, v. 315, p. 159-165.

RAMÍREZ-PÉREZ, T.; SARMA, S. S. S.; NANDINI, S. 2004. Effects of mercury on the life table demography of the rotifer *Brachionus calyciflorus* Pallas (Rotifera). **Ecotoxicology**, v. 13, p. 535-544.

RIBEIRO-JÚNIOR, J.W.; BERTOLUCI, J. 2009. Anuran of the cerrado of the Estação Ecológica and the Floresta Estadual de Assis, southeastern Brazil. **Biota Neotropical**, v. 9, n. 1.

RODGHER S.; ESPÍNDOLA, E. L. G. 2008. Effects of interactions between algal densities and cadmium concentrations on *Ceriodaphnia dubia* fecundity and survival. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 71, p. 765-773.

ROSABAL, M.; PIERRON, F.; COUTURE, P.; BAUDRIMONT, M.; HARE, L.; CAMPBELL, P. G. 2015. Subcellular partitioning of non-essential trace metals (Ag, As, Cd, Ni, Pb, and Tl) in livers of American (*Anguilla rostrata*) and European (*Anguilla anguilla*) yellow eels. **Aquatic Toxicology**, v. 160, p. 128-141.

RUANGSOMBOON S, WONGRAT L. 2006. Bioaccumulation of cadmium in an experimental aquatic food chain involving phytoplankton (*Chlorella vulgaris*), zooplankton (*Moina macrocopia*), and the predatory catfish *Clarias macrocephalus* x *C. gariepinus*. **Aquatic Toxicology**, v. 78, p. 15–20.

SALATI, S.; MOORE, F. 2010. Assessment of heavy metal concentration in the Khoshk River water and sediment, Shiraz, Southwest Iran. **Environmental Monitoring and Assessment**, v. 164, p. 677–689.

SEKABIRA, K.; ORIGA, H. O.; BASAMBA, T. A.; MUTUMBA, G.; KAKUDIDI, E. 2010. Assessment of heavy metal pollution in the urban stream sediments and its tributaries. **International Journal of Environmental Science & Technology**, v. 7, n.3, p. 435-446.

SIKDER M. T. Y.; KIHARA, M.; YASUDA, K.; YUASTIAWATI, Y.; MIHARA, S.; TANAKA, D. 2013. River Water Pollution in Developed and Developing Countries: Judge and Assessment of Physicochemical Characteristics and Selected Dissolved Metal Concentration. **Clean Soil Air Water**, v. 41, n. 1, p. 60–68.

SIN, S.N.; CHUA, H.; LO, W.; NIG, L. M. 2001. Assessment of heavy metal cations in sediments of Shing Mun River, Hong Kong. **Environment International**, v. 26, p. 297–301.

SOUZA, VLB.; LIMA, VL.; HAZIN, CA.; FONSECAS, CKL.; SANTOS, S. O. 2015. Biodisponibilidade de Metais-traço em Sedimentos: Uma Revisão. **Brazilian Journal of Radiation Sciences**, p. 01-13.

SPARLING, D. W.; LINDER, G.; BISHOP, C.; KREST, S. 2010. **Ecotoxicology of Amphibians and Reptiles**. SETAC/Taylor & Francis, Boca Raton.

USEPA-US Environmental Protection Agency. 2002. **Short-term methods for estimating the chronic toxicity of effluents and receiving waters to freshwater organisms**. Washington, DC.

VAKHRUSHEV, A. V.; AMETA, S. C.; SUSANTO, H.; HAGHI A. K. 2020. **Advances in nanotechnology and the environmental sciences: applications, innovations, and visions for the future**. Apple Academic Press Inc. Oakville, Canada.

VAN VLAARDINGEN, P.; TRAAS, T.; WINTERSEN, A.; ALDENBERG, T. ETX 2.0. 2004. **A program to calculate hazardous concentrations and fraction affected, based on normally distributed toxicity data**. RIVM Rep 601501028, n. 1, p. 68.

VENUGOPAL, L.; GIRIDHARAN, M.; JAYAPRAKASH, P.M.; VELMURUGAN. 2009. A comprehensive geochemical evaluation of the water quality of River Adyar India. **The Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology**, v.82, p. 211-217.

VOCCIA, I.; KRZYSTYNIAK, K.; DUNIER, M.; FLIPO, D.; FOUNIER, M. 1994. In Vitro Mercury-Related Cytotoxicity and Functional Impairment of the Immune Cells of Rainbow Trout (*Oncorhynchus mykiss*). **Aquatic Toxicology**, v. 29: p. 37-48.

XU, Y.J.; LIU, X.Z.; MA, A. J. 2004. Current research on toxicity effect and molecular mechanism of heavy metals on fish. **Marine Science**, v.28, n. 10, p. 67-70,

YI, Y., YANG, Z.; ZHANG, S. 2011. Ecological risk assessment of heavy metals in sediment and human health risk assessment of heavy metals in fishes in the middle and lower reaches of the Yangtze River basin. **Environmental Pollution**, v. 159, n. 10, p. 2575–2585.

WOJTKOWSKA, M.; BOGACKI, J.; WITESKA, A. 2016. Assessment of the hazard posed by metal forms in water and sediments. **Science of the Total Environment**, v. 551-552, p. 387–392.

WU, X.; COBBINA, S. J.; MAO, G.; XU, H.; ZHANG, Z.; YANG, L. 2016. A review of toxicity and mechanisms of individual and mixtures of heavy metals in the environment. **Environmental Science and Pollution Research**, v. 23, n. 9, p. 8244-8259.

YUAN, G.L.; LIU, C.; CHEN, L.; YANG, Z. 2011. Inputting history of heavy metals into the inland lake recorded in sediment profiles: Poyang Lake in China. **The Journal of Hazardous Materials**, v. 185, p. 336–345.

ZVINOWANDA, C. M.; OKONKWO, J. O.; SHABALALA, P. N.; AGYEI, N. M. 2009. A novel adsorbent for heavy metal remediation in aqueous environments. **International Journal of Environmental Science and Technology**, v. 6n. 3, p. 425-434.

### CAPÍTULO 3

#### TOXICIDADE LETAL DOS METAIS COBRE, CÁDMIO E MERCÚRIO A DUAS ESPÉCIES DE ANFÍBIOS NEOTROPICAIS

##### Resumo

A baixa disponibilidade de informações sobre a toxicidade de contaminantes ambientais para espécies nativas dos trópicos tem sido discutida com frequência. Atualmente pouco se sabe sobre a toxicidade dos metais às espécies nativas de anuros de ecossistemas tropicais. Neste contexto, o objetivo do presente estudo foi avaliar a toxicidade de três metais (cobre, cádmio e mercúrio) a duas espécies de girinos autóctones, *Boana faber* e *Scinax fuscovarius*. Além disso, a sensibilidade das espécies foi comparada à de outros anfíbios, peixes e invertebrados de água doce, com base em dados da literatura por meio de curvas de Distribuição da Sensibilidade das Espécies (SSDs). O metal de cobre foi o mais tóxico para ambas as espécies testadas. Observamos que a espécie *B.faber* foi mais sensível à exposição aos metais do que a espécie *S. fuscovarius*. Os resultados obtidos ainda mostraram que as espécies de anuros utilizados como organismos-teste são mais tolerantes aos metais do que a maioria das espécies de peixes que foram comparadas neste estudo. Por meio desta comparação evidenciou-se também que ambas espécies são suficientemente sensíveis aos metais para serem utilizadas como organismos-teste na realização de estudos ecotoxicológicos em laboratório. É necessário dessa forma, que os estudos sobre os efeitos de diferentes poluentes incluam cada vez mais espécies nativas de regiões neotropicais representativas dos ecossistemas afetados. Além disso, estudos futuros também devem avaliar a toxicidade crônica e incluir outras rotas importantes de exposição a metais, como sedimentos e alimentos.

**Palavras chave:** Toxicidade aguda; Metais; Sobrevivência; Anfíbios; Espécies nativas.

**Abstract**

The low availability of information on the toxicity of environmental contaminants to species native to the tropics has been frequently discussed. Currently, little is known about the toxicity of metals to native anuran species from tropical ecosystems. In this context, the objective of the present study was to evaluate the toxicity of three metals (copper, cadmium and mercury) to two species of native tadpoles, *Boana faber* and *Scinax fuscovarius*. In addition, species sensitivity was compared to that of other amphibians, fish and freshwater invertebrates, based on data from the literature using Species Sensitivity Distribution curves (SSDs). Copper metal was the most toxic for both species tested. We observed that the species *B.faber* was more sensitive to exposure to metals than the species *S. fuscovarius*. The results obtained also showed that the frog species used as test organisms are more tolerant to metals than most fish species that were compared in this study. Through this comparison, it was also shown that both species are sufficiently sensitive to metals to be used as test organisms in conducting ecotoxicological studies in the laboratory. It is therefore necessary that studies on the effects of different pollutants increasingly include native species from Neotropical regions representative of the affected ecosystems. In addition, future studies should also assess chronic toxicity and include other important routes of exposure to metals, such as sediment and food.

**Keywords:** Acute toxicity; Metals; Survival; Amphibians; Native species.

## Introdução

Naturalmente encontrados nos ecossistemas aquáticos e resultantes da atividade vulcânica ou da erosão das rochas (PARELHO et al. 2014), diversos metais são elementos essenciais ao metabolismo exercendo função fundamental para a manutenção e atividade dos organismos vivos (NORDBERG et al. 2007), uma vez que estes necessitam de diversos metais essenciais, embora em baixas concentrações, para atuarem como elementos estruturais, estabilizadores de estruturas biológicas, e, em particular, como ativadores de sistemas redox (ROSABAL et al. 2015). Entretanto, mesmo em concentrações muito baixas, da ordem de nanograma ou micrograma (concentrações-traço) alguns metais, essenciais ou não, danificam severamente diversos processos fisiológicos podendo comprometer o desenvolvimento de invertebrados (GERHARDT 1993; DICKMAN e RYGIEL, 1996; WU et al. 2016) e de vertebrados (CAREY e BRYANT 1995; SOBHA et al. 2007) afetando diretamente sua sobrevivência.

Desde o século passado, após a revolução industrial, a contaminação de recursos hídricos por metais é considerada um grave problema no mundo todo (TCHOUNWON, et al. 2012). Em muitos países em desenvolvimento, e também no Brasil, a degradação da qualidade da água tem ocorrido de forma cada vez mais acelerada devido à expansão dos processos industriais, da mineração e do agronegócio (SILVA 2000; MOURA et al. 2010). Estima-se que cerca de 0,3 a 1,0 milhão de toneladas de compostos metálicos são despejados em sistemas aquáticos brasileiros anualmente (SCHWARZENBACH 2006).

A poluição de todos os tipos de corpos d'água por compostos metálicos tóxicos representa uma das principais ameaças à perda de diversidade biológica (KUMAR 2012). Metais são potencialmente considerados um problema ambiental global, devido à sua elevada toxicidade, abundância e persistência nos ecossistemas (Smith et al. 1994; Yuan et al. 2011; Islam et al. 2015). Eles têm ainda como características agravantes a alta biodisponibilidade e a difícil degradação em ecossistemas aquáticos, tornando a biota especialmente suscetível à contaminação direta (Mountouris et al. 2002; Magalhães et al. 2015). Os metais podem ser acumulados em tecidos e órgãos dos seres vivos através de absorção e/ou adsorção, e potencialmente podem ser bioacumulados e/ou biomagnificados através de toda a teia trófica (LOUMBOURDIS et al. 1999; YUAN et al. 2017).

Estudos ecotoxicológicos com vertebrados aquáticos têm sido tradicionalmente realizados com espécies de peixes, como o *Danio rerio* (ALSOP e WOOD, 2011; NONNO e MAGALHÃES 2016) e *Poecilia reticulata* (KHANGAROT e RAY, 1990; MILIOU et al. 1998; YILMAZ et al. 2004, GUL et al. 2005). Já os bioensaios ecotoxicológicos utilizando anuros são muito menos frequentes e na maioria das vezes são realizados com organismos da família Bufonidae (FERRARI et al. 1996; CROSSLAND e ALFORD, 1998; RELYEA e JONES, 2009; LAJMANOVICH et al. 2011) e RANIDAE (PUNZO 1993; BRIDGES e SEMLITSCH 2000; MONTEIRO et al. 2018).

De acordo com Dmitrieva (2018) os estudos sobre a toxicidade de metais em anuros tem se tornado cada vez mais importantes na Ecotoxicologia, pois populações de anfíbios estão susceptíveis a poluição química com metais (FLYNN et al. 2015). Sendo que nos estágios iniciais estes organismos são ainda mais vulneráveis (Mann et al. 2009). Embora haja pesquisas relacionadas aos efeitos de metais e/ou outros poluentes sobre anfíbios, tais pesquisas ainda são restritas a poucas espécies. Assim, existe uma lacuna de conhecimento sobre a toxicidade de metais como cobre, mercúrio, zinco, chumbo e cádmio em relação a espécies de anuros nativas de regiões tropicais. No Brasil, a espécie de anuro mais utilizada em testes de toxicidade é a espécie exótica *Lithobates bebianus* (Howe et al. 2004; Ossana et al. 2010; Weir et al. 2012; Ossana et al. 2013) devido ao seu valor comercial na indústria alimentícia e por ser comumente usada em estudos ecotoxicológicos como modelo biológico. Esta espécie é nativa da América do Norte e introduzida na América do Sul (Stumpel 1992).

Neste contexto, o objetivo do presente estudo foi avaliar a sensibilidade dos girinos das espécies *Boana faber* (WIED-NEUWIED 1821) e *Scinax fuscovarius* (LUTZ 1925), que podem ser encontrados em vários habitats de áreas abertas, como pastagens e culturas agrícolas (PROVETE et al. 2011) a três metais, cobre, cádmio e mercúrio, pelo fato de serem os metais mais frequentemente encontrados em ecossistemas aquáticos tropicais (COTTA et al. 2006; LACERDA e MALN (2008). Para isto foram realizados testes de toxicidade aguda em laboratório, e a sensibilidade de indivíduos da fase aquática do ciclo de vida (girinos) foram utilizados como organismos-teste. As concentrações letais dos metais a estas espécies foram comparadas às reportadas para outras espécies de anfíbios, e também com espécies de outros grupos de vertebrados (peixes), além de comparações com espécies de diferentes grupos de invertebrados.

## Material e Métodos

### Espécies-teste: Coleta e aclimação dos organismos

Os espécimes de anuros das espécies *Boana faber* e *Scinax fuscovarius* foram obtidos no lago Mayaca, um pequeno reservatório intermitente localizado no Campus da Universidade Federal de São Carlos (UFSCar - SP) onde foram coletadas desovas de ambas as espécies. As desovas coletadas foram levadas ao laboratório e aclimatadas em aquários de 50L até os animais completarem o desenvolvimento embrionário. Os girinos foram mantidos em água reconstituída (ABNT 2016), e alimentados diariamente, utilizando-se ração de peixe (Alcon Basic<sup>®</sup>), como alimento. A alimentação foi interrompida 24 horas antes da realização dos testes ecotoxicológicos. Para ambas as espécies, a água reconstituída tinha as seguintes características: pH ( $7,40 \pm 0,60$ ), dureza ( $180 \pm 5,5$  mg CaCO<sub>3</sub>/L), temperatura ( $23,00 \pm 1,2^{\circ}\text{C}$ ) e condutividade elétrica ( $260 \pm 72\mu\text{S cm}$ ).

A temperatura no laboratório foi controlada a  $25 \pm 2^{\circ}\text{C}$  com fotoperíodo natural. Durante o período de desenvolvimento dos girinos, a água dos aquários foi renovada semanalmente em 50% do volume total, visando manter a qualidade da água para o melhor desenvolvimento dos organismos. Estas condições (temperatura, luz e regime alimentar) são as usualmente estabelecidas em experimentos com girinos (JIQUIRIÇÁ 2010; MOREIRA et al. 2019; FREITAS et al. 2019), caracterizando-se como adequadas para manutenção destes em condições saudáveis no laboratório. Somente indivíduos saudáveis, julgados pela morfologia e comportamento externos (BANTLE et al. 1991), foram selecionados para os experimentos. As espécies nativas foram coletadas sob licença n. 17559-10, autorizada pelo Instituto Brasileiro de Meio Ambiente e Renováveis Recursos Naturais (IBAMA).

### Testes de sensibilidade dos organismos ao cobre: estabelecimento da carta-controle

Foram submetidos aos testes de sensibilidade os girinos de três lotes de desovas de cada espécie coletados em períodos distintos. O intuito foi verificar as condições fisiológicas dos animais e garantir que as potenciais causas de mortalidade nos testes de toxicidade fossem relacionadas apenas com a exposição dos organismos aos metais e não devido à debilitação da saúde dos indivíduos. O composto químico utilizado como

substância de referência foi o sulfato de cobre como recomendado por Ossana et al. (2010).

Após a fase de aclimação dos organismos às condições de laboratório, os mesmos foram expostos a soluções com sulfato de cobre (número CAS-7758-99-8 da marca Synth) a partir de uma solução-estoque de 100 mg/L por 96 horas nas concentrações nominais de 0,10; 0,20; 0,30; 0,40 e 0,50 mg/L para *Scinax fuscovarius* e de 0,02; 0,04; 0,06; 0,08 e 0,10 mL/L para *Boana faber* sendo realizados 20 testes de toxicidade aguda. As concentrações foram selecionadas com base nos resultados obtidos em testes preliminares.

Para cada concentração, foram estabelecidas quatro réplicas com três organismos no estágio 25 conforme a Tabela de Gosner (GOSNER, 1960; SPARLING et al. 2010). Cada recipiente continha três litros de água recontida (1 L/indivíduo) preparada conforme as recomendações da ABNT (2016). Após o período de exposição (96h) foi avaliada a mortalidade dos indivíduos.

As exposições foram realizadas nas mesmas condições de manutenção dos girinos no laboratório (temperatura  $24 \pm 2$  °C, 12:12 h fotoperíodo claro/escuro, pH 7,0-8,0), no entanto, estes não foram alimentados durante as 96 h de exposição. No início e ao final de cada teste foram feitas medidas das variáveis físicas e químicas da água como: temperatura, pH, oxigênio dissolvido, e condutividade elétrica da água.

### **Testes de Toxicidade Aguda com os metais cádmio e mercúrio**

Testes de toxicidade aguda (96 h) foram realizados para avaliar a sensibilidade de *Scinax fuscovarius* e *Boana faber* aos metais cádmio (número CAS-7487-94-7 da marca Synth) e mercúrio (número CAS-7790-78-5 da marca Metaquímica). Em cada teste uma série de cinco concentrações foram avaliadas, as quais foram baseadas em testes preliminares. Foram estabelecidas quatro réplicas por tratamento, onde cada réplica consistia em um balde plástico contendo 1 L de solução de teste, onde foram colocados três girinos (*B. faber*  $-3,2 \pm 0,5$  cm; *S. fuscovarius*  $-4,1 \pm 0,4$ ) no estágio 25 na Tabela de Gosner (GOSNER, 1960). Foram realizados quatro testes de toxicidade aguda para cada um dos metais.

Os testes foram realizados nas mesmas condições já descritas na seção “Espécies -teste”, exceto que os animais não foram alimentados durante o teste. Com base nos resultados de testes preliminares e a partir de soluções-estoque de 100mg/L para cádmio

e mercúrio, respectivamente, cinco concentrações de teste (todas em mg a.i./L) foram estabelecidas: *Boana faber* - Cádmio: 2,20; 2,30; 2,40; 2,50; 2,60 e mercúrio: 0,08; 0,10; 0,12; 0,14; 0,16. *Scinax fuscovarius* - Cádmio: 1,80; 2,20; 2,60; 3,00; 3,40 e mercúrio: 0,10; 0,20; 0,30; 0,40; 0,50.

### **Distribuições de sensibilidade de espécies**

Para comparar a sensibilidade dos girinos de *Boana faber* e de *Scinax fuscovarius* com a de outros vertebrados e invertebrados aquáticos, foram construídas curvas de distribuição de sensibilidade das espécies (SSDs). Para isto, os resultados de CL<sub>50</sub>-96h obtidos no presente estudo para cada metal testado, foram comparados aos dados de CL<sub>50</sub>-96h para vertebrados e invertebrados obtidos por diferentes autores e disponibilizados no banco de dados USEPA ECOTOX (<http://cfpub.epa.gov/ecotox/>) além de outros dados acessíveis, obtidos na literatura aberta. Foram incluídos apenas dados de toxicidade aguda para organismos aquáticos obtidos em laboratório, e que puderam ser confirmados nos artigos publicados e que respeitaram os critérios de seleção estabelecidos para comparação, sendo a CL<sub>50</sub> e tempo de duração do experimento de 96 horas os parâmetros dos critérios (VAN-den-BRINK et al. 2006; BROCK e VAN-WIJNGAARDEN 2012). Se mais de um valor de toxicidade estava disponível para uma espécie, a média geométrica foi calculada e usada para evitar super-representação de espécies frequentemente testadas.

As SSDs foram construídas com o programa ETX, versão 2.0 (VAN-VLAARDINGEN et al. 2004). O HC<sub>5</sub> (concentração de perigo para 5% das espécies) e o HC<sub>50</sub> (concentração de perigo para 50% das espécies) e seus limites de confiança foram também determinados com este software com base na metodologia delineada por Aldenberg e Jaworska (2000). Como uma distribuição log-normal dos dados é assumida neste programa, a log-normalidade foi antes avaliada pelo teste de Anderson-Darling incluído no pacote do software ETX, no nível de significância de 5%.

### **Análise de dados**

Os valores de 96 h-CL<sub>50</sub> foram calculados por regressão não linear, usando a curva logística de três parâmetros no software Statistica 7.0 (STATSOFT, 2004).

A faixa de sensibilidade ao sulfato de cobre foi estabelecida por meio de um modelo desenvolvido pelo USEPA (1985), o gráfico de carta-controle, que consiste em uma linha representando o valor médio das 96 h-CL<sub>50</sub> de 20 testes de toxicidade aguda e os limites superiores e inferiores do intervalo de confiança de 95%, que são mostrados como duas linhas, que correspondem a mais (superior) ou menos (inferior) duas vezes o desvio da média.

## Resultados e discussão

### Variáveis abióticas dos testes de toxicidade

Os parâmetros físicos e químicos das soluções-teste obtidos no início e ao final dos testes de toxicidade aguda demonstraram a estabilidade nos ensaios realizados para ambas as espécies, como pode ser observado na Tabela 1. Os valores de pH variaram de 7,6 e 7,7 no início a 7,4 ao final do teste.; a condutividade elétrica entre 629-622 e 627-606  $\mu\text{S cm}^{-1}$  no início e final do teste, respectivamente, e a dureza de 182-186 no início a 198-201 mg CaCO<sub>3</sub> ao final. A temperatura se manteve constante (23°C) do início ao final dos experimentos para ambas as espécies.

**Tabela 1:** Parâmetros físicos e químicos (média  $\pm$  desvio padrão) medidos nas soluções-teste no início e no final dos testes de toxicidade aguda realizados com girinos dos anfíbios nativos neotropicais *Boana faber* e *Scinax fuscovarius*.

Parâmetro/Espécie	<i>B. faber</i>	<i>S. fuscovarius</i>
pH - inicial	7,6 $\pm$ 0,21	7,7 $\pm$ 20
pH - final	7,4 $\pm$ 0,19	7,4 $\pm$ 24
Condutividade elétrica – inicial ( $\mu\text{S cm}^{-1}$ )	629 $\pm$ 52	622 $\pm$ 91
Condutividade elétrica – final ( $\mu\text{S cm}^{-1}$ )	627 $\pm$ 66	606 $\pm$ 101
Temperatura – inicial (°C)	23 $\pm$ 0,30	23 $\pm$ 0,15
Temperatura – final (°C)	23 $\pm$ 0,62	23 $\pm$ 0,22
Dureza – inicial (mg CaCO <sub>3</sub> L <sup>-1</sup> )	182 $\pm$ 7,2	186 $\pm$ 9,1
Dureza – final (mg CaCO <sub>3</sub> L <sup>-1</sup> )	198 $\pm$ 9,3	201 $\pm$ 8,9

## Sensibilidade dos dois girinos nativos de sapos aos metais avaliados

Até o presente, de acordo com o nosso conhecimento, não há dados registrados na literatura sobre a toxicidade do sulfato de cobre, cloreto de cádmio, cloreto de mercúrio ou outro poluente sobre as espécies tropicais testadas.

As variações dos resultados obtidos nos testes de 96h-CL<sub>50</sub> para o sulfato de cobre estão sumarizados na Figura 1 e também na Tabela S1. A espécie *B. faber* foi aproximadamente três vezes mais sensível que a *S. fuscovarius* quando exposta a esse metal, com média de  $0,080 \pm 0,007$  e  $0,270 \pm 0,046$  mg/L respectivamente. Considerando que as variabilidades dos dados obtidos para ambas as espécies foram estabelecidas no mesmo laboratório. Dentre os metais analisados, o sulfato de cobre foi o metal com maior toxicidade para as duas espécies utilizadas como organismo-teste.

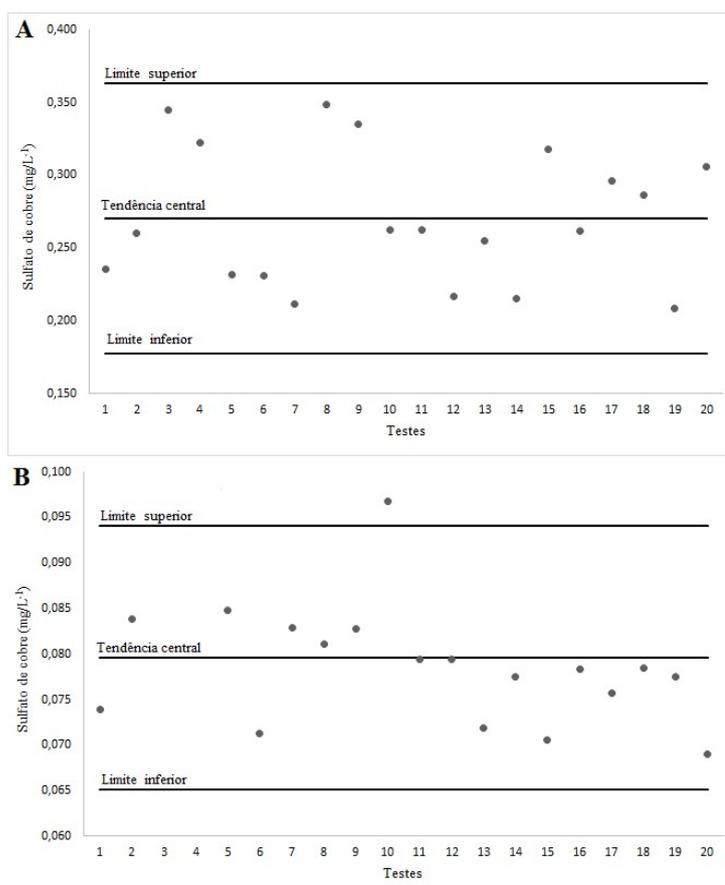


Figura 1: Intervalos de sensibilidade das espécies tropicais nativas de anfíbios (A) *Scinax fuscovarius* (B) *Boana faber* ao sulfato de cobre (CuSO<sub>4</sub>). Os limites superior e inferior dos intervalos de confiança de 95% também são indicados nas figuras.

O cobre foi o metal com maior toxicidade para ambas as espécies. Estudos realizados por Calfee e Little (2017) com a espécie *Lithobates chiricahuensis*, salienta que o metal de cobre é potencialmente mais tóxico que cádmio, afetando diretamente a sobrevivência e diminuindo o crescimento dos girinos.

Girinos de *B. faber* também foram significativamente mais sensíveis que *S. fuscovarius* quando expostos aos metais de cádmio e mercúrio ( $p < 0,05$ ). Os valores médios de  $CL_{50}$  para o cádmio foram semelhantes (2,462 (DP) e 2,738 mg/L (DP) (Tabela 2). Para o mercúrio a diferença das médias entre as espécies foi maior, variando entre 0,113 mg/L para *B. faber* e 0,310 mg/L para *S. fuscovarius* (Tabela 2).

Ossana et al. (2010) ao avaliar girinos expostos ao cobre e cádmio diminui a sobrevivência dos indivíduos, pois a exposição aguda ao metal provoca um considerável estresse aos animais devido ao impacto genotóxico avaliados nas células sanguíneas – eritrócitos. Gürkan et al., (2014) descreve os efeitos histopatológicos do metal de cádmio no organismo de anfíbios, e observou alterações importantes em órgão como fígado, rim, brânquias, túbulos hepáticos e renais. A presença de cádmio no organismo de anfíbios inibe a metabolização de íons de  $Ca^{+2}$  das brânquias afetando a composição iônica do plasma e desajustando a osmorregulação (RICARD et al., 1998).

O mercúrio é conhecido como um metal perigoso, sendo considerado metal com maior toxicidade (JAISHANKAR et al., 2014). Embora, no presente estudo o metal de cobre apresentou toxicidade superior ao mercúrio para ambos os anfíbios testados. Entretanto, em estudos realizados por Bergeron et al. (2010) e Hothem et al. (2010) com seis espécies de anfíbios norte-americanos, as toxicidades obtidas para o mercúrio foram maiores que a determinadas no presente estudo.

Tabela 2: Valores médios da concentração letal  $CL_{50}$ -96h e limites de confiança e significância destes obtidos em 20 testes de toxicidade aguda realizados com cloreto de cádmio e cloreto de mercúrio para os anfíbios *Boana faber* e *Scinax fuscovarius*.

Teste/Espécie	<i>Boana faber</i>			<i>Scinax fuscovarius</i>		
	$\bar{X}$	Mín / Máx	$p$	$\bar{X}$	Mín / Máx	$p$
Cd - 01	2,475	(2,391 – 2,560)	<0,00001	2,661	(2,476 – 2,845)	<0,00001
Cd - 02	2,444	(2,376 – 2,512)	<0,00001	2,761	(2,634 – 2,887)	<0,00001
Cd - 03	2,451	(2,387 – 2,514)	<0,00001	2,743	(2,559 – 2,927)	<0,00001

Cd - 04	2,480	(2,370 – 2,585)	<0,00001	2,789	(2,612 – 2,967)	<0,00001
$\bar{X}$	2,462			2,738		
$\sigma$	0,017			0,055		
Hg - 01	0,127	(0,113 – 0,142)	<0,00001	0,298	(0,235 – 0,360)	<0,00001
Hg - 02	0,110	(0,100 – 0,120)	<0,00001	0,333	(0,264 – 0,401)	<0,00001
Hg - 03	0,096	(0,075 – 0,116)	<0,00001	0,312	(0,264 – 0,360)	<0,00001
Hg - 04	0,121	(0,105 – 0,136)	<0,00001	0,298	(0,235 – 0,360)	<0,00001
$\bar{X}$	0,113			0,310		
$\sigma$	0,013			0,016		

O cobre é um metal recorrente em despejos industriais e agrícolas despejados nos recursos hídricos brasileiros (Joachim et al, 2017). A CETESB (2009) determina que o padrão de potabilidade para água contendo o cobre é de 2 mg/L. Em relação ao cádmio águas consideradas não contaminadas apresentam concentração de cádmio inferior a 1 µg/L, enquanto a água considerada potável para o consumo humano possui valores entre 0,01 e 1 µg/L. Nos corpos d'água brasileiros, as concentrações de mercúrio são geralmente inferiores a 0,5 µg/L, e o padrão aceitável para consumo estabelecido pela Portaria 518/04 é de 0,001 mg/L. Portanto, a concentração mínima aceita na legislação brasileira para ambos os metais não garante a proteção de nenhuma das espécies testadas no presente estudo, uma vez que a concentração letal para 50% das populações foram inferiores aos estabelecidos pela lei.

### **Sensibilidade em comparação com outros anfíbios, peixes e invertebrados de diferentes grupos taxonômicos**

Os pontos nas curvas SSDs apresentadas na Figura 2 representam os valores médios das concentrações de 96h-CL<sub>50</sub> dos três metais às duas espécies de anfíbios e também as faixas de CL<sub>50</sub> obtidas na literatura por diversos autores para diversos organismos aquáticos, como peixes, insetos, crustáceos e outros anuros. As curvas permitem a comparação da sensibilidade das espécies nativas tropicais com a de outras

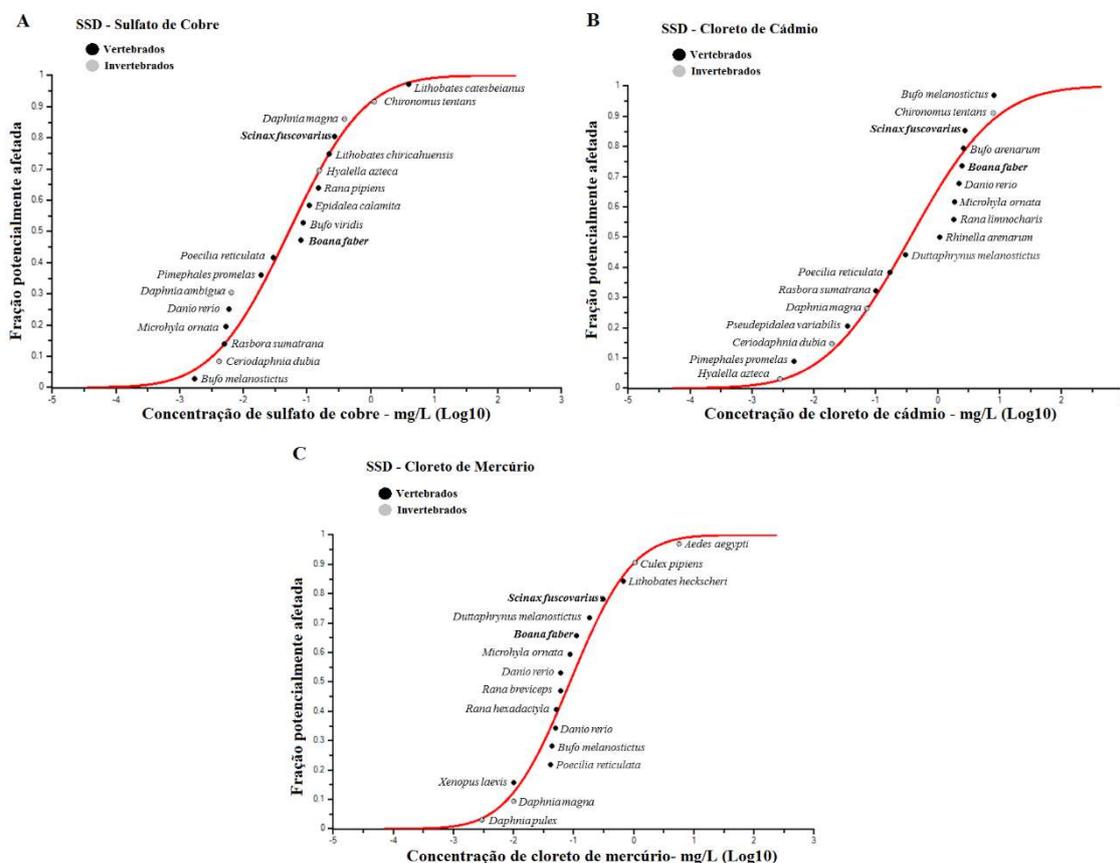
espécies de anfíbios além de espécies de diferentes grupos taxonômicos e a de diferentes níveis tróficos.

A curva SSD obtida para o sulfato de cobre (Figura 2-A), mostra que a espécie *B. faber* foi relativamente sensível ao cobre quando comparadas com espécies de anuros mais sensíveis como *Bufo melanostictus* (DEVILLERS e EXBRAYAT 1992) e *Microhyla ornata* (SCHUYTEMA e NEBEKER 1996), assim como o peixe *Rasbora sumatrana* (Shuhaimi-Othman et al. 2010) e o cladóceros *Ceriodaphnia dubia* (HARMON et al. 2003). A espécie *S. fluscovarius*, no entanto, foi uma das espécies mais resistentes ao cobre, apresentando valores semelhantes aos de espécies mais resistentes como *Lithobates catesbeianus*, espécie muito utilizada em testes ecotoxicológicos com anfíbios (OSSANA et al. 2010). Portanto, ao utilizar somente *L. catesbeianus* como espécie padrão para avaliar e/ou prever efeitos do metal de cobre sobre a biota aquática, não garante a proteção das espécies tropicais testadas neste estudo e as demais espécies de anfíbios e peixes. Uma vez que a  $CL_{50}$  para *L. catesbeianus* foi de 3,96 mg/L, valor superior a de todos os organismos testes com sulfato de cobre.

A curva SSD para o cádmio (Figura 2-B) evidencia que as duas espécies nativas foram menos sensíveis a este composto do que a maioria dos anfíbios e peixes utilizados em outros estudos e selecionados para esta comparação. Apenas duas espécies foram mais tolerantes que as espécies nativas de anfíbios, o inseto aquático díptero *Chironomus tentans* (SUEDEL et al. 1997) e o anfíbio *Bufo melanostictus* (KHANGAROT e RAY 1987), espécies comumente utilizadas como organismos-teste nas regiões temperadas em bioensaios com metais e agrotóxicos. Neste caso, o fator de avaliação de 100 evidencia que as espécies testadas não garantiriam a proteção da maior parte dos anfíbios e peixes.

A curva SSD apresentada na Figura 2-C representa a sensibilidade das diferentes espécies indicada pelas concentrações deste metal capazes de causar mortalidade de 50% ( $CL_{50}$ ) dos indivíduos de cada espécie e a fração de espécies que seriam afetadas quando expostas ao cloreto de mercúrio. Assim como observado para os demais metais testados, no presente estudo, a espécie *S. fluscovarius* foi mais tolerante que a maioria dos vertebrados. Já *B. faber* apresentou sensibilidade intermediária ao cádmio quando comparada a outras espécies mais sensíveis de anfíbios como *Xenopus laevis*, *B. melanostictus*, *Rana hexadactyla*, *Rana breviceps* e *M. ornata* sensibilidades foram

avaliadas por Boeing (2000). Portanto as faixas de 96h-CL<sub>50</sub> dos anfíbios testados não são suficientes para garantir a proteção da maioria das espécies comparadas.



**Figura 2:** Curvas de distribuição da sensibilidade de espécies (SSD) em relação com base nos valores de CL<sub>50</sub>- 96 h dos metais cobre, cádmio e mercúrio sobre duas espécies de anuros tropicais (*Boana faber* e *Scinax fuscovarius*) e diversas outras espécies de vertebrados aquáticos (peixes e anfíbios) e invertebrados (crustáceos e insetos). (A) Sulfato de cobre; (B) Cloreto de cádmio; (C) Cloreto de mercúrio, evidenciando as frações de espécies afetadas à medida que aumentam os valores das concentrações letais.

Um estudo realizado por Bridges et al.(2002) avaliando a toxicidade de metais e outros agroquímicos para espécies de peixes e anfíbios mostrou que girinos de diversas espécies normalmente são mais tolerantes do que peixes, o que corrobora os resultados obtidos no presente estudo, uma vez que os anfíbios estudados foram mais tolerantes quando comparados com espécies comumente utilizadas em testes ecotoxicológicos, com metais. Porém, existem muitas outras espécies tropicais de anfíbios, e conhecer a sensibilidade das mesmas é essencial para de fato, pois os efeitos dos metais podem ser específicos para cada espécie.

## Conclusões

- Os três metais avaliados causam toxicidade às espécies de anfíbios *B. faber* e *S. fluscovarius* em concentrações-traço, ambientalmente relevantes, da ordem de microgramas de cobre e mercúrio e de menos de três miligramas de cádmio;
- Entre os metais testados o cobre foi o mais tóxico para os anfíbios nativos estudados.
- Estas espécies nativas de anfíbios são bastante sensíveis ao cobre e se a faixa de suas sensibilidades fosse utilizada para estabelecimento de limites permissíveis de ocorrência cobre nos ambientes aquáticos, teria provavelmente efeito protetor à maioria das espécies aqui representadas.
- Os resultados obtidos corroboram a percepção crescente de que espécies de diferentes grupos taxonômicos têm diferentes sensibilidades e que esta varia de acordo com cada contaminante reforçando a necessidade de que os estudos sobre os efeitos de diferentes contaminantes em regiões neotropicais incluam cada vez mais espécies nativas.

## Referências bibliográficas

- ABNT - Associação Brasileira de Normas Técnicas (2016). Aquatic Ecotoxicology– Acute Toxicity - Test with *Daphnia* Spp (Cladocera, Crustacea). NBR 12713. ABNT, Rio de Janeiro.
- ALDENBERG T, JAWORSKA JS (2000) Uncertainty of hazardous concentrations and fraction affected for normal species sensitivity distributions. *Ecotoxicol. Environ. Saf.* 46:1–18.
- ALSOP D, WOOD CM (2011). Metal up take and acute toxicity in zebra fish: Common mechanisms across multiple metals. *Aquatic Toxicology* 105: 385–393
- BERGERON C, BODINOF, CM, UNRINE, JM, HOPKINS, WA (2010) Bioaccumulation and maternal transfer of mercury and selenium in amphibians. *Environmental Toxicology and Chemistry* 29: 989–997
- BRIDGES CM, SEMLITSCH RD (2000) Variation in Pesticide Tolerance of Tadpoles among and within Species of Ranidae and Patterns of Amphibian Decline. *Conservation Biology*, 14: 1490–1499
- BRIDGES CM, DWYER FJ, HARDESTY DK, WHITES DW (2002) Comparative contaminant toxicity: are amphibian larvae more sensitive than fish? *Bull Environ Contam Toxicol* 69: 562–569

- BROCK TCM, VAN WIJNGAARDEN RPA (2012) Acute toxicity tests with *Daphnia magna*, *Americamysis bahia*, *Chironomus riparius* and *Gammarus pulex* and implications of new EU requirements for the aquatic effect assessment of insecticides. *Environ Sci Pollut R* 19: 3610–3618
- CALFEE RD, Little EE (2017) Toxicity of Cadmium, Copper, and Zinc to the Threatened Chiricahua Leopard Frog (*Lithobates [Rana] chiricahuensis*). *Bull Environ Contam Toxicol* 99: 679–683
- CAREY C, BRYANT CJ (1995) Possible Interrelations among Environmental Toxicants, Amphibian Development, and Decline of Amphibian Populations. *Environ Health Perspect* 103: 13-17
- CETESB (2009) Significado Ambiental E Sanitário Das Variáveis De Qualidade Das Águas E Dos Sedimentos E Metodologias Analíticas E De Amostragem, Qualidade Das Águas Interiores No Estado De São Paulo. São Paulo.
- COTTA JAO, OLIVEIRA R, PIOVANI MR (2006) Avaliação do teor de metais em sedimento do rio Betari no Parque Estadual Turístico do Alto Ribeira - PETAR, São Paulo, Brasil. *Quim. Nova* 29: 40-45
- CROSSLAND MR, ALFORD RA. (1998). Evaluation of the toxicity of eggs, hatchlings and tadpoles of the introduced toad *Bufo marinus* (Anura: Bufonidae) to native Australian aquatic predators. *Australian Journal of Ecology* 23: 129-13
- DEVILLERS J, EXBRAYAT JM (eds) (1992) Handbooks of ecotoxicological data. Ecotoxicity of Chemicals to Amphibians, vol 1. Gordon & Breach Science, Reading
- DICKMAN M, RYGIEL G (1996) Chironomid larval deformity frequencies, mortality, and diversity in heavy-metal contaminated sediments of a canadian riverine wetland. *Environment International* 22: 693-703
- DMITRIEVA (2018) Effects of high copper exposure on development and survival during early ontogenesis in the common toad. *BioRxiv* 19: 466-471
- FLYNN RW, SCOTT DE, KUHNE W, SOTEROPOULOS D, Lance SL (2015) Lethal and sublethal measures of chronic copper toxicity in the eastern narrowmouth toad, *Gastrophryne carolinensis*. *Environ. Toxicol. Chem.* 34: 575–582
- GERHARDT A (1993) Review of impact of heavy metals on stream invertebrates with special emphasis on acid conditions. *Water, Air, and Soil Pollution* 66: 289-314
- FREITAS JS, GIROTTO, L, GOULARTH, BV, ALHO LOG, GEBARA, RG, CASSIANA CM, SCHIESARI, ESPINDOLA, ELG (2019) Effects of 2,4-D-based

herbicide (DMA® 806) on sensitivity, respiration rates, energy reserves and behavior of tadpoles. *Ecotoxicology and Environmental Safety* 182: 109-446

GOSNER K (1960) A simplified Table for staging anuran embryos and larvae with notes on identification. *Herpetologica*. 16: 183–190

GUL A, YILMAZ M, İŞILAK Z, HALLARE AV, SCHIRLING M, LUCKENBACH T, KOHLER HR, TRIEBSKORN R (2005) Combined effects of temperature and cadmium on developmental parameters and biomarker responses in zebrafish (*Danio rerio*) embryos. *Journal of Thermal Biology* 30: 7–17

HAMMOND JJ, RELYEA RA (2009) Very highly toxic effects of endosulfan across nine species of tadpoles: lag effects and family-level sensitivity. *Environmental Toxicology and Chemistry* 28: 1939–1945

HARMON SM, SPECHT WL, CHANDLER GT (2003) A comparison of the daphnids *Ceriodaphnia dubia* and *Daphnia ambigua* for their utilization in routine toxicity testing in the southeastern United States. *Archives of Environmental Contamination and Toxicology* 45:79-85

HOTHEM RL, JENNINGS MR, CRAYON, JJ (2010) Mercury contamination in three species of anuran amphibians from the Cache Creek Watershed, California, USA. *Environ Monit* 163: 433–448

ISLAM MSI, AHMED MK, RAKNUZZAMAN M, AL-MAMUN MH, ISLAM MK (2015) Heavy metal pollution in surface water and sediment: A preliminary assessment of an urban river in a developing country. *Ecological Indicators* 48: 282–291

JAISHANKAR M, MATHEW BB, SHAH MS, GOWDA KRS (2014) Biosorption of Few Heavy Metal Ions Using Agricultural Wastes. *Journal of Environment Pollution and Human Health* 2:1–6

JQUIRICA PRI (2010) Efeitos letais e subletais da poluição por nitrogênio em larvas de anuros. *Dissertação (Universidade de São Paulo) – São Paulo*

JOACHIM S, ROUSSEL H, BONZOM JM, THYBAUD E, MEBANE CA, VAN DEN BRINK P, GAUTHIER L (2017) A long-term copper exposure in a freshwater ecosystem using lotic mesocosms: Invertebrate community responses. *Environ. Toxicol. Chem.* 36, 2698–2714.

KHANGAROT BS, RAY PK (1987) Sensitivity of toad tadpoles, *Bufo melanostictus* (Schneider), to heavy metals. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology* 38: 523-527

- KHANGAROT BS, RAY PK (1990) Acute toxicity and toxic interaction of chromium and nickel to common guppy *Poecilia reticulata* (Peters). *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*, 44: 832–839
- KUMAR SP (2012) Micronucleus assay: a sensitive indicator for aquatic pollution. *Int. J. Res. BioSciences* 1: 32–37
- LACERDA LC, MALM O (2008) Contaminação por mercúrio em ecossistemas aquáticos: uma análise das áreas críticas. *Estudos e Avanços* 22: 173-190
- LAJMANOVICH RC, ATTADEMO AM, PELTZER PM, JUNGES CM, CABAGNA MC (2011) Toxicity of Four Herbicide Formulations with Glyphosate on *Rhinella arenarum* (Anura: Bufonidae) Tadpoles: B-esterases and Glutathione S-transferase Inhibitors. *Arch Environ Contam Toxicol* 60:681–689
- LOUMBOURDISA NS, KYRIAKOPOULOU-SKLAVOUNOUA P, ZACHARIADIS G (1999) Effects of cadmium exposure on bioaccumulation and larval growth in the frog *Rana ridibunda*. *Environmental Pollution* 104: 429-433
- MAGALHÃES DP, MARQUES MRC, BAPTISTA DF, BUSS DF (2015) Metal bioavailability and toxicity in freshwaters. *Environ Chem Lett* 13:69–87
- MANN R, HYNE R, CHOUNG C, Wilson S (2009) Amphibians and agricultural chemicals: Review of the risks in a complex environment. *Environmental Pollution* 157: 2903–2927
- MILIOU H, ZABOUKAS N, MORAITOU-APOSTOLOPOULOU M (1998) Biochemical Composition, Growth, and Survival of the Guppy, *Poecilia reticulata*, During Chronic Sublethal Exposure to Cadmium. *Archives of Environmental Contamination and Toxicology* 35: 58–63.
- MONTEIRO JAN, CUNHA LA, COSTA MHP, REIS HS, AGUIAR ACS, OLIVEIRA-BAHIA RLO, BURBANOA CAMR (2018) Mutagenic and histopathological effects of hexavalent chromium in tadpoles of *Lithobates catesbeianus* (Shaw, 1802) (Anura, Ranidae). *Ecotoxicology and Environmental Safety* 163: 400–407
- MOREIRA RA, FREITAS JS, PINTO TJS, SCHIESARI, DAAM MA, MONTAGNER CC, GOULART, ESPINDOLA LG (2019) Mortality, Spatial Avoidance and Swimming Behavior of Bullfrog Tadpoles (*Lithobates catesbeianus*) Exposed to the Herbicide Diuron. *Water Air Soil Pollut* 230:125
- MOUNTOURIS A, VOITSAS E, TASSIOS D (2002) Bioconcentration of heavy metals in aquatic environments: the importance of bioavailability. *Marine Pollution Bulletin* 44: 1136–1141

- MOURA LHA, BOAVENTURA GR, PINELLI MP (2010) A qualidade de água como indicador de uso e ocupação do solo: bacia do Gama – Distrito Federal. *Quimica Nova* 33: 97-103. ISSN 1678-7064
- NONNO CA, MAGALHÃES DP (2016) Comparação da toxicidade de espécies metálicas do Cromo (III e VI), através de testes ecotoxicológicos com organismos aquáticos. *RevistaBioUSU* 2: 13-26
- NORDBERG GF, FOWLER BA, NORDBERG M, FRIBERG LT (2007) *Handbook on the Toxicology of Metals* (Ed.) 3. ed. Amsterdam: Elsevier, 995p.
- OECD, 2008. OECD GUIDELINES FOR THE TESTING OF CHEMICALS Bioaccumulation in Sediment-dwelling Benthic Oligochaetes, OECD 315, Paris.
- OSSANA NA, CASTANE PM, POLETTA GL, MURDRY MD, SALIBIAN, A. Toxicity of Waterborne (2010) Copper in Premetamorphic Tadpoles of *Lithobates catesbeianus* (Shaw, 1802). *Bull Environ Contam Toxicol* (2010) 84:712–715  
DOI 10.1007/s00128-010-0014-0
- PARELHO C, RODRIGUES AS, CRUZ JV, GARCIA P (2014) Linking trace metals and agricultural land use in volcanic soils -A multivariate approach. *Sci. Total Environ.* 496: 241–247
- PROVETE DC, GAREY MV, SILVA FR, ROSSA-FERES DC (2011) Anuranfauna from Northwestern region of the state of São Paulo: species list and taxonomic key for adults. *Biota Neotropica* 11: 377–391
- PUNZO (1993) Effect of Mercuric Chloride on Fertilization and Larval Development in the River Frog, *Rana heckscheri*(Wright) (Anura: Ranidae). *Bull. Environ. Contam. Toxicol.* 51: 575-581
- RELYEA RA, JONES D. (2009). The toxicity of roundup original maxhto 13 species of larval amphibians ricka. *Environmental Toxicology and Chemistry* 28: 2004–2008
- RICARD AC, DANIEL C, ANDERSON P, HONTELA A (1998) Effects of subchronic exposure to cadmium chloride on endocrine and metabolic functions in rainbow trout *Oncorhynchus mykiss*. *Arch Environ Contam Toxicol* 34:377-81
- ROSABAL M, PIERRON F, COUTURE P, BAUDRIMONT M, HARE L, CAMPBELL PG (2015) Subcellular partitioning of non-essential trace metals (Ag, As, Cd, Ni, Pb, and Tl) in livers of American (*Anguilla rostrata*) and European (*Anguilla anguilla*) yellow eels. *Aquatic Toxicology* 160: 128-141
- SILVA LL (2000) O papel do estado no processo de ocupação das áreas de Cerrado entre as décadas de 60 e 80. *Caminhos de Geografia* 1: 24-36

- SMITH JB, SMITH L, PIJUAN V, ZHUANG Y, Chen YC (1994) Transmembrane signals and protooncogene induction evoked by carcinogenic metals and prevented by zinc. *Environ. Health Perspect* 102: 181-189
- SOBHA K, POORNIMA A, HARINI P, VEERAIK K (2007) A study on biochemical changes in the fresh water fish, catlacatla (Hamilton) exposed to the heavy metal toxicant cadmium chloride. *Kathmandu university journal of science, engineering and technology* 4: 1-11
- STATSOFT (2004) Statistica version 07. Freely accessible via <[www.statsoft.com](http://www.statsoft.com)> (Acessoem Agosto de 2019)
- SPARLING DW, LINDER G, BISHOP C, KREST S (2010) *Ecotoxicology of Amphibians and Reptiles*. SETAC/Taylor & Francis, Boca Raton.
- SCHUYTEMA GS, NEBEKER AV (1996) Amphibian toxicity data for water quality criteria chemicals. EPA/600/R-96/124. USEPA, National Health and Environmental Effects Research Laboratory, Western Ecology Division, Corvallis, Oregon
- SHUHAIMI-OTHMAN Y, NADZIFAH K, AHMAD, AK (2010) Toxicity of Copper and Cadmium to Freshwater Fishes. *International Journal of Biological, Biomolecular, Agricultural, Food and Biotechnological Engineering* 4: 29-38
- SCHWARZENBACH RP (2006). The challenge of micropollutants in aquatic systems. *Science* 313: 1072–1077
- SUEDEL BC, RODGERS JH, DEEVER E (1997) Experimental Factors That May Affect Toxicity of Cadmium to Freshwater Organisms. *Arch. Environ. Arch. Environ. Contam. Toxicol.* 33: 188–193
- STUMPEL AHP (1992) Successful reproduction of introduced bullfrogs *Rana catesbeiana* in northwestern Europe: a potential threat to indigenous amphibians. *Biol. Conserv* 60: 61–62
- TCHOUNWOU PB, YEDJOU CG, PATLOLLA AK, SUTTON DJ (2012) Heavy Metal Toxicity and the Environment. In: Luch A. (ed.) *Molecular, Clinical and Environmental Toxicology*. *Experientia Supplementum* 101: 133-164
- USEPA - US Environmental Protection Agency (1985) Short-term methods for estimating the chronic toxicity of effluents and receiving waters to freshwater organisms. Washington, DC. <http://www.epa.gov/pesticides/bluebook/chapter1.html>
- USEPA - United States Environmental Protection Agency (1994) Methods for measuring the toxicity and bioaccumulation of sediment-associated contaminants with freshwater

invertebrates. Report EPA 600/R-94/024. United States Environmental Protection Agency, Duluth, p 133.

VAN DEN BRINK PJ, BLAKE N, BROCK TCM, MALTBY L (2006) Predictive value of species sensitivity distributions for effects of herbicides in freshwater ecosystems. *Hum Ecol Risk* 12:645–674

VAN VLAARDINGEN, P, TRAAS TP, WINTERSEN AM, ALDENBERG T (2004). ETX 2.0. A program to calculate hazardous concentrations and fraction affected, based on normally distributed toxicity data. Bilthoven, the Netherlands: RIVM Report No. 601501028/2004. National Institute of Public Health and the Environment (RIVM).

WU X, COBBINA SJ, MAO G, XU H, ZHANG Z, YANG L (2016) A review of toxicity and mechanisms of individual and mixtures of heavy metals in the environment. *Environmental Science and Pollution Research* 23: 8244-8259

YILMAZ M, GUL A, KARAKOSE E (2004) Investigation of acute toxicity and the effect of cadmium chloride ( $\text{CdCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ ) metal salt on behavior of the guppy (*Poecilia reticulata*) *Chemosphere* 56: 375–380

YUAN D, HUANG L, ZENG L, LIU S (2017) Acute toxicity of mercury chloride ( $\text{HgCl}_2$ ) and cadmium chloride ( $\text{CdCl}_2$ ) on the behavior of freshwater fish, *Percocypris pingi*. *Int. Journal of Aquaculture Fisheries and Science* 7: 66-70

ISSN: 2455-8400

YUAN GL, LIU C, CHEN L, YANG Z (2011) Inputting history of heavy metals into the inland lake recorded in sediment profiles: Poyang Lake in China. *J. Hazard Mater* 185: 336-345

## Anexos:

Tabela S1: Valores médios, limites inferiores e superiores da concentração letal em mg/L (CL<sub>50</sub>) obtidos em vinte testes de toxicidade aguda realizados com sulfato de cobre (mg/L) para os anfíbios *Boana faber* e *Scinax fuscovarius*.

Teste/Espécie	<i>B. faber</i>			<i>S. fuscovarius</i>		
	$\bar{X}$	Mín / Máx	<i>p</i>	$\bar{X}$	Mín / Máx	<i>p</i>
01	0,074	(0,068 – 0,080)	<0,00001	0,236	(0,164 – 0,308)	<0,00001
02	0,084	(0,069 – 0,098)	<0,00001	0,261	(0,166 – 0,355)	<0,00001
03	0,081	(0,075 – 0,087)	<0,00001	0,345	(0,297 – 0,392)	<0,00001
04	0,095	(0,074 – 0,117)	0,00001	0,322	(0,257 – 0,388)	0,00001
05	0,085	(0,065 – 0,105)	<0,00001	0,231	(0,147 – 0,316)	<0,00001
06	0,071	(0,054 – 0,088)	<0,00001	0,231	(0,148 – 0,314)	<0,00001
07	0,083	(0,075 – 0,090)	<0,00001	0,212	(0,149 – 0,275)	<0,00001
08	0,081	(0,064 – 0,098)	<0,00001	0,348	(0,301 – 0,396)	<0,00001
09	0,083	(0,061 – 0,105)	<0,00001	0,335	(0,307 – 0,364)	<0,00001
10	0,097	(0,068 – 0,126)	<0,00001	0,262	(0,174 – 0,351)	<0,00001
11	0,079	(0,050 – 0,109)	0,00001	0,262	(0,206 – 0,318)	<0,00001
12	0,079	(0,050 – 0,109)	0,00001	0,217	(0,136 – 0,297)	0,00001
13	0,072	(0,057 – 0,087)	<0,00001	0,255	(0,175 – 0,335)	<0,00001
14	0,078	(0,070 – 0,085)	<0,00001	0,216	(0,160 – 0,271)	<0,00001
15	0,071	(0,057 – 0,084)	<0,00001	0,318	(0,292 – 0,344)	<0,00001
16	0,078	(0,061 – 0,096)	<0,00001	0,262	(0,175 – 0,349)	<0,00001
17	0,076	(0,064 – 0,088)	<0,00001	0,296	(0,235 – 0,358)	<0,00001
18	0,078	(0,055 – 0,102)	<0,00001	0,287	(0,219 – 0,354)	<0,00001
19	0,078	(0,068 – 0,087)	0,00001	0,209	(0,124 – 0,293)	0,00004
20	0,069	(0,055 – 0,083)	<0,00001	0,306	(0,262 – 0,293)	<0,00001
$\bar{X}$	0,080			0,270		

## CAPITULO 4

### EFEITOS DO COBRE, CÁDMIO E MERCÚRIO SOBRE AS TAXAS DE PREDACÃO E A SELETIVIDADE ALIMENTAR DE *ANAX SP.* (ODONATA, AESHNIDAE) E DE *BELOSTOMA SP.* (HEMÍPTERA, BELOSTOMATIDAE)

#### Resumo

Diferentes atividades humanas liberam uma grande quantidade de metais nos ecossistemas, tornando-se motivo de preocupação frente à conservação dos ambientais naturais. Estudos sobre interações comportamentais predador-presa fornecem uma ponte importante entre os estudos de comportamento e ecologia, porém, são ainda, poucos estudos. Assim, no presente estudo, os efeitos de três metais (cobre, cádmio e mercúrio) sobre a taxa de predação e seletividade alimentar das ninfas de *Anax sp.* (Odonata) e de *Belostoma sp.* (Hemíptera) foram avaliados em testes de toxicidade laboratorial. A seletividade alimentar foi avaliada oferecendo quatro diferentes presas para estes organismos, sendo *Ilyocryptus spinifer* (Crustacea), *Ceriodaphnia silvestrii* (Crustacea), *Dero digitata* (Oligochaeta) e *Chironomus inquinatus* (Diptera). De modo geral, a taxa de predação de *Anax sp.* diminuiu em comparação com os organismos dos controles após exposição aos três metais. Para *Belostoma sp.*, as taxas de predação também diminuíram, porém não foram observados efeitos significativos para todas as concentrações testadas (i.e., somente as duas maiores concentrações testadas de mercúrio). Provavelmente devido às diferenças nas características da história de vida, especialmente forrageio e capacidades de dispersão desses organismos foram também observadas sutis diferenças nas taxas de alimentação. Ambos preferiram os organismos menos ágeis de corpo mole (Oligochaeta e Chironomidae) em comparação aos crustáceos que habitam a coluna d'água. Nossos resultados demonstram que os metais podem reduzir as taxas de sucesso de predação e, portanto, à aquisição de alimentos, essencial à sobrevivência dos indivíduos.

**Palavras-chave:** taxas de alimentação, toxicidade de metais, alterações comportamentais, insetos aquáticos.

## Resumo

Different human activities release a large amount of metals in ecosystems, becoming a matter of concern regarding the conservation of natural environments. Studies on predator-prey behavioral interactions provide an important bridge between studies of behavior and ecology, however, there are still few studies. Thus, in the present study, the effects of three metals (copper, cadmium and mercury) on the rate of predation and food selectivity of nymphs from *Anax* sp. (Odonata) and *Belostoma* sp. (Hemiptera) were evaluated in laboratory toxicity tests. Food selectivity was evaluated by offering four different prey for these organisms, being *Ilyocryptus spinifer* (Crustacea), *Ceriodaphnia silvestrii* (Crustacea), *Dero digitata* (Oligochaeta) and *Chironomus inquinatus* (Diptera). In general, the predation rate of *Anax* sp. decreased compared to the control organisms after exposure to the three metals. For *Belostoma* sp., Predation rates also decreased, but no significant effects were observed for all tested concentrations (i.e., only the two highest tested mercury concentrations). Probably due to differences in life history characteristics, especially foraging and dispersal capacities of these organisms, subtle differences in feeding rates were also observed. Both preferred the less agile soft-bodied organisms (Oligochaeta and Chironomidae) compared to the crustaceans that inhabit the water column. Our results demonstrate that metals can reduce predation success rates and, therefore, the acquisition of food, essential to the survival of individuals.

**Keywords:** feeding rates, metal toxicity, behavioral changes, aquatic insects.

Introdução

## Introdução

A investigação da contaminação da água com metais tornou-se um foco de preocupação dos cientistas ambientais nos últimos anos (AHMET et al., 2006; MUHAMMAD et al., 2011). Uma vez que as atividades humanas como produção industrial, mineração e agricultura liberam uma grande quantidade de metais nos ecossistemas (MECHI; SANCHES, 2010; MOISEENKO; KUDRYAVTSEA, 2011). As principais fontes de poluição desses compostos são a queima de combustíveis fósseis, a fundição de metais como minérios, resíduos municipais, fertilizantes, agrotóxicos e esgotos industriais e domésticos (RAI, 2009; SARDAR et al., 2013). Além disso, os metais podem ser acumulados e biomagnificados ao longo da cadeia alimentar aquática, resultando em efeitos subletais ou morte nas populações (XU et al., 2004; YI et al. 2011), tornam-se assim, um risco ambiental significativo para invertebrados, peixes e também seres humanos (ARANTES et al., 2016).

Estudos sobre interações comportamentais predador-presa fornecem uma ponte importante entre os estudos de comportamento e ecologia (WERNER; GILLIAM, 1984). Apesar de muitos avanços nesta área do conhecimento, nossa compreensão das interações comportamentais entre predador-presa é limitada quando inseridos em ambientes contaminados. A captura de presas é parte de um comportamento predador de forrageamento e pode influenciar a distribuição da meta-comunidade, bem como o comportamento da presa (GRAINGER et al. 2017). Os predadores conduzem várias ações determinantes para garantir o sucesso da pré-captura, como encontrar, escolher, capturar, manipular e ingerir ou rejeitar presas (KIMBELL; MORRELL 2015). Poluentes como metais podem alterar essas ações, o que pode levar a taxas de sucesso reduzidas de predação e, portanto, aquisição de alimentos (WALKER, 2012).

De fato, a redução da ingestão de alimentos parece ser uma resposta geral à exposição a contaminantes (MCWILLIAM; BAIRD 2002). Estudos de Smith; Weis (1997) e Weis et al. (2003), por exemplo, mostraram que metais como cádmio, mercúrio e zinco podem interferir na capacidade e velocidade de seleção e captura de presas pelo peixe *Fundulus heteroclitus*, resultando em uma redução da quantidade de alimento ingerido. Weis et al. (2001) sugeriram que o sucesso na captura de presas pode ser usado como um biomarcador comportamental sensível para avaliar os efeitos subletais

de produtos químicos como metais em populações aquáticas e, indiretamente, em estruturas de comunidades aquáticas.

As espécies de libélula (Odonata, Insecta) foram recentemente sugeridas como espécies promissoras para testes de toxicidade (Valente-Neto et al. 2016, Miguel et al. 2017). Odonatos desempenham um papel importante na dinâmica do ecossistema aquático (COSTA et al. 2006) e são os principais predadores nas redes alimentares de água doce (OLIVEIRA et al. 2013). Sua dieta pode variar de invertebrados (principalmente outros insetos) a peixes e larvas de anfíbios de tamanho adequado para ingestão (CORBET 1999, FULAN; DOS ANJOS, 2015). Dado que são predadores e muitas vezes se esforçam em estreita relação com o sedimento, podem acumular mais metais do que outros táxons de invertebrados que habitam a coluna d'água (CORBI et al. 2008) e, portanto, podem ser bons indicadores de contaminação por metais (WAYLAND; CROSLY 2006).

Estudos ecotoxicológicos sobre espécies de hemípteros aquáticos, ainda não foram difundidos. De acordo com os nossos conhecimentos, este grupo de insetos só foram estudados dentro da Ecotoxicologia utilizando hemípteros terrestres que são associados a pragas de lavouras de arroz (KRINSKI; FOERSTER, 2016) e crisântemo (ROCHA et al., 2006), ou como potenciais organismos a serem utilizados no controle biológico de pragas em lavouras (CARVALHO, 2008). Com isso, o objetivo desse estudo foi avaliar os efeitos de três metais (cobre, cádmio e mercúrio) sobre a intensidade de predação e a seletividade alimentar das ninfas de *Anax sp.* (Odonata) e de *Belostoma sp.* (Hemíptera).

## **Materiais e métodos**

### **Organismos-teste e condições de cultura**

As ninfas predadoras de *Anax sp.* (Odonata) e de *Belostoma sp.* (Hemíptera) foram coletados na *Lagoa Mayaca*, situada em uma área preservada de Cerrado, localizada dentro do Campus da Universidade Federal de São Carlos, na cidade de São Carlos-SP, (coordenadas 21°58'02.1"S - 47° 53'01.7"W). A lagoa é um ecossistema aquático temporário, que devido ao ciclo hidrológico sazonal, e dependendo da precipitação anual, fica seca no outono-inverno e volta a ser preenchida no período de

chuvas que se inicia no final da primavera ou início do verão. A lagoa apresenta águas límpidas e profundidade reduzida, de no máximo 1,0 m.

Após as coletas as ninfas foram mantidas no laboratório em frascos de plástico individuais contendo água reconstituída (ABNT 2016), e alimentadas diariamente, com náuplios de *Artemia franciscana* (Crustacea, Anostraca). A alimentação foi interrompida 24 horas antes da realização dos testes ecotoxicológicos. Para ambas as espécies, a água reconstituída tinha as seguintes características: pH ( $7,40 \pm 0,60$ ), dureza ( $180 \pm 5,5$  mg CaCO<sub>3</sub>/L), temperatura ( $23 \pm 1,2$  °C) e condutividade elétrica ( $260 \pm 72$  µS cm).

Os cladóceros utilizados como presas, para a realização de testes foram *Ilyocryptus spinifer* (coletado na Lagoa Mayaca (Crustacea, Ilyocryptidae) e *Ceriodaphnia silvestrii* (Crustacea, Daphnidae) os quais foram mantidos em cultivos no laboratório, em béqueres de 1000 a 2000 mL. Para o cultivo de *I. spinifer*, foi também adicionado ao béquer o substrato de fundo do local onde estes cladóceros foram coletados na Lagoa Mayaca. A água utilizada no cultivo, adotada a partir de experimentos preliminares, foi a água reconstituída, a qual foi preparada segundo as normas da ABNT (2017). A água utilizada nos cultivos possuía as seguintes características: pH 7,6; condutividade elétrica 140 µS cm<sup>-1</sup> e dureza 46 mg L<sup>-1</sup> de CaCO<sub>3</sub>. O alimento fornecido foi uma suspensão da micro clorofícea *Raphidocelis subcapitata* cultivada em meio CHU 12, em fase exponencial, na concentração de 10<sup>5</sup> células mL<sup>-1</sup> e enriquecida com 1 mL<sup>-1</sup> de uma suspensão mista de levedura e ração de peixe fermentada em iguais proporções (1:1) (USEPA 1994; ABNT 2009). Os cultivos foram mantidos em câmara de germinação, marca Fanem, modelo 347 CDG (Brasil), sob condições constantes de temperatura a  $25^{\circ}\text{C} \pm 2,0$  °C e fotoperíodo de 12 h luz:12 h escuro.

A espécie de oligoqueto utilizada como presa foi *Dero digitata* (Oligochaeta: Naididae) cujos exemplares foram coletados em cultivos na Estação Experimental de Aquicultura do Departamento de Hidrobiologia da Universidade Federal de São Carlos, SP, mantidos em tanques de água doce localizados no campus da UFSCar ( $21^{\circ}58'54,7''$  S  $47^{\circ}52'39,3''$  W), sob elevadas temperaturas e abundante biomassa da alga clorofícea *Chlorella sorokiniana*. Os exemplares coletados foram mantidos para aclimação no laboratório durante pelo menos uma semana antes dos testes. As culturas foram mantidas sob fotoperíodo controlado (12h luz: 12h escuro) e temperatura constante de  $24$  °C  $\pm$   $2$  °C. Os oligoquetos foram cultivados em água reconstituída com

características conhecidas de oxigênio dissolvido, dureza (90,0-400,0 mg CaCO<sub>3</sub> L<sup>-1</sup>), condutividade (150,0-350,0 µScm<sup>-1</sup>) e pH (6,0-9,0). Os oligoquetos foram alimentados a cada sete dias com 20 mL de alimento de peixe Tetramim<sup>®</sup> preparando-se uma suspensão com 5 g diluídas em dois litros de água destilada.

As larvas de quironomídeos *Chironomus inquinatus* (Diptera, Chironomidae) utilizadas como presas foram cultivadas em bandejas de plástico contendo areia esterilizada no fundo e acima da bandeja foi colocado em toda a volta um suporte telado para evitar a fuga dos adultos. As condições da água e de alimentação foram iguais as utilizadas no cultivo e manutenção do oligoqueto *D. digitata*.

### **Taxa de predação e seletividade alimentar**

Para os testes de predação e de seletividade alimentar, 80 ninfas de *Anax sp.* (tamanho médio de 8,54 ± 2,88 mm de comprimento) e 80 indivíduos adultos de *Belostoma sp.* (tamanho médio de 9,56 ± 0,59 mm de comprimento) foram expostos por 24 horas as concentrações subletais correspondentes a CL<sub>1</sub>, C<sub>15</sub>, CL<sub>10</sub> e CL<sub>20</sub>(calculadas através do programa estatístico PriProbit) de sulfato de cobre (CuSO<sub>4</sub>), cloreto de cádmio (CdCl<sub>2</sub>) e cloreto de mercúrio (HgCl<sub>2</sub>) (Tabela 1), além do controle contendo somente água reconstituída em recipientes com 8 cm de altura e 11 cm de diâmetro para cada tratamento, os quais foram preenchidos com 200 mL de solução-teste. Foram adotadas quatro réplicas para cada tratamento. Nesta fase de exposição, nenhum alimento foi oferecido aos predadores, ninfas de *Anax sp.* e de *Belostoma sp.* Após as 24 horas de exposição, os indivíduos foram transferidos para recipientes iguais, contendo apenas 200 mL de água reconstituída, e as seguintes presas: *Ilyocryptus spinifer* (Crustacea, Ilyocryptidae), *Ceriodaphnia silvestrii* (Crustacea, Daphniidae), *Dero digitata* (Oligochaeta: Naididae) e *Chironomus inquinatus* (Diptera, Chironomidae). Cinco espécimes de cada presa para *Anax sp.* e cinco espécimes de cada presa para *Belostoma sp.*

Os predadores ficaram juntos com as presas durante 24 horas e os ensaios foram realizados sob condições controladas e constantes em câmara incubadora da marca CATEL, sob fotoperíodo de 12 h de luz e 12 h de escuro, temperatura da água de 25 ± 2 °C, dureza total da água variando entre 160 e 240 mg CaCO<sub>3</sub> L<sup>-1</sup>, condutividade elétrica variando entre 150 e 180 µS cm<sup>-1</sup> e pH entre 7,0 e 7,5. As concentrações utilizadas nos testes de predação estão apresentadas na Tabela 1 que foram baseadas nos valores das

CL<sub>1</sub>, CL<sub>5</sub>, CL<sub>10</sub> e CL<sub>20</sub> obtidos nos testes de toxicidade aguda de cada metal realizada para ambas as espécies.

**Tabela 1:** Concentrações das soluções-teste dos compostos sulfato de cobre, cloreto de cádmio e cloreto de mercúrio (mg/L), as quais as ninfas de *Anax sp.* (Odonata, Aeshnidae) e os adultos de *Belostoma sp.* (Hemiptera, Belostomatidae) foram expostos por 24 horas.

Composto	<i>Anax sp.</i>	<i>Belostomasp.</i>
CuSO <sub>4</sub>	0; 100; 170; 220; 300	0; 60; 105; 140; 190
CdCl <sub>2</sub>	0; 90; 170; 240; 360	0; 3; 6; 11; 22
HgCl <sub>2</sub>	0; 25; 60; 110; 220	0; 14; 44; 55; 170

## Análise dos dados

A existência ou não da predação e o grau de seletividade alimentar por parte das espécies predadoras selecionadas foram obtidos pela aplicação do Índice de Eletividade de Ivlev (IVLEV, 1961), o qual foi calculado pela seguinte equação:  $E = (ri - Pi) / (ri + Pi)$ , onde: E é o índice de eletividade, *ri* é a abundância relativa de cada item no conteúdo estomacal e *Pi* é a abundância relativa de cada item no meio, após o consumo. Os valores do índice variam de -1 a +1, sendo que os valores iguais a zero indicam seletividade nula, valores menores do que zero indicam rejeição pelo item alimentar e valores maiores do que 0 denota seleção positiva (HARRISSON; BRADLEY; HARRIS, 2005). Para análise dos dados bióticos, todos os valores de abundância das presas no teste foram logaritimizadas (log x+1). Uma matriz utilizando os resultados do teste de similaridade de Bray-Curtis foi construída e, a partir desta foi realizada uma análise de variância multivariada permutacional (PERMANOVA) para a comparação dos resultados obtidos nos experimentos.

## Resultados e Discussão

### Taxas de predação

O consumo de presas por *Anax sp.* mostrou que, nos experimentos com o sulfato de cobre, os organismos expostos a todas as concentrações testadas apresentaram diminuição na taxa de predação em relação aos organismos do controle ( $p < 0,05$ )

(Tabela 2) e que a taxa de predação variou entre 84,17% e 24,17 %. Para o cloreto de cádmio, o mesmo padrão de comportamento foi observado, as taxas de predação foram diminuídas em todas as concentrações de cloreto de cádmio que *Anax* sp. foram expostas ( $p < 0,05$ ) (Tabela 2), com variações das taxas de predação de 82,92% e 24,58%. Para as ninfas expostas ao cloreto de mercúrio houve diminuição na taxa de predação em relação ao controle apenas nas concentrações de 0,042 e 0,084 mg/L ( $p < 0,05$ ) e as taxas de predação variaram de 87,92% e 25,83% (Tabela 2). Comparando o consumo total das presas observamos que a taxa de predação de *I. spinifer* foi menor que as demais apresentando diferenças significativas para as presas *D. digitata* ( $p = 0,023$ ) e *C. inquinatus* ( $p = 0,001$ ).

As ninfas de *Anax* sp. não afetadas (controle) se alimentaram de grande parte das presas disponíveis após sua transferência das soluções-teste de exposição para o meio sem contaminação. Provavelmente isso aconteceu devido à restrição alimentar que as ninfas permaneceram durante o período de exposição de 24 horas aos metais. Alinhado a isso, Tomazelli Jr et al. (2011) observaram o mesmo comportamento para *Neuraeschna* sp. Ninfas (Odonata, Aeshnidae) quando oferecidas larvas de *Cyprinus carpio* (Cypriniformes, Cyprinidae) após um período de exposição de 27 horas sem comida.

**Tabela 2:** Taxa de predação e consumo de presas do odonata *Anax* sp. após exposição por 24 horas ao sulfato de cobre ( $\text{CuSO}_4$ ), cloreto de cádmio ( $\text{CdCl}_2$ ) e cloreto de mercúrio ( $\text{HgCl}_2$ ).

Metal	Concentração (mg/L)	Total de presas consumidas				Predação total	%	p
		<i>D. digitata</i>	<i>C. ignatius</i>	<i>I. spinifer</i>	<i>C. silvestre</i>			
$\text{CuSO}_4$	Control	60	60	39	60	219	91,25%	-----
	<b>0,02</b>	60	60	28	54	202	84,17%	<b>0,006</b>
	<b>0,09</b>	45	50	16	36	147	61,25%	<b>0,001</b>
	<b>0,18</b>	30	39	10	22	101	42,08%	<b>0,001</b>
	<b>0,37</b>	21	25	3	9	58	24,17%	<b>0,001</b>
$\text{CdCl}_2$	Control	55	57	35	55	202	84,17%	-----
	<b>0,02</b>	53	60	33	53	199	82,92%	<b>0,020</b>
	<b>0,08</b>	39	60	23	34	156	65,00%	<b>0,001</b>
	<b>0,17</b>	27	52	10	22	111	46,25%	<b>0,001</b>
	<b>0,34</b>	11	34	2	12	59	24,58%	<b>0,001</b>
$\text{HgCl}_2$	Control	60	60	47	59	226	94,17%	-----
	<b>0,004</b>	59	58	39	55	211	87,92%	0,475
	<b>0,021</b>	53	55	20	41	169	70,42%	0,171
	<b>0,042</b>	31	49	7	22	109	45,42%	<b>0,047</b>
	<b>0,084</b>	10	39	2	11	62	25,83%	<b>0,001</b>

Para o hemíptera *Belostoma* sp., a taxa de predação variou entre 84,58% e 32,08% quando essa espécie foi exposta ao sulfato de cobre. A partir da concentração de 0,1 mg/L, houve um aumento significativo no consumo das presas em relação ao

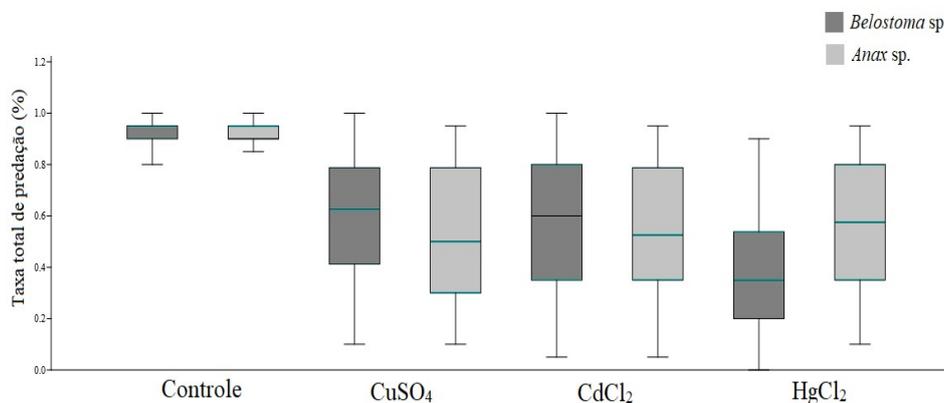
controle ( $p < 0,05$ ) (Tabela 3). Quando expostos ao cloreto de cádmio, o consumo de presas de *Belostoma* sp. ficou entre 89,58% e 35%, sendo que apenas a menor concentração (0,05 mg/L) não apresentou diferença estatística quando comparada ao controle. Nas demais concentrações testadas um aumento ( $p < 0,05$ ) no consumo das presas em relação ao controle foram observadas (Tabela 3). Para a exposição do hemíptero ao mercúrio, a taxa de predação variou entre 66,25% e 15,83%, sendo somente as duas maiores concentrações de 0,06 e 0,12 mg/L diferentes estatisticamente daquelas observadas no controle ( $p < 0,05$ ) (Tabela 3). Para o consumo total de presas de *Belostoma* sp. expostas aos diferentes metais testados houve diferença significativa em relação ao consumo de *I. spinifer* e *C. inquinatus* ( $p = 0,001$ ).

**Tabela 3:** Taxa de predação e consumo de presas do hemíptero *Belostoma* sp. após exposição por 24 horas ao sulfato de cobre ( $\text{CuSO}_4$ ), cloreto de cádmio ( $\text{CdCl}_2$ ) e cloreto de mercúrio ( $\text{HgCl}_2$ ).

Metal	Concentração (mg/L)	Total de presas consumidas				Predação total	%	p
		<i>D. digitata</i>	<i>C. ignatius</i>	<i>I. spinifer</i>	<i>C. silvestre</i>			
CuSO <sub>4</sub>	Controle	56	60	47	57	220	91,67%	-----
	0,02	57	55	39	52	203	84,58%	0,136
	0,1	45	51	34	41	171	71,25%	<b>0,001</b>
	0,21	46	45	14	17	122	50,83%	<b>0,003</b>
	0,42	22	39	8	8	77	32,08%	<b>0,001</b>
CdCl <sub>2</sub>	Controle	60	60	47	60	227	94,58%	-----
	0,05	59	55	42	59	215	89,58%	0,189
	0,2	41	52	24	34	151	62,92%	<b>0,001</b>
	0,52	32	43	13	27	115	47,92%	<b>0,001</b>
	1,05	27	30	7	20	84	35,00%	<b>0,001</b>
HgCl <sub>2</sub>	Controle	59	60	38	54	211	87,92%	-----
	0,006	41	53	22	43	159	66,25%	0,078
	0,03	24	37	16	19	96	40,00%	0,061
	0,06	14	35	14	12	75	28,85%	<b>0,035</b>
	0,12	6	19	7	6	38	15,83%	<b>0,002</b>

A taxa de predação por *Anax* sp. foi menor quando exposta ao sulfato de cobre e cloreto de cádmio em comparação com as respostas de *Belostoma* sp. For exemplo, para as maiores concentrações testadas de cada metal: 24,17% (0,34 mg/L de CuSO<sub>4</sub>) comparada a 32,08% (0,34 mg/L de CuSO<sub>4</sub>) realizada por *Belostoma* sp.; 24,58% (0,34 mg/L de CdCl<sub>2</sub>) comparada a 35 % ( 1,05 mg/L de CdCl<sub>2</sub>) para *Belostoma* sp. Para a exposição ao cloreto de mercúrio foi observado o contrário, 25,83% (0,084 mg/L de HgCl<sub>2</sub>) comparada a 15,83% (0,12 mg/L de HgCl<sub>2</sub>) das taxas de predação de *Belostoma* sp. As características intrínsecas de todos os habitat se relacionam aos aspectos biológicos e fisiológicos das espécies, principalmente no que diz respeito ao seu comportamento, que conseqüentemente poderá afetar a eficiência do consumo de presas, forrageio e a capacidade de dispersão (MARTENS; SUHLING, 2017). A

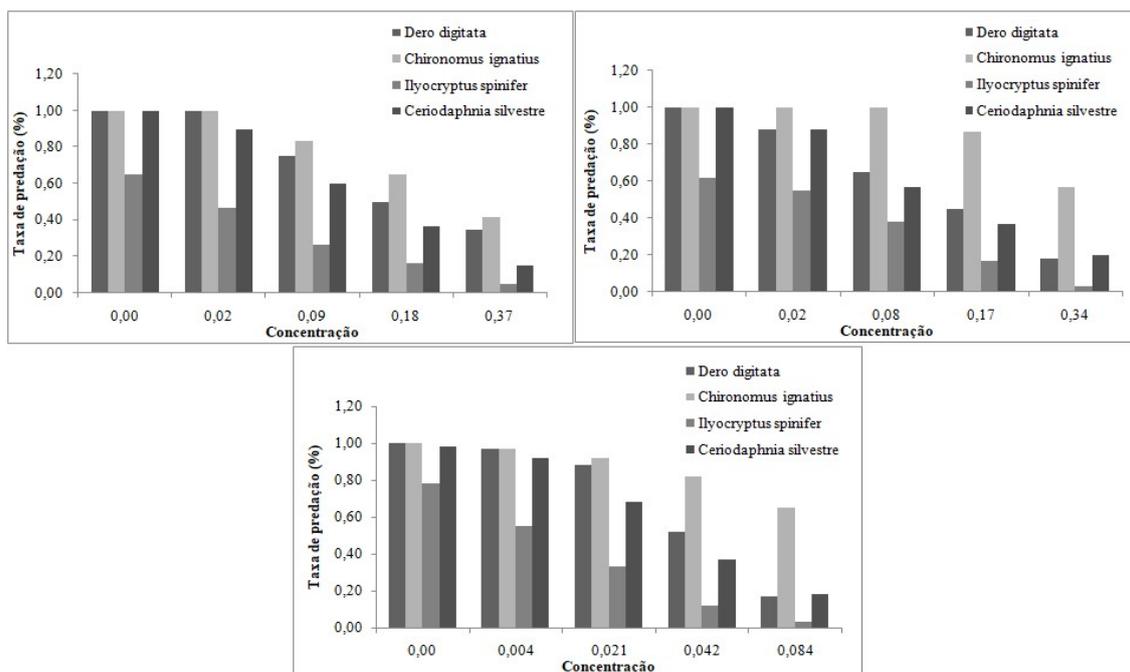
comparação entre as taxas médias de predação dos Odonata *Anax* sp. e dos Hemíptera *Belostoma* sp. encontra-se na Figura 1.



**Figura 1:** Comparação entre as taxas médias de predação da Odonata *Anax* sp. e do Hemíptera *Belostoma* sp. quando expostos ao sulfato de cobre, ao cloreto de cádmio e ao cloreto de mercúrio. O eixo y está representado em valores decimais da porcentagem máxima de consumo de presas (1= 100%).

#### Taxa de predação por item oferecido (Índice de Seletividade de Ivlev)

O consumo (expresso em porcentagem) de cada presa foi verificado para *Anax* sp. do controle, *C. inquinatus* e *D. furcatus* e foram as espécies mais consumidas em todos os metais testados (100 % para as duas presas). *Anax* sp. apresentaram um alto índice de preferência por essas presas, sendo *C. inquinatus* presa mais consumida em todas as concentrações testadas de todos os metais, seguida de *D. digitata*, *C. silvestrii* e por último *I. spinifer* sendo a menos consumida (Figura 2). O Índice de Eletividade de Ivlev (IEI) confirmou a preferência de *Anax* sp. pelas presas *C.inquinatus* e *D. furcatus*, sendo observados valores negativos (rejeição) para *C. inquinatus* somente na maior concentração de sulfato de cobre (-0,17) e para *D. furcatus* também para a maior concentração de CuSO<sub>4</sub> (-0,30), para as duas mais elevadas do cloreto de cádmio (- 0,10 e - 0,63) e para a última concentração avaliada do cloreto de mercúrio (- 0,67) (Tabela 4). Esses resultados são semelhantes ao encontrado por Alzmann et al. (1999), que ao avaliarem as taxas de alimentação da odonata *Gomphus pulchellus*, constataram sua preferência por oligoquetos e quironomídeos entre as presas disponíveis.



**Figura 2:** Consumo de presas (em %) pelo *Anax* sp., em relação ao número inicialmente oferecido de cada presa, nos tratamentos sem exposição (controle) e nos tratamentos com exposição ao sulfato de cobre (A), cloreto de cádmio (B) e cloreto de mercúrio (C) por 24 horas. O eixo y está representado em valores decimais da porcentagem máxima de consumo de presas (1 = 100%).

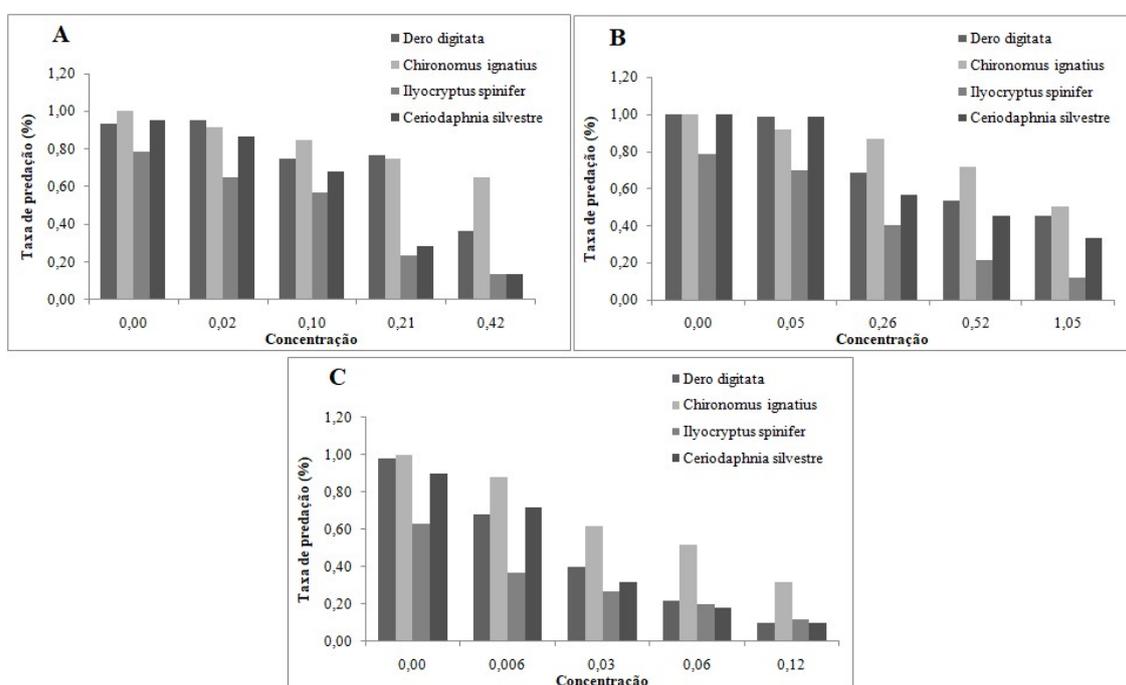
**Tabela 4:** Valores do índice de seletividade alimentar (Ivlev) do odonata *Anax* sp. após exposição por 24 horas ao sulfato de cobre ( $\text{CuSO}_4$ ), cloreto de cádmio ( $\text{CdCl}_2$ ) e cloreto de mercúrio ( $\text{HgCl}_2$ ).

Metal	Concentração	<i>D. digitata</i>	<i>C. ignatius</i>	<i>I. spinifer</i>	<i>C. silvestre</i>
<b>CuSO<sub>4</sub></b>	Controle	1,00	1,00	0,30	1,00
	0,02	1,00	1,00	-0,07	0,80
	0,09	0,50	0,67	-0,47	0,20
	0,18	0,00	0,30	-0,67	-0,27
	0,37	-0,30	-0,17	-0,90	-0,70
<b>CdCl<sub>2</sub></b>	Controle	1,00	1,00	0,23	1,00
	0,02	0,77	1,00	0,10	0,77
	0,08	0,30	1,00	-0,23	0,13
	0,17	-0,10	0,73	-0,67	-0,27
	0,34	-0,63	0,13	-0,93	-0,60
<b>HgCl<sub>2</sub></b>	Controle	1,00	1,00	0,57	0,97
	0,004	0,93	0,93	0,10	0,83
	0,021	0,77	0,83	-0,33	0,37
	0,042	0,03	0,63	-0,77	-0,27
	0,084	-0,67	0,30	-0,93	-0,63

De acordo com os nossos conhecimentos, poucos estudos foram realizados para avaliar os efeitos dos metais no comportamento alimentar das libélulas. No entanto, estudos anteriores demonstraram uma diminuição na taxa de alimentação de libélulas após a exposição a outros poluentes aquáticos. Por exemplo, uma diminuição na taxa de predação de *Pantala* sp. larvas de ninfas (Odonata, Libellulidae) em larvas de *Ictaluru punctatus* (Siluriformes, Ictaluridae) foram relatadas após exposição em tanques com tratamento químico para larvas de Odonata (MCGRINTY, 1980). Tomazelli-Jr et al. (2011) também relataram uma redução na predação de ninfas de libélula

(*Neuraeschnasp.*) sobre alevinos de *Cyprinus carpio* quando as ninfas foram expostas ao extrato de *Melia azedarach* (Meliaceae). Esses autores também observaram lentidão nos movimentos das ninfas de libélulas expostas ao extrato da planta, que concluiu ser a causa da redução da taxa de predação (TOMAZELLI-JR et al. 2011).

Para *Belostoma* sp. do tratamento controle, *C. inquinatus* e *D. furcatus* também foram as presas mais consumidas em todos os metais testados (100 % para *C. inquinatus* e 90, 95 e 100 % para *D. furcatus*). *Belostoma* sp. também apresentaram um alto índice de preferência por essas presas, sendo *C. inquinatus* presa mais consumida em todas as concentrações testadas de todos os metais, seguida de *D. digitata*, *C. silvestrii* e por último *I. spinifer* sendo a menos consumida (Figura 3). O Índice de Eletividade de Ivlev (IEI) confirmou a preferência de *Belostoma* sp. pelas presas *C. inquinatus* e *D. furcatus*, sendo observados valores negativos (rejeição) para *C. inquinatus* somente na maior concentração de cloreto de mercúrio (-0,37) e para *D. furcatus* a maior concentração de  $\text{CuSO}_4$  (-0,27), para a mais elevada do cloreto de cádmio (-0,10) e para astrês mais elevadas concentrações do cloreto de mercúrio (-0,20, -0,57 e -0,80) (Tabela 5). A preferência pelas presas oligoquetos e quironomídeos pode ter sido devido aos mesmos motivos discutidos acima para *Anax* sp.



**Figura 3:** Consumo de presas (em %) pelo *Belostoma* sp., em relação ao número inicialmente oferecido de cada presa, nos tratamentos sem exposição (controle) e nos tratamentos com exposição ao sulfato de cobre (A), cloreto de cádmio (B) e cloreto de mercúrio (C) por 24 horas. O eixo y está representado em valores decimais da porcentagem máxima de consumo de presas (1 = 100%).

**Tabela 5:** Valores do índice de seletividade alimentar (Ivlev) do hemíptero *Belostoma* sp. após exposição por 24 horas ao sulfato de cobre (CuSO<sub>4</sub>), cloreto de cádmio (CdCl<sub>2</sub>) e cloreto de mercúrio (HgCl<sub>2</sub>).

Metal	Concentração	<i>D. digitata</i>	<i>C. ignatius</i>	<i>I. spinifer</i>	<i>C. silvestre</i>
CuSO <sub>4</sub>	Controle	0,87	1,00	0,57	0,90
	0,02	0,90	0,83	0,30	0,73
	0,09	0,50	0,70	0,13	0,37
	0,18	0,53	0,50	-0,53	-0,43
	0,37	-0,27	0,30	-0,73	-0,73
CdCl <sub>2</sub>	Controle	1,00	1,00	0,57	1,00
	0,02	0,97	0,83	0,40	0,97
	0,08	0,37	0,73	-0,20	0,13
	0,17	0,07	0,43	-0,57	-0,10
	0,34	-0,10	0,00	-0,77	-0,33
HgCl <sub>2</sub>	Controle	0,97	1,00	0,27	0,80
	0,004	0,37	0,77	-0,27	0,43
	0,021	-0,20	0,23	-0,47	-0,37
	0,042	-0,57	0,03	-0,60	-0,63
	0,084	-0,80	-0,37	-0,77	-0,80

Os metais introduzidos em ambientes aquáticos podem ter um impacto importante nas espécies. Em adição a isso, a predação, competição e outros níveis de interações ecológicas interespecíficas podem aumentar o estresse dos organismos, resultando, portanto, no aumento da sensibilidade das espécies (MAGALHÃES; FILHO 2008).

## Conclusões

- Neste estudo, vimos que as concentrações dos diferentes metais testados tiveram impacto sobre o comportamento de predação e de seletividade alimentar das espécies *Anax* sp. e *Belostoma* sp.
- A taxa de predação de *Anax* sp. diminuiu com o aumento das concentrações subletais dos metais testados (sulfato de cobre, cloreto de cádmio e cloreto de mercúrio) em relação aos organismos expostos ao controle.
- *Anax* sp. rejeitou o *I. spinifer* quando expostos em qualquer concentração de sulfato de cobre. Apresentando valores negativos no índice de Ivlev. A preferência alimentar do odonata foi de *D. digitata* e *C. inquinatus*. Entretanto, na maior concentração de sulfato de cobre, todas as presas foram rejeitadas, influenciado diretamente na diminuição da taxa de predação em maiores concentrações do contaminante.

- Para a *Belostoma* sp. também houve diminuição das taxas de predação com o aumento das concentrações testadas em relação aos organismos controle nas exposições aos metais, sendo maiores quando expostos principalmente ao cloreto de mercúrio. Para todos os metais, as duas maiores concentrações testadas causaram mais acentuados.

- *Belostoma* sp. teve preferência pela presa *C. inquinatus*. em todas as concentrações testadas para os três metais, exceto quando expostos a 0,084 mg/L de cloreto de mercúrio. O hemíptera rejeitou a maioria das presas quando expostos as duas maiores concentrações de sulfato de cobre e cloreto de cádmio, sendo o mais rejeitado o cladócera *I. spinifer*, principalmente nos testes realizados com cloreto de mercúrio.

- *Anax* sp. teve menores taxas de predação em comparação com *Belostoma* sp., podendo este fato estar relacionado com, ao tipo de estratégia de busca por alimentos entre as espécies. Odonatos utilizam estratégia de senta e espera, se posicionando em um ponto de vantagem para capturar a presa. Já o hemíptero adota a estratégia de busca ativa, se movendo no habitat constantemente para se obter o alimento. Logo, em um ambiente sem diversificação de habitat, não há pontos de vantagem para predadores do tipo senta e espera, possibilitando maiores taxa de ingestão de alimentos por predadores busca ativa.

- Para um melhor entendimento de como os metais afetam as comunidades biológicas, é preciso avaliar também os seus efeitos subletais, que podem afetar não apenas os indivíduos e as populações, mas também as relações interespecíficas entre elas.

### Referências bibliográficas

ALZMANN, N., B. KOHLER, AND G. MAIER. 1999. Spatial distribution, food and activity of *Gomphus pulchellus* SELYS 1840 (Insecta; Odonata; Gomphidae) from a still water habitat. **International Review of Hydrobiology** v.84, p.299–313.

Associação Brasileira de Normas Técnicas – ABNT. 2017. NBR 13373: Ecotoxicologia aquática — Toxicidade crônica — Método de ensaio com *Ceriodaphnia* spp (Crustacea, Cladocera). **ABNT**, Rio de Janeiro 16-17.

AHMET, D.; FEVZI, Y.; TUNA, A.L.; NEDIM, O. 2006. Heavy metals in water, sediment and tissues of *Leuciscus cephalus* from a stream in southwestern Turkey, **Chemosphere**. v.63, p.1451–1458.

ARANTES, F.P.; SAVASSI, L.A.; SANTOS, H.B.; GOMES, M.V.T.; BAZZOLI, N. 2016. Bioaccumulation of mercury, cadmium, zinc, chromium, and lead in muscle, liver, and spleen tissues of a large commercially valuable catfish species from Brazil. **Anais da Academia Brasileira de Ciências**. v.88, n.1, p. 137-147.

CARVALHO, S.P.L. 2008. **Toxicidade de inseticidas neonicotinóides sobre o psilídeo *Diaphorina citri* Kuwayama (Hemiptera: Psyllidae e o parasitóide *Tamarixia radiata* (Waterson) (Hymenoptera: Eulophidae)**. Tese (Doutorado) apresentada a Escola superior de agricultura Luiz de Queiroz.

CORBI, J.J.; STRIXINO, S.T.; SANTOS, A.D. 2008. **Environmental evaluation of metals in sediments and dragonflies due to sugar cane cultivation in Neotropical streams.** *Water Air and Soil Pollution* **195**, p.325-333

CORBET, P.S. 1999. **Dragonflies: Behavior and Ecology**. New York Cornell: University Press.

COSTA, C.; IDE, S.; SIMONKA, C.E. 2006. **Insetos ninfas: metamorfose e identificação**. Ribeirão Preto: Holos.

FORROW, D.M.; MALTBY, L. 2000. Toward a mechanistic understanding of contaminant-induced changes in detritus processing in streams: Direct and indirect effects on detritivore feeding. **Environmental Toxicology and Chemistry**. v.19, n.8, p.2100-2106

FULAN, J.A.; DOS ANJOS, M.R.D. 2015. Predation by *Erythemis* nymphs (Odonata) on Chironomidae (Diptera) and Elmidae (Coleoptera) in different conditions of habitat complexity. **Acta Limnologica Brasiliensia**, v.27, n.4, p. 454-458

GRAINGER, P.; CHRISTIE, M.; THOMAS, G.; DOLE, S.; HECK, D.; MARSHMAN, M.; CAREY, M. 2017. Improving the quality of assessment by using a community of practice to explore the optimal construction of assessment rubrics. **Reflective Practice** v.18, n.3, p.410-422.

HATCH, A.C.; BURTON, G.A. 1999. Phototoxicity of fluoranthene to two freshwater crustaceans, *Hyalella azteca* and *Daphnia magna*: measures of feeding inhibition as a toxicological endpoint. **Hydrobiologia** v.400, p.243-248

IVLEV, V.S. 1961. **Experimental ecology of the feeding of fishes**. Yale University Press, New Haven, Connecticut

KIMBELL, H.S.; MORRELL, L.J. 2015. Turbidity influences individual and group level response to predation in guppies, *Poecilia reticulata*. **Animal Behaviour** v.103, p.179-185.

KRINSKI, D.; FOERSTER, LA. 2016. Toxicity of essential oils from leaves of Piperaceae species in rice stalk stink bug eggs, *Tibracalimbativentris* (Hemiptera: Pentatomidae). **Ciência e Agrotecnologia** v.40, n.6, p. 676-687.

McWILLIAM, R.A.; BAIRD, D.J. 2002. Application of post exposure feeding depression bioassays with *Daphnia magna* for assessment of toxic effluents in rivers. **Environmental Toxicology and Chemistry** v.21, n.7, p.1462-1468

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

MECHI, A.; SANCHES, D.L. 2010. Impactos ambientais da mineração no Estado de São Paulo. **Estudosavancados**, v.24 n.68

McGRINTY, A.S. 1980. Survival, growth and variation growth of Channel catfish fry and fingerlings. Alabama, 1980. (Thesis Doctoral) **Auburn University**.

MIGUEL, T.B.; OLIVEIRA-JUNIOR, J.M.B.; LIGEIRO, R.; JUEN, L.2017. Odonata (Insecta) as a tool for the biomonitoring of environmental quality. **Ecological Indicators** v.81, p. 555-566

MOISEENKO, T.I.; KUDRYAVTSEA, L.P. 2011. Trace metal accumulation and fish pathologies in áreas affected by mining and metal lurgical enterprises in the Kolaregion, Russia. **Environmental Pollution**,v.114, p.285-297.

Muhammad, S.;Shah, M. T.; Khan, S. 2011. Health risk assessment of heavy metals and their source apportionment in drinking water of Kohistanregion, northernPakistan. **Microchemical Journal**,v.98, n.2, p.334–343.

OLIVEIRA, E.; TAKEUCHI, S.S.; CERUTTI, V.E. 2013. Assembleia de Larvas de Odonata (Insecta) em ambientes límnicos do Parque Estadual de Vila Velha, Paraná, Brasil. **Estudos de Biologiav.**35, n.85, p.163-176.

RAI P.K. 2009. Heavy metal phytoremediation from aquatic ecosystemswiths pecial referenece to macrophytes. **Critical Reviews in Environmental Science and Technology**v. 39, n.9, p. 697–753.

ROCHA, L.C.; CARVALHO, G.A.; MOURA, A.P.; TORES, F.Z.V. 2006. Pesticide toxicity to adults of Oriusinsidiosus (Say) (Hemiptera: Anthocoridae). **Bragantia** v.65, n. 2

SARDAR, K.; ALI, S.; HAMEED, S.; AFZAL, S.; FATIMA, S.; SHAKOOR, M.B.; BHARWANA, A.S.; TAUQEER, H.M.2013.Heavy Metals Contamination and whatare the Impacts on Living Organisms. **Greener Journal of Environmental Management and Public Safety**v. 2, n.4, p. 172-179.

SMITH, G.M.; WEIS, J.S.1997. Predator-preyrelationships in mummichogs (Fundulusheteroclitus (L.): Effects of living in a polluted environment. **Journal of Experimental Marine BiologyandEcology** v.209, n.1-2, p.75-87.

SUHLING, F., MARTENS,A.; SUHLING, I. 2017. Long distance dispersal in Odonata: Examples from arid Namibia. **Austral Ecology**v. 42, p.544–552.

SURUCHI; KHANNA,P.2011. Assessment of heavy metal contamination in different vegetables grown in and around urban areas. **Research Journal of Environmental Toxicology**v.5, p.162–179.

TOMAZELLI-JR, O.; FRANCO, G.M.S.; CASACA, J.M.; MUNARINI, A.C.; DAL MAGRO, J. 2011. Effect of the *Melia azedarach* L. on the predation of common carp fingerlings (*Cyprinus carpio*) by larvae of *Neuraeschna* (Odonata: Aeshnidae). **Brazilian Journalof Aquatic Science and Technology**v.15, n.1, p.19-25.

United States Environmental Protection Agency USEPA. 1994. Methods for measuring the toxicity and bioaccumulation of sediment-associated contaminants with freshwater invertebrates. Report EPA 600/R-94/024. **United States Environmental Protection Agency**, Duluth, 133 pp.

VALENTE-NETO, F.; OLIVEIRA, R. F.; RODRIGUES, M.E.; JUAN L., SWAN, C.M.2016. Toward a practical use of Neotropical odonates as bioindicators: testing congruence across taxonomic resolution and life stages. **Ecological Indicators** v.61, p.952-959.

WERNER, E.E.; GILLIAM, J.F. 1984. The ontogenetic niche and species interactions in size-structured populations. **Annual Review of Ecology, Evolution, and Systematics**v.15, p. 393–425.

WALKER, C.H.; HOPKIN, S.P.; SIBLY, R.M.; PEAKALL, D.B.2012. **Principles of ecotoxicology**. Fourth Edition. London: Taylor and Francis, 360p.

WAYLAND, M.; CROSLY, R. 2006. Selenium and other trace elements in aquatic insects in coalmine-affected streams in the Rocky Mountains of Alberta, Canada. **Archives of Environmental Contamination and Toxicology** v.50, n.4, p. 511-522.

WEIS, J.S.; SAMSON, J.; ZHOU, T.; SKURNICK, J.; WEIS, P. 2001. Prey capture ability of mummichogs (*Fundulus heteroclitus*) as a behavioral biomarker for contaminants in estuarine systems. **Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences** v.58, n.7, p. 1442-1452.

WEIS, J.S.; SAMSON, J.; ZHOU, T.; SKURNICK, J.; WEIS, P. 2003. Evaluating prey capture by larval mummichogs (*Fundulus heteroclitus*) as a potential biomarker for contaminants. **Marine Environmental Research**v.55, n.1, p. 27-38.

XU, Y.J., LIU, X.Z., MA, A.J.2004. Current research on toxicity effect and molecular mechanism of heavy metal in fish. **Marine Science** v.28, n.10, p.67-70.

YI, Y., YANG, Z.; ZHANG, S. 2011. Ecological risk assessment of heavy metals in sediment and human health risk assessment of heavy metals in fishes in the middle and lower reaches of the Yangtze River basin. **Environmental Pollution**, v.159, n.10, p.2575–2585