

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

RAQUEL APARECIDA MOREIRA

**ESTUDOS BIOLÓGICOS E ECOTOXICOLÓGICOS DA ESPÉCIE
PHILODINA ROSEOLA EHRENBERG, 1830 (ROTIFERA,
BDELLOIDEA)**

**São Carlos - SP
2014**

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

RAQUEL APARECIDA MOREIRA

**ESTUDOS BIOLÓGICOS E ECOTOXICOLÓGICOS DA ESPÉCIE
PHILODINA ROSEOLA EHRENBERG, 1830 (ROTIFERA,
BDELLOIDEA)**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-graduação em Ecologia e Recursos Naturais como parte dos requisitos para obtenção do título de Mestre em Ecologia e Recursos Naturais.

Orientadora: Profa. Dra. Odete Rocha

São Carlos - SP
2014

**Ficha catalográfica elaborada pelo DePT da
Biblioteca Comunitária da UFSCar**

M838eb Moreira, Raquel Aparecida.
Estudos biológicos e ecotoxicológicos da espécie
Philodina roseola Ehrenberg, 1830 (Rotífera, Bdelloidea) /
Raquel Aparecida Moreira. -- São Carlos : UFSCar, 2014.
152 f.

Dissertação (Mestrado) -- Universidade Federal de São
Carlos, 2014.

1. Ecologia. 2. Ecotoxicologia. 3. Rotífero. 4. Ciclo de
vida. 5. Taxas de filtração. 6. Produção secundária. I. Título.

CDD: 574.5 (20^a)

Raquel Aparecida Moreira

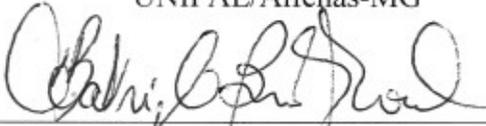
Dissertação apresentada à Universidade Federal de São Carlos, como parte dos requisitos para obtenção do título de Mestre em Ecologia e Recursos Naturais.

Aprovada em 07 de fevereiro de 2014

BANCA EXAMINADORA

Presidente 
Profa. Dra. Odete Rocha
(Orientadora)

1º Examinador 
Profa. Dra. Maria José dos Santos Wisniewski
UNIFAL/Alfenas-MG

2º Examinador 
Profa. Dra. Maria Beatriz Bohrer Morel
UNICAMP/Campinas-SP

Aos meus pais Maria e Francisco,
à minha irmã Geralda e meus irmãos Romildo,
Henrique e Ronilson pelo amor, confiança e
incentivo em todos os momentos da minha vida.

AGRADECIMENTOS

À minha querida orientadora, Professora Dra. Odete Rocha pelos ensinamentos, grande amizade, confiança e incentivo. Muito obrigada por tudo!

À Universidade Federal de Ouro Preto, pela minha formação acadêmica e pessoal. Em especial à Professora Dra. Eneida Maria Eskinazi Sant'Anna pela minha formação científica, iniciação à pesquisa e amizade.

À todas as pessoas, e não foram poucas, que auxiliaram em alguma etapa deste trabalho:

Aos meus pais Maria e Francisco, por todo amor, dedicação e confiança.

Minha irmã Geralda, meus irmãos Romildo, Henrique e Ronilson, por todo apoio, carinho e paciência em todos os momentos.

Ao Pedro pelo companheirismo, cumplicidade, paciência sem limite e compreensão nos momentos de ansiedade e impaciência e também as incontáveis ajuda na construção deste trabalho.

Aos docentes do Programa de Pós-Graduação em Ecologia e Recursos Naturais pela minha formação acadêmica em nível de mestrado, à Coordenação do Curso e à Secretaria do Programa por todo o apoio concedido.

Aos docentes que participaram da minha banca de qualificação e de defesa da dissertação, obrigada pela disponibilidade e contribuições para o trabalho.

Aos funcionários e amigos do Departamento de Ecologia e Biologia Evolutiva, em especial José Valdecir, Edna e Alcídio pela constante atenção e conversas sempre agradáveis.

Aos tantos amigos feitos nestes anos, essenciais por tornar nosso dia a dia no laboratório mais alegre: Adrislaine, Bruna, Dani, Denise, Emanuela, Fernanda, Germano, Laira, Lidiane, Maíra, Marcos, Mariângela, Mayara, Natália, Neto, Raphael, Renata e Thiago.

Às amigas do Laboratório de Ecotoxicologia Aquática, com quem tive a sorte de poder trabalhar em conjunto no desenvolvimento deste trabalho: Laira, Maíra, Denise e especialmente a Adrislaine por estar sempre presente, principalmente nos momentos mais difíceis.

Às queridas amigas Lidiane e Renata, inicialmente pelo carinhoso acolhimento e pela preciosa amizade! Também Natália, Fernanda, Tatiane e Patrícia, por tantos momentos compartilhados e grande companheirismo.

A todos que direta ou indiretamente me ajudaram a concluir esta etapa da minha vida acadêmica, pessoas especiais que fizeram, e ainda fazem parte, da minha trajetória, o meu eterno agradecimento.

À Capes, pela bolsa de estudos concedida.

E, sobretudo, agradeço a Deus por estar sempre presente em minha vida e tornar tudo possível.

“Sonho que se sonha só
É só um sonho que se sonha só
Mas sonho que se sonha junto é realidade” (Raul Seixas)

LISTA DE FIGURAS

INTRODUÇÃO GERAL

- Figura 1.** Estrutura do carbofurano.....8
- Figura 2.** Vista geral da espécie *Philodina roseola* Ehrenberg, 1830 (Rotifera, Bdelloidea), espécie utilizada como organismo-teste no presente estudo.....11

CAPÍTULO 1

O ciclo de vida de *Philodina roseola* Ehrenberg, 1830 (Rotifera, Bdelloidea)

- Figura 1.** Curva de crescimento individual para *Philodina roseola* cultivada a $25 \pm 1^\circ\text{C}$, e alimentadas com a microalga clorofícea *Raphidocelis subcapitata* na concentração de 1×10^5 células mL^{-1} . Os pontos se referem aos valores obtidos para nove indivíduos isolados.....28
- Figura 2.** Fecundidade média de *Philodina roseola* durante o seu ciclo de vida, quando cultivada a $25 \pm 1,0^\circ\text{C}$. Os pontos representam os valores médios obtidos para nove indivíduos isolados.....29

CAPÍTULO 2

A produção secundária de *Philodina roseola* (Rotifera, Bdelloidea) cultivada em laboratório

- Figura 1.** Representação esquemática da forma do corpo de *Philodina roseola* e dimensões lineares medidas para o cálculo do biovolume de um indivíduo.....42

CAPÍTULO 3

Taxas de filtração e ingestão da microalga clorofícea *Raphidocelis subcapitata* pelo rotífero *Philodina roseola*

- Figura 1.** Taxas de filtração de *Philodina roseola* alimentados com suspensão da microclorofícea *Raphidocelis subcapitata* ($\text{mL ind}^{-1}\text{dia}^{-1}$).....60
- Figura 2.** Valores médios e desvios-padrão das taxas de ingestão de *Philodina roseola* ($\text{mL ind}^{-1}\text{hora}^{-1}$) alimentados com suspensões da microclorofícea *Raphidocelis subcapitata* em concentrações crescentes. Três repetições foram estabelecidas para cada tratamento e para o controle.....61

CAPÍTULO 4

Uma revisão sobre o uso recente de rotíferos como organismo-teste na avaliação da toxicidade de pesticidas em água doce

Figura 1. Clasificação dos trabalhos reportados na literatura nas últimas três décadas, utilizando rotíferos como organismos teste na avaliação da toxicidade de pesticidas.....79

CAPÍTULO 5

A toxicidade do pesticida carbofurano à biota de água doce: Rotíferos como organismos-teste

Figura 1. Faixa de sensibilidade de *Philodina roseola* ao cromo contido no dicromato de potássio, baseados em 20 testes de toxicidade aguda.....96

Figura 2. Porcentagem de fêmeas de *P. roseola* sobreviventes aos 4 dias de exposição ao Furadan® 350 SC, segundo Teste de Fisher (valor crítico de Fisher (10.10.10) (P = 0,05) ≤ 6 , b = 10), sendo em cinza os valores correspondentes ao teste 1 e em achuriado ao teste 2.....97

Figura 3. Fecundidade (número de ovos) (média ± DP) de *P. roseola* após 4 dias de exposição ao Furadan® 350 SC. * Indica diferença significativa em relação ao controle, pelo Teste de Tukey (P ≤ 0,05), sendo em cinza os valores correspondentes ao teste 1 e em achuriado ao teste 2.....98

Figura 4. Distribuições de sensibilidade de espécies (SSD) pertencentes a diferentes grupos taxonômicos de acordo com os valores de CL₅₀ ou CE₅₀ (mg L⁻¹) para o pesticida carbofurano.....101

LISTA DE TABELAS

CAPÍTULO 1

O ciclo de vida de *Philodina roseola* Ehrenberg, 1830 (Rotifera, Bdelloidea)

Tabela 1. Parâmetros do ciclo de vida (valores médios \pm desvio-padrão) do rotífero *Philodina roseola* cultivado em laboratório, nas condições controladas de $25 \pm 1^\circ\text{C}$, e alimentado com suspensão de *Raphidocelis subcapitata* a 10^5 células mL^{-1} 29

Tabela 2. Comparação entre a duração da longevidade (dias), fecundidade (número de ovos), idade da primípara (dias) e temperatura de cultivo de *Philodina roseola* obtidos no presente estudo com parâmetros disponíveis na literatura para outras espécies de Rotifera.....31

CAPÍTULO 2

A produção secundária de *Philodina roseola* (Rotifera, Bdelloidea) cultivada em laboratório

Tabela 1. Valores das dimensões lineares, biovolume (μm^3), biomassa em peso úmido (PU $\mu\text{g}\cdot\text{ind}^{-1}$) e em peso seco (PS $\mu\text{g}\cdot\text{ind}^{-1}$) para neonatos, juvenis e adultos de cada indivíduo de *Philodina roseola* cultivado ($n=9$), além dos valores médios e respectivos desvios-padrão para cada variável analisada.....44

Tabela 2. Valores das dimensões lineares dos ovos (comprimento e largura) utilizados para o cálculo do biovolume, biomassa em peso úmido, e biomassa em peso seco, número de ovos produzidos ao longo do ciclo de vida, tempo de desenvolvimento embrionário e produção reprodutiva de cada indivíduo de *Philodina roseola* cultivado ($n=9$), além dos valores médios e respectivos desvios-padrão para cada variável analisada.....45

Tabela 3. Valores de biomassa do peso seco (PS) para as fases de desenvolvimento neonato, juvenil e adulto. As diferenças em produção corporal entre cada fase também estão representados, assim como os valores de produção total (produção corporal da espécie + produção reprodutiva) de *P.roseola*.....46

CAPÍTULO 3

Taxas de filtração e ingestão da microalga clorofícea *Raphidocelis subcapitata* pelo rotífero *Philodina roseola*

Tabela 1. Caracterização física e química inicial da água reconstituída utilizada para a preparação das suspensões algais no experimento para medida das taxas de filtração e ingestão do Rotífera <i>Philodina roseola</i>	59
Tabela 2. Valores médios e desvios-padrão das taxas de ingestão de <i>Philodina roseola</i> alimentada com diferentes concentrações de <i>Raphidocelis subcapitata</i> , à temperatura de 25 ± 1 ° C.....	61
Tabela 3. Dados comparativos dos valores médios das taxas de filtração de <i>Philodina roseola</i> obtidos no presente estudo com os valores disponíveis na literatura para organismos zooplancctônicos pertencentes a espécies dos grupos Rotífera, Cladocera e Copepoda, alimentados com diferentes suspensões algais.....	65

CAPÍTULO 5

A toxicidade do pesticida carbofurano à biota de água doce: Rotíferos como organismos-teste

Tabela 1. Os valores estimados de CE ₅₀ 48-h e respectivos intervalos de confiança (95%) de <i>Philodina roseola</i> para o ingrediente ativo carbofurano e o seu produto formulado Furadan [®] 350 SC.....	96
Tabela 2. Valores de toxicidade aguda (CL ₅₀ ou CE ₅₀) obtidos a partir da literatura para diferentes espécies expostas ao dicromato de potássio.....	99

Sumário

Introdução geral.....	1
1. A Ecotoxicologia como Ferramenta de Controle de Poluição.....	1
2. Testes de toxicidade.....	2
3. Substâncias ou agentes tóxicos.....	4
3.1 Substâncias de referência.....	4
3.2 Substâncias orgânicas.....	6
4. Organismo-teste.....	8
4.1 Biologia dos rotíferos.....	8
4.2 Características morfológicas da família Bdelloidea e da espécie <i>Philodina roseola</i> ..	10
5. Objetivos.....	12
6. Justificativa e hipótese.....	13
7. Referências.....	14
Capítulo 1: O ciclo de vida de <i>Philodina roseola</i> Ehrenberg, 1830 (Rotifera, Bdelloidea)....	23
Resumo.....	23
1. Introdução.....	24
2. Materiais e Métodos.....	25
2.1. <i>Manutenção da cultura - estoque de Philodina roseola</i>	25
2.2. <i>Desenvolvimento embrionário</i>	26
2.3. <i>Desenvolvimento pós-embrionário</i>	27
3. Resultados.....	27
4. Discussão.....	30
Referências.....	33
Capítulo 2: A produção secundária de <i>Philodina roseola</i> (Rotifera, Bdelloidea) cultivada em laboratório.....	38
Resumo.....	38

1. Introdução	39
2. Materiais e métodos	40
2.1. <i>Manutenção da cultura estoque de Philodina roseola</i>	40
2.2. <i>Medidas de tamanho e cálculos da biomassa de Philodina roseola</i>	41
2.3. <i>Cálculos da produção secundária de Philodina roseola</i>	42
3. Resultados	43
4. Discussão	46
5. Referências.....	48
Capítulo 3: Taxas de filtração e ingestão da microalga clorofícea <i>Raphidocelis subcapitata</i> pelo rotífero <i>Philodina roseola</i>	53
Resumo	53
1. Introdução	54
2. Materiais e métodos	55
2.1. <i>Manutenção de cultivo-estoque do Rotifera Philodina roseola</i>	55
2.2. <i>Delineamento experimental</i>	56
2.3. <i>Taxas de filtração do rotífero Philodina reseola</i>	58
3. Resultados	59
4. Discussão	62
5. Referências.....	67
Capítulo 4: Uma revisão sobre o uso recente de rotíferos como organismo-teste na avaliação da toxicidade de pesticidas em água doce	73
Resumo	73
1. Introdução	74
2. Pesticidas e sua relação com os ambientes aquáticos	75
3. A utilização de rotíferos como organismos-teste para a avaliação de toxicidade de pesticidas em ecossistemas aquáticos de água doce.	77
4. Referências.....	81

Capítulo 5: A toxicidade do pesticida carbofurano à biota de água doce: Rotíferos como organismos-teste	88
Resumo	88
1. Introdução	88
2. Materiais e métodos	90
2.1. <i>Manutenção e cultivo da espécie de Rotifera</i>	90
2.2. <i>Produtos químicos e soluções-teste</i>	91
2.3. <i>Testes de toxicidade aguda</i>	92
2.4. <i>Testes de toxicidade crônica</i>	93
2.5. <i>Tratamento de Dados e Análise Estatística</i>	94
3. Resultados	95
3.1. <i>Variáveis abióticas: validade dos testes</i>	95
3.2. <i>Toxicidade aguda</i>	95
3.3. <i>Toxicidade crônica</i>	97
4. Discussão	98
5. Referências.....	103
Considerações finais	114
Apêndice A Fotos dos experimentos.....	116
Apêndice B Ficha de informações (bula) dos produtos químicos utilizados nos testes ecotoxicológicos.....	119
Apêndice C Testes ecotoxicológicos.....	139

RESUMO

No Brasil e em outros países o agrotóxico carbofurano é amplamente utilizado, podendo atingir as águas doces e ocasionar danos a organismos não-alvo. Os rotíferos dominam o zooplâncton da maioria dos ambientes aquáticos em todo o mundo, tanto em número de espécies como em densidade. No presente trabalho, estudos biológicos e ecotoxicológicos em laboratório com a espécie *Philodina roseola* Ehrenberg, 1830 (Rotifera, Bdelloidea) foram realizados, em relação aos principais aspectos de sua biologia: ciclo de vida, taxas de filtração, ingestão e produção secundária a $25 \pm 1,0$ °C, além de testar sua sensibilidade e desempenho como organismo-teste para estudos ecotoxicológicos. Realizou-se uma revisão de literatura sobre a utilização de rotíferos como organismos-teste na avaliação da toxicidade de pesticidas em águas doces, para as últimas três décadas. Experimentos foram realizados para determinar as taxas de filtração e de ingestão de *P. roseola*, alimentadas com *Raphidocelis subcapitata* em 7 concentrações diferentes. A biomassa ($\mu\text{g PS. ind}^{-1}$) e a produção secundária individual foram determinadas. Os principais parâmetros do ciclo de vida de *P. roseola* foram: desenvolvimento embrionário de $23,88 \pm 3,82$ horas; idade da primípara de 3,5 dias; fecundidade total média de $22,33 \pm 2,29$ ovos/fêmea e longevidade máxima de 23 dias. As taxas de filtração variaram entre 2,715 e 6,615 mL $\text{ind}^{-1}\text{d}^{-1}$. A produção secundária total foi de $0,285692 \pm 0,055185$ $\mu\text{g ind}^{-1}\text{d}^{-1}$ sendo $84,68 \pm 3,65$ % desta alocada em reprodução. *P. roseola* é uma espécie adequada como organismo-teste em estudos ecotoxicológicos considerando-se o conjunto de características de seu ciclo de vida e as respostas ao pesticida carbofurano com valores de CE_{50} 48-h de $13,36 \pm 2,63$ mg L^{-1} e $89,32 \pm 6,52$ mg L^{-1} para o ingrediente ativo e o produto formulado respectivamente. Concluiu-se que *P. roseola* tem rápido tempo de desenvolvimento, elevado metabolismo em relação às taxas de ingestão e filtração, elevada fecundidade e moderada sensibilidade ao pesticida testado. Estudos sobre suas respostas funcionais a outras combinações de fatores e sua sensibilidade a outros compostos tóxicos deverão ser realizados.

Palavras-chave: rotífero, ciclo de vida, taxas de filtração, produção secundária, ecotoxicologia.

ABSTRACT

In Brazil and other countries the agrochemical carbofurano is largely used, and can reach freshwaters and cause damages to non-target organisms. Rotifera dominates zooplankton communities of most freshwater ecosystems worldwide, both in number of species and density. In the present work biological and ecotoxicological studies in laboratory were carried out with the species *Philodina roseola* Ehrenberg, 1830 (Rotifera, Bdelloidea) regarding the main aspects of its biology: life cycle, filtration rates, ingestion and secondary production at 25 ± 1.0 °C, besides testing its sensitivity and performance as a test-organism for ecotoxicological studies. Also, a literature review regarding the use of rotifers as test-organisms in the evaluation of pesticides toxicity in freshwaters was carried out for the last three decades. Experiments were performed aiming to assess filtration and ingestion rates of *P. roseola* feeding on the microalgae *Raphidocelis subcapitata* at 7 different concentrations. The individual biomass ($\mu\text{g DW ind}^{-1}$) and secondary production were determined. The main parameters obtained for *P. roseola* life cycle were: 23.88 ± 3.82 hours duration of embryonic development; 3.5 days generation time; 22.33 ± 2.29 eggs/female total mean fecundity and 23.0 days maximum longevity. Filtration rates varied between 2.715 and 6.615 ml $\text{ind}^{-1}\text{d}^{-1}$. Total mean individual secondary production was 0.285692 ± 0.055185 $\mu\text{g ind}^{-1}\text{d}^{-1}$ from which 73.42 ± 5.62 % was allocated into reproduction. *P. roseola* was an adequate test-organism for ecotoxicological studies considering the life cycle characteristics and response to the pesticide carbofurano with CE_{50} 48-h values of 13.36 ± 2.63 mg L^{-1} and 89.32 ± 6.52 mg L^{-1} for the active ingredient and the commercial product, respectively. It was concluded that *P. roseola* has a fast development time, high metabolism as related to ingestion and filtration rates, high fecundity and moderate sensitivity to the tested pesticide. Studies on its functional response to other factors combinations and sensitivity to other toxicants should be performed.

Keywords: rotifer, life cycle, filtration rates, secondary production, ecotoxicology.

Estruturação da dissertação

Esta dissertação é apresentada na forma de capítulos, os quais foram redigidos contemplando os itens Resumo, Introdução, Metodologia, Resultados, Discussão e Referências Bibliográficas de acordo com as normas de formatação da revista Brazilian Journal of Biology, além da inserção de apêndices e/ou anexos, quando necessários para uma melhor compreensão dos resultados obtidos e da discussão realizada.

Assim, além de uma introdução geral no qual se contextualizou a pesquisa, discorrendo sobre a Ecotoxicologia, os agrotóxicos (definição, processos, interações, usos e efeitos tóxicos) e biologia dos Rotifera, foram elaborados mais cinco capítulos, os quais estão ordenados em função do período de desenvolvimento das diferentes etapas da pesquisa, conforme descrito abaixo:

Capítulo 1 - O ciclo de vida de *Philodina roseola* Ehrenberg, 1830 (Rotifera, Bdelloidea)

Neste capítulo procurou-se obter informações sobre o ciclo de vida de *Philodina roseola* Ehrenberg, 1830 (Rotifera, Bdelloidea), por meio de cultivo em laboratório. Para isso foi feito o acompanhamento do desenvolvimento embrionário (desenvolvimento do ovo) e do desenvolvimento pós-embrionário sendo feito o acompanhamento do crescimento do corpo, idade e tamanho da primípara, fecundidade e longevidade.

Capítulo 2 - A produção secundária de *Philodina roseola* (Rotifera, Bdelloidea) cultivada em laboratório

Neste capítulo foi quantificada a produção secundária da espécie *Philodina roseola* cultivada em laboratório. As variações no tamanho do corpo dos indivíduos e o número total de ovos produzidos foram individualmente determinados para nove indivíduos. As medidas das dimensões lineares (comprimento total, largura e diâmetro) de partes do corpo foram realizadas após o nascimento dos indivíduos e acompanhadas ao longo do ciclo de vida dos mesmos. A biomassa ($\mu\text{g PS. ind}^{-1}$) foi estimada por meio do cálculo do biovolume corporal o qual foi determinado por meio de equações adequadas para as formas geométricas mais próximas ao formato das diferentes partes do corpo da espécie. A produção individual em crescimento corporal foi determinada, assim como a produção reprodutiva.

Capítulo 3 - Taxas de filtração e ingestão da microalga clorofícea *Raphidocelis subcapitata* pelo rotífero *Philodina roseola*

Neste capítulo foram determinadas em laboratório as taxas de filtração e ingestão da microalga clorofícea *Raphidocelis subcapitata* pelo rotífero *Philodina roseola* Ehrenberg, 1830 (Bdelloidea). Para isso foram oferecidas como alimento a este rotífero suspensões em 7 diferentes concentrações, sob condições controladas de temperatura (25 ± 1 °C). O experimento consistiu na exposição de 10 adultos de *P. roseola* por tratamento nas seguintes concentrações nominais de *R. subcapitata*: 1×10^4 ; $0,5 \times 10^5$; 1×10^5 ; $0,5 \times 10^6$; 1×10^6 ; $0,5 \times 10^7$ e 1×10^7 células mL⁻¹.

Capítulo 4 - Uma revisão sobre o uso recente de rotíferos como organismo-teste na avaliação da toxicidade de pesticidas em água doce

Neste capítulo foi feita uma revisão com o intuito de reunir e sintetizar o conhecimento existente sobre a utilização de rotíferos como organismos-teste para a avaliação da toxicidade de pesticidas em ecossistemas de água doce, nas últimas décadas (1981 a 2013). Esta avaliação não teve a pretensão de encontrar razões para exaltar o uso de rotíferos em estudos ecotoxicológicos, mas justificar o aumento constante de pesquisas ecotoxicológicas utilizando rotíferos e demonstrar que estudos ecotoxicológicos com esse organismo merecem ainda maiores considerações.

Capítulo 5 – A toxicidade do pesticida carbofurano à biota de água doce: Rotíferos como organismos-teste

Neste capítulo foram avaliados os efeitos da exposição de *Philodina roseola*, ao agrotóxico carbofurano. Para isso foi estabelecida a faixa de sensibilidade desta espécie ao dicromato de potássio, foram determinadas as CE₅₀ 48-h do produto comercial Furadan[®] 350 SC e de seu ingrediente ativo, o carbofurano. Os efeitos sobre a sobrevivência e a fecundidade dos organismos-teste foram avaliados por meio de testes de toxicidade crônica com o pesticida Furadan[®] 350 SC.

Introdução geral

1. A Ecotoxicologia como Ferramenta de Controle de Poluição

A Toxicologia Ambiental se preocupa com o destino dos agentes tóxicos, seus metabólitos e seus produtos de degradação tanto no ambiente quanto nas cadeias alimentares e com o efeito desses contaminantes sobre os organismos e as populações (Rand et al., 1995). Embora na definição de Toxicologia Ambiental estejam incluídas substâncias químicas tóxicas naturalmente encontradas no ambiente, como venenos animais e toxinas microbianas e vegetais, a Toxicologia Ambiental é tipicamente associada com o estudo de agentes químicos de origem antropogênica (Hodgson, 2004; Yu, 2005).

A Ecotoxicologia é uma área especializada da Toxicologia Ambiental que direciona seus estudos aos efeitos ocasionados por agentes químicos e físicos sobre a dinâmica de populações e de comunidades integrantes dos ecossistemas (Ronco et al., 2004). Fundamentalmente, a Ecotoxicologia determina os níveis de contaminantes no ambiente e seus destinos, estima o grau de periculosidade dos poluentes e seus metabólitos para os organismos vivos, indica os níveis máximos toleráveis dos contaminantes, analisa e prediz o efeito dos agentes tóxicos no ambiente e o efeito das medidas tomadas, controla a emissão de efluentes e avalia os riscos ecológicos (De Kruijf, 1988).

Os efeitos tóxicos podem se manifestar em diferentes níveis de organização, desde estruturas celulares até indivíduos, populações e comunidades (Adams e Rowland, 2003). Os testes de toxicidade aquática são bastante utilizados para detectar os efeitos tóxicos causados pelos diferentes contaminantes lançados nos corpos d'água (Gherardi - Goldstein et al., 1990; Kendall et al., 2001).

As análises de toxicidade vêm sendo exigidas por leis ambientais no Brasil. No capítulo IV da Resolução nº 357 do Conselho Nacional do Meio Ambiente (CONAMA, 2005), referente às condições e aos padrões de lançamento de efluentes, é estabelecido nos § 1 e 2 do artigo 34 que o efluente não deverá causar ou possuir potencial para causar efeitos tóxicos aos organismos aquáticos no corpo d'água receptor e que os critérios de toxicidade devem se basear em resultados de ensaios ecotoxicológicos padronizados utilizando organismos aquáticos.

Diversos órgãos de proteção ambiental, como o Environment Canada e a Environmental Protection Agency dos Estados Unidos (U.S.EPA), e de padronização, como a

American Society for Testing and Materials (ASTM), a Organization for Economic Cooperation and Development (OECD), a Association of Analytical Communities (AOAC) e a International Organization for Standardization (ISO) têm se concentrado na elaboração e implementação de sistemas de diagnóstico e aperfeiçoamento de protocolos os quais constituem a base para a geração de estratégias que visam proteger os ecossistemas (Ronco et al., 2004). No Brasil, o órgão responsável pelo desenvolvimento de protocolos de testes de toxicidade é a Associação Brasileira de Normas Técnicas (ABNT). A Companhia de Tecnologia de Saneamento Ambiental do Estado de São Paulo (CETESB) também tem padronizado testes de toxicidade.

É recomendável que o efeito tóxico de uma amostra seja avaliado para mais de uma espécie ecologicamente relevante da biota aquática, de preferência pertencentes a diferentes níveis tróficos da cadeia alimentar (Ribo, 1997). Além de organismos pertencentes aos níveis tróficos de produtores, de herbívoros e diferentes níveis de carnívoros, os testes de toxicidade com organismos decompositores, como fungos e bactérias, também podem ser utilizados (Newman e Clements, 2008). A utilização de vários testes com pelo menos quatro organismos-teste de diferentes níveis tróficos pode ser apropriada para avaliar a ecotoxicidade de uma substância ou efluente (Castillo et al., 2000). Isso é recomendado devido às diferenças de sensibilidade apresentadas por organismos de diferentes espécies quando expostos às substâncias químicas. Além disso, não é possível extrapolar o efeito tóxico de uma substância sobre organismos de determinada espécie para organismos de outras espécies (Buratini, 2002). Por isso, sempre que possível, é recomendável avaliar o efeito de uma substância ou efluente para mais de uma espécie da biota aquática para que, por meio do resultado obtido com o organismo mais sensível, seja possível estimar com mais segurança o impacto do contaminante no ambiente aquático afetado (Gherardi-Goldstein et al., 1990).

2. Testes de toxicidade

Os testes de toxicidade são bioensaios laboratoriais, realizados sob condições controladas, utilizados para estimar a toxicidade de substâncias, de efluentes industriais e de amostras ambientais (águas ou sedimentos). Nestes ensaios, os organismos-teste são expostos a diferentes concentrações de compostos tóxicos ou amostras ambientais contaminadas por um período de tempo determinado e os efeitos tóxicos produzidos sobre eles são observados e quantificados (Knie e Lopes, 2004).

Os testes de toxicidade podem ser classificados em agudos e crônicos. Esses testes diferem na duração e nas respostas finais que são medidas. Os testes de toxicidade aguda são utilizados para medir os efeitos de agentes tóxicos sobre espécies aquáticas durante um curto período de tempo em relação ao período de vida do organismo-teste. Eles têm como objetivo estimar a dose ou concentração de um agente tóxico que seria capaz de produzir uma resposta específica mensurável em um organismo-teste ou população, em um período de tempo relativamente curto, geralmente de 24 a 96 h (Chasin e Azevedo, 2004).

Os efeitos tóxicos medidos em testes de toxicidade aguda incluem qualquer resposta exibida por um organismo-teste ou população resultante de um estímulo químico (Rand et al., 1995). Normalmente, o efeito medido em estudos de toxicidade aguda com organismos aquáticos é a letalidade ou alguma outra manifestação do organismo que a antecede como, por exemplo, o estado de imobilidade.

Os testes de toxicidade crônica são realizados para medir os efeitos de substâncias químicas sobre espécies aquáticas por um período que pode abranger parte ou todo o ciclo de vida do organismo-teste (Zagatto, 2006). O fato de uma substância química não produzir efeitos tóxicos sobre organismos aquáticos em testes de toxicidade aguda não indica que ela não seja tóxica para eles. Os testes de toxicidade crônica permitem avaliar os possíveis efeitos tóxicos de substâncias químicas sob condições de exposições prolongadas a concentrações sub-letais, ou seja, concentrações que permitem a sobrevivência dos organismos, mas que afetam suas funções biológicas, tais como reprodução, desenvolvimento dos ovos, crescimento e maturação, deformações, dentre outras.

O lançamento contínuo de efluentes aquosos nos corpos d'água pode provocar efeitos crônicos, uma vez que os organismos são expostos a certos contaminantes, mesmo em baixas concentrações, durante longos períodos de tempo (Apha, 1998; James et al., 2000).

Os parâmetros CL_{50} , CE_{50} , CENO e CEO, frequentemente utilizados em Ecotoxicologia Aquática, são normalizados em função do ambiente em que os organismos são expostos. Por esse motivo, eles são expressos em termos da concentração ambiental da substância química, a qual é geralmente expressa em miligramas de substância por litro de solução preparada em água natural ou sintética apropriada (água de diluição) (Yu, 2005).

A relação entre as concentrações de uma substância química à qual é exposto um determinado organismo e os efeitos nocivos que lhe são produzidos, conhecida como relação dose-resposta, é um dos aspectos mais importantes dos estudos em Ecotoxicologia Aquática

(Nascimento, 2008). A relação dose-resposta constitui a base fundamental para a avaliação do risco gerado pelas substâncias químicas no meio ambiente porque permite quantificar a toxicidade aguda dessas substâncias.

3. Substâncias ou agentes tóxicos

Um agente tóxico produz efeito adverso no sistema biológico, alterando sua estrutura ou sua função, ou que pode também provocar sua morte sob determinadas condições de exposição. As substâncias podem estar presentes naturalmente no ambiente ou serem introduzidas nos ecossistemas aquáticos, podendo prejudicar a qualidade da água, tornando-a desfavorável à preservação da vida aquática e à saúde humana (Rocha, 2000).

Para que as substâncias químicas provoquem algum tipo de efeito tóxico elas devem entrar em contato com um sítio alvo apropriado e reagir com ele em concentração e intervalo de tempo suficientes (Rand et al., 1995). O contato e a reação entre a substância química e o sítio alvo do organismo recebem o nome de exposição. Os organismos aquáticos podem ser expostos aos agentes químicos presentes na água, nos sedimentos e nos alimentos. As rotas de exposição podem afetar a cinética de absorção, distribuição, biotransformação e excreção dos contaminantes e, assim, podem influenciar sua toxicidade (Mozeto e Zagatto, 2008). Desta forma, a concentração ambiental de uma determinada substância não é necessariamente a concentração à qual os indivíduos de uma espécie estão expostos porque a dose biologicamente ativa de um contaminante diz respeito à quantidade deste contaminante que atinge as células, os sítios e as membranas onde ocorre a reação responsável pelos efeitos tóxicos do contaminante (Holt, 2000; Hermens, 2007).

3.1 Substâncias de referência

Segundo o Environment Canada (1990), o objetivo dos ensaios ecotoxicológicos com substâncias de referência (teste de sensibilidade) é avaliar a repetibilidade do método analítico em um determinado laboratório ao longo do tempo e, também, permitir comparações interlaboratoriais. São seguidos alguns critérios para seleção de uma substância de referência, tais como (Rand et al., 1995): disponibilidade técnica para mensurá-la, solubilidade, estabilidade em solução (não deve ser volátil ou biodegradável) e segurança dos técnicos na manipulação em laboratório. Além destes critérios, a característica tóxica de uma substância

de referência não deve ser afetada por variações normais da qualidade da água (por exemplo, pH, dureza, substâncias orgânicas como ácidos húmicos, dentre outros).

Os compostos utilizados ou avaliados como tóxicos de referência incluem o pentaclorofenato sódico (Adelman e Smith, 1976; Davis e Hoos, 1975), o ácido dehidroabiético (Davis e Hoos, 1975), o fenol e a ázida sódica (Klaverkamp et al., 1975), o p-p'-DDT (Marking, 1966), o surfactante dodecil sulfato de sódio (DSS) (Laroche et al., 1970; Pessah et al., 1975; Wells et al., 1982), a antimicina (Hunn et al., 1968) e o cloreto de sódio (Adelman e Smith, 1976). A Environmental Canada (1990) recomenda ainda o cloreto de cádmio, o sulfato de cobre, o dicromato de potássio, o cloreto de potássio, o nitrato de prata, o cloreto de zinco e o sulfato de zinco como substâncias de referência em testes de toxicidade com algas, invertebrados e peixes.

3.1.1 Cromo

Em testes de toxicidade, o cromo é comumente utilizado na forma de dicromato de potássio. O cromo é um agente capaz de oxidar uma ampla variedade de substâncias orgânicas (Tait e Dipper, 1998). Segundo os mesmos autores, devido à poluição industrial, os níveis deste e de outros elementos, normalmente existentes em baixas quantidades, podem aumentar, prejudicando os organismos aquáticos ou não, mas propagando-se por toda a cadeia trófica, podendo mesmo atingir o homem, pelo processo de bioacumulação.

O cromo pode existir em estágios oxidativos que varia de -2 a +6, mas é mais frequentemente encontrado em ambientes nos estágios oxidativos de trivalente (+3) e hexavalente (+6). As formas +3 e +6 são mais importantes do que as formas +2, +4, e +5, porque estas formas são mais instáveis e são rapidamente convertidas a +3, que por sua vez é oxidada a +6 (Towill et al., 1978; Langard e Norseth, 1979; Ecological Analysts, 1981).

O cromo em materiais biológicos está na forma +3 (Langard e Norseth, 1979), e é a forma utilizada pelos mamíferos para manter a eficiência do metabolismo da glicose, dos lipídeos e das proteínas (Steven et al., 1976). Em geral, a toxicidade do cromo trivalente para os mamíferos é menor devido à sua permeabilidade de membrana ser baixa e ele não ser corrosivo; além disso, existe pouca tendência para o Cr+3 ser biomagnificado nas cadeias alimentares na sua forma inorgânica. O cromo hexavalente é mais tóxico que a forma +3 devido ao seu potencial de oxidação ser alto e penetrar facilmente nas membranas biológicas

(Steven et al., 1976; Taylor e Parr, 1978; Langard e Norseth, 1979; Ecological Analysts, 1981).

A toxicidade do cromo para a biota aquática é significativamente influenciada pelas variáveis abióticas, tais como dureza, temperatura, pH, e a salinidade da água (Ecological Analysts, 1981).

O cromo contido em dicromato de potássio é um metal amplamente utilizado para avaliar a sensibilidade de invertebrados criados em laboratório e empregados em estudos ecotoxicológicos (Canadá Ambiental, 1990; U.S.EPA, 2002). A saúde do animal no início de um teste é a principal preocupação e é fortemente influenciada pelas condições de cultura, como a temperatura, o pH, a dureza, a densidade, o tipo e quantidade de alimentos dos cultivos-estoque utilizados em bioensaios.

3.2 Substâncias orgânicas

O exacerbado e crescente uso de químicos orgânicos em aplicações industriais e domésticas tem aumentado as descargas diretas e indiretas de compostos tóxicos nos diferentes ambientes, dentre eles os agrotóxicos (Dores; De-Lamonica, 1999).

Os agrotóxicos, são compostos que podem matar diretamente um organismo indesejável ou controlá-lo de alguma maneira. Atualmente eles são massivamente utilizados na agricultura para que possam ser cultivadas grandes quantidades de determinadas espécies em uma pequena área, sem a interferência de organismos que possam reduzir a produtividade (Peres; Moreira e Dubois, 2003). Os fabricantes de agrotóxicos no mundo todo tem buscado o aumento da margem de segurança entre a toxicidade para os invertebrados-alvo e a proteção da saúde humana. No entanto, estes compostos podem exercer efeitos em organismos diferentes dos alvos da aplicação, o que pode alterar o equilíbrio dinâmico de um ecossistema (Gravilescu, 2005). O restante acaba por contaminar os ecossistemas adjacentes ao da aplicação. Tendo em vista que o ambiente aquático exerce um papel de receptor intermediário ou final de grande quantidade de compostos, quando há grande proximidade entre um agroecossistema e ambientes aquáticos, os riscos de contaminação são eminentes (Aguilar-Alberola e Mesquita-Joanes, 2012).

3.2.1 Carbofurano

A moderna agricultura, que busca constante elevação de produtividade e a maximização dos lucros, emprega uma carga expressiva de agroquímicos, dentre os quais se encontram os agrotóxicos, principalmente herbicidas, inseticidas e fungicidas, que podem causar poluição ambiental e desequilíbrio do ecossistema (Grützmacher et al., 2008).

O uso de agrotóxicos vem aumentando de forma significativa em diversos países, colocando em risco a saúde dos ecossistemas e do homem. De acordo com os dados do Sindicato Nacional da Indústria de Produtos para Defesa Agrícola – SINDAG (2012), as vendas de agrotóxicos no Brasil aumentaram mais de 72% entre 2006 e 2012 - de 480,1 mil para 826,7 mil toneladas. As vendas destes compostos defensivos movimentaram quase US\$ 8,5 bilhões no Brasil em 2011, tornando-o o segundo maior mercado do mundo, atrás apenas dos Estados Unidos (SINDAG, 2012).

Os agrotóxicos podem ser classificados de vários modos: segundo seu modo de ação, estrutura química do composto utilizado ou a sua toxicidade, grau ou tipo de risco sanitário (Almeida, 2002). De acordo com o tipo de aplicação, os pesticidas podem se dividir em dois tipos: sistêmicos (circulam no sistema vascular das plantas) e não sistêmicos ou de contato. As classes químicas mais importantes compreendem os compostos organoclorados, organofosforados e os carbamatos. Dentre estes, os pesticidas carbamatos, como o carbofurano, o aldicarbe e o carbaril, são considerados um dos mais importantes, pois são extremamente tóxicos para organismos aquáticos.

No Brasil, o carbofurano é comercialmente encontrado pelo nome de Furadan, Carborano e Ralzer, vendidos em diferentes formulações. O carbofurano (2,3-diidro-2,2-dimetil-7-benzofuranil-N-metil carbamato) largamente utilizado em culturas de cana-de-açúcar, batatas, milho, amendoim, arroz e soja, é um inseticida, acaricida e nematicida do grupo dos carbamatos, cuja estrutura molecular é apresentada na Figura 1. O carbofurano liga-se reversivelmente à enzima acetilcolinesterase, inibindo a ação desta sobre a acetilcolina.

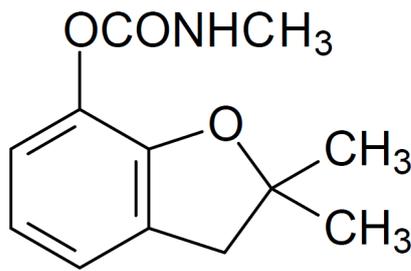


Figura 1: Estrutura do carbofurano.

Este agrotóxico apresenta curta persistência no ambiente e é classificado como muito tóxico para as abelhas, peixes e outros animais aquáticos e perigoso para animais e aves (Collective SPA, 2002). Devido à sua ampla utilização, o carbofurano foi detectado em águas subterrâneas, superficiais e da chuva, em solos, ar, alimentos e animais (Richards et al., 1987; Waite et al., 1992; Fisher et al., 1999).

A autorização para a comercialização de pesticidas na Europa (European Council, 2012) atualmente exige a determinação prévia dos potenciais efeitos negativos do ingrediente ativo(s) a organismos não-alvo em ambientes terrestres e aquáticos. No Brasil, a avaliação e consequente classificação toxicológica de agrotóxicos é feita tanto para o produto técnico - que contém essencialmente o ingrediente ativo em variados graus de pureza, como para o produto formulado, conforme Lei 7.802/89 e Decreto 4.074/02 (Brasil, 2002). A Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) efetua a avaliação toxicológica para fins de registro de agrotóxicos, enquanto o Instituto Brasileiro do Meio Ambiente (IBAMA) efetua a avaliação ambiental com a mesma finalidade, à luz da legislação supracitada. Atualmente, a ANVISA (2013) classifica o carbofurano na classe toxicológica I (altamente perigoso ao meio ambiente) e a formulação comercial (Furadan® 350 SC) como II (muito perigoso ao meio ambiente) (MAPA, 2013).

4. Organismo-teste

4.1 Biologia dos rotíferos

O Filo Rotifera é eminentemente límnico e algumas espécies deste Filo são capazes de suportar condições ambientais extremas, tendo sido observadas sobre neve e em águas termais (Schaden, 1985). Os rotíferos constituem um dos mais importantes grupos

constituintes da comunidade zooplanctônica, não só pela riqueza de espécies, mas também pela abundância numérica e produtividade. São organismos invertebrados microscópicos, cujo nome deriva do latim, com referência à coroa de cílios que rodeiam a boca desses animais, se movendo rápida e sincronicamente, produzindo um vórtex da água com partículas de alimento em direção à boca. São pseudocelomados, não segmentados, de simetria bilateral e comprimento geralmente entre 100 e 1000 μm , embora algumas espécies possam atingir até 3000 μm (Edmondson, 1959; Oliveira Neto e Moreno, 1999).

A forma do corpo dos rotíferos varia bastante, podendo ser alongados ou saculares, outras vezes cilíndricos ou vermiformes, sendo conhecidas também formas esféricas. O corpo pode ser dividido em região anterior curta, um tronco maior e um pé terminal (Hickman et al., 2004).

Quanto à reprodução os rotíferos podem ser dióicos ou em algumas espécies é conhecido apenas o fenômeno da partenogênese, fêmeas que produzem fêmeas e eventualmente machos, a partir de óvulos não fertilizados. Os machos conhecidos de algumas espécies são sempre menores e encontrados em menor número, quando não ausentes. A partenogênese é responsável pelo sucesso reprodutivo destes organismos (Barnes e Ruppert, 1996).

Cerca de 2030 espécies são atualmente conhecidas e estão classificadas em três grupos principais: o marinho, Seisonidae, com três espécies, Monogononta, com 1570 espécies e Bdelloidea, com 461 espécies (Segers, 2007).

Apresentam ampla distribuição em diversos ambientes devido à grande variedade de formas e estruturas acessórias como cerdas, espinhos, projeções cuticulares e grandes pés adesivos. Ocorrem principalmente em água doce, incluindo pequenas poças de água, solo úmido e também musgos e líquens que crescem em troncos de árvores e pedras. Alimentam-se principalmente de detritos, bactérias, algas ou podem ser predadores (Barnes e Calow, 1995).

Os rotíferos têm grande representatividade e importância, pois são oportunistas e colonizam vários ambientes. Devido à reprodução principalmente partenogenética, apresentam altas taxas reprodutivas e curto ciclo de vida (Streble e Frost, 1987), os rotíferos tem um papel fundamental no fluxo energético e na ciclagem de nutrientes nos ecossistemas aquáticos por atuarem na conversão de grande parte da produção primária de algas e bactérias

em energia acessível aos consumidores secundários (larvas de insetos e peixes, por exemplo), com notável eficiência (Donner, 1966; Nogrady et al., 1993, 1995).

Invertebrados do Filo Rotifera apresentam rápidas respostas às alterações ambientais e são considerados bons indicadores de poluição e da qualidade da água. São em grande parte herbívoros e detritívoros e desempenham papel nos processos de purificação da água, sendo encontrados constantemente em lagoas de estabilização (Nogrady et al., 1993; Paggi, 1995). Rotíferos são também, numericamente predominantes em reservatórios, pois são r-estrategistas, reproduzindo-se rapidamente sob condições de estresse hidrodinâmico, comuns nesses ambientes, além de responderem rapidamente às mudanças nas condições ambientais (Tundisi et al., 1995; Matsumura-Tundisi, 1999).

Devido às suas estratégias reprodutivas e ampla capacidade de dispersão sob a forma de ovos de resistência, ou por transporte zoocórico, os rotíferos tem grande sucesso ecológico (Barnes e Ruppert, 1996).

4.2 Características morfológicas da família Bdelloidea e da espécie *Philodina roseola*

Bdelloidea é uma classe de rotíferos que se reproduzem por partenogênese e são muito comuns em diversos habitats aquáticos (Donner, 1965; Gilbert, 1983; Ricci, 1992; Mark Welch e Meselson, 2000). Foram nomeados "escândalos evolutivos" por Maynard Smith (1986), uma vez que sobreviveram e se especiaram quase na ausência de sexo masculino. Bdelloides tem morfologia bastante uniforme e tamanho microscópico (comprimento de corpo variando entre 150 a 1500 µm). Quase todos bdelloides são capazes de sofrer uma forma de dormência, chamado anidrobiose, para suportar períodos desfavoráveis em seu habitat (Gilbert, 1974; Ricci, 1987, 1998, 2001). Por causa de dormência e reprodução partenogenética, várias espécies são cosmopolitas (Fontaneto et al., 2006, 2007, 2008).

A subclasse Bdelloidea é composta por três ordens (Adinetida, Philodinavida e Philodinida), quatro famílias, 19 gêneros e cerca de 460 espécies reconhecidas (Donner, 1965; Melone e Ricci, 1995; Segers, 2007).

O nome bdelloide é derivado do nome grego para sanguessugas (bdella) que se assemelham quando rastejando em um substrato com movimentos similares ao de uma sanguessuga. Seu corpo consiste de três regiões: cabeça, tronco e pé (Fig. 2). A cabeça e os pés parecem segmentados (pseudosegmentos) e são telescopicamente retráteis para o tronco.

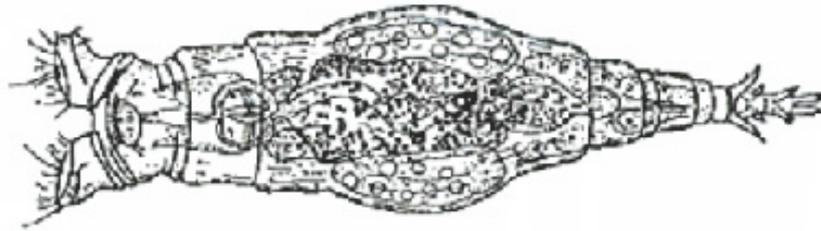


Figura 2: Vista geral da espécie *Philodina roseola* Ehrenberg, 1830 (Rotifera, Bdelloidea), espécie utilizada como organismo-teste no presente estudo.

A estrutura peculiar dos bdelloides é o aparelho rotativo, chamada de corona, que nesta classe consiste tipicamente de dois discos ciliados, o trochi, elevado sobre pedicelos retráteis. Os cílios de cada um são trochus dispostos ao longo de duas linhas paralelas, e cercam a abertura da boca ventral. Os bdelloides usam o batimento ciliar, para criar correntes de água para encaminhar as partículas do alimento para a boca e também para permitir que esses rotíferos nadem. Uma antena dorsal está presente em todos os bdelloides. Os olhos podem estar na tribuna ou na cabeça. Uma forte faringe muscular forma o aparelho mastigatório chamado de mastax, que consiste de peças rígidas articuladas com a musculatura ligada a ele. Em contraste com os rotíferos Monogononta, os Bdelloidea apresentam uma morfologia original de trophi, do tipo ramado (De Beauchamp, 1909; Melone et al., 1998; Melone e Fontaneto, 2005). O tronco é a principal região do corpo, e contém gônadas, nefridia e intestino, cada um ligado à cloaca dorsal. O aparelho de reprodução é constituído por gônadas emparelhadas, cada uma encaixada em uma grande glândula, o vitelário. Os ovos ou embriões (em espécie vivípara) podem ser vistos no tronco. Caudalmente a ele encontra-se o pé, com esporas e um número (2-4) de dedos extensíveis, todos com as aberturas das glândulas do pedal.

Com exceção de uma espécie, *Abrochtha arnivora*, que oprime outros rotíferos (Ricci et al., 2001), os bdelloides alimentam-se por filtragem ou raspagem de pequenos itens alimentares, tais como bactérias, algas unicelulares, leveduras ou matéria orgânica particulada (Ricci, 1984). Rotíferos bdelloides habitam o fundo das águas de ambientes lóticos e lênticos, bem como a fina película de água circundante das partículas do solo, musgos e líquens. Muitos bdelloides podem nadar, mas em geral só e, ocasionalmente, para distâncias curtas. (Pejler e Berzins, 1993). Os requisitos físicos e químicos da maioria das espécies não são bem

conhecidos e a distribuição espacial e temporal dos bdelloides muitas vezes é irregular e, provavelmente, depende das fontes alimentares (Ricci e Balsamo, 2000).

Em condições de laboratório, o ciclo de vida é cerca de 30 dias, durante o qual eles podem colocar 20-35 ovos (Ricci, 1983). Em resposta aos distúrbios ambientais (por exemplo, evaporação da água) os bdelloides podem entrar em anidrobiose, e retomar a atividade somente quando as condições do habitat se tornarem novamente apropriadas. A taxa de recuperação depende da espécie (Ricci, 1998), da duração do período de dessecação (Caprioli e Ricci, 2001) e da idade dos rotíferos (Ricci, 1987; Örstan, 1995; Orsenigo et al., 1998). Em qualquer caso, a dormência representa um período “cego” na vida dos bdelloides, porque eles vão retomar a sua vida sem considerar o tempo que passaram dormentes (Ricci, 2001).

Philodina roseola é um dos rotíferos mais comuns pertencentes à classe Bdelloidea. Ela ocorre em todo o mundo e é encontrada em uma grande variedade de habitats, que incluem ambientes lênticos, como fundo de lagos ou lagoas e ambientes lóticos, como córregos ou rios. Estão geralmente presentes em musgos e líquens, em poças de chuva e sarjetas, na serapilheira ou o solo, em tanques de estações de tratamento de esgoto ou quase qualquer lugar que seja úmido ou periodicamente úmido e seco (Wallace e Snell, 2010).

5. Objetivos

5.1. Objetivos gerais

O principal objetivo deste trabalho foi contribuir para a ampliação do conhecimento da ecologia e biologia da espécie de Rotífera *Philodina roseola* Ehrenberg, 1830 (Bdelloidea), visando a utilização deste rotífero como organismo-teste em estudos ecotoxicológicos voltados para o monitoramento e conservação da biodiversidade em águas continentais brasileiras.

5.2. Objetivos específicos

- Obter informações detalhadas sobre o ciclo de vida de *Philodina roseola* incluindo o desenvolvimento embrionário e pós-embrionário, a idade da primípara, tempo de geração, a longevidade, a taxa de crescimento e fecundidade individual;

- Quantificar a biomassa e a produção secundária das principais fases de desenvolvimento da espécie *Philodina roseola*, para indivíduos cultivados em laboratório, sob condições controladas de temperatura e quantidade de alimento;
- Determinar as taxas de filtração e de ingestão do rotífero *Philodina roseola*, sendo testadas como dieta alimentar sete diferentes concentrações da clorofíceia nanofitoplanctônica *Raphidocelis subcapitata*;
- Reunir e sintetizar o conhecimento existente sobre a utilização de rotíferos como organismos-teste para a avaliação da toxicidade de pesticidas em ecossistemas de água doce, nas últimas décadas (1981 a 2013);
- Estabelecer a faixa de sensibilidade de *Philodina roseola*, por meio das CE₅₀-48 horas, a um metal tóxico, o cromo contido no composto de referência, o dicromato de potássio (K₂Cr₂O₇);
- Avaliar a sensibilidade de *Philodina roseola* por meio da determinação da CE₅₀-48h, ao agrotóxico carbofurano, tanto ao produto comercial (Furadan[®] 350 SC) como ao ingrediente ativo (carbofurano), utilizando diferentes variáveis biológicas como indicadoras da toxicidade;
- Comparar a sensibilidade de *Philodina roseola* com a de outras espécies, de diferentes grupos taxonômicos, com o propósito de analisar seu potencial como um possível organismo-teste.

6. Justificativa e hipótese

Em princípio, qualquer espécie aquática pode ser utilizada em testes de toxicidade (Van Leeuwen, 1988). Entretanto, as espécies utilizadas nesses testes devem apresentar as seguintes características (Rand et al., 1995; Apha, 1998; Ronco et al., 2004): elevadas disponibilidade e abundância, uniformidade e estabilidade genética nas populações, representatividade de seu nível trófico, significado ambiental em relação à área de estudo, ampla distribuição, facilidade de cultivo e de adaptação às condições de laboratório.

Invertebrados aquáticos são amplamente usados em estudos ecotoxicológicos, porque eles são relativamente fáceis de serem mantidos em condições de ensaio. Como grupo, eles são geralmente mais sensíveis a uma variedade de poluentes (incluindo muitos pesticidas) do que os vertebrados ou plantas (Rand, 1995). Muitos, se não a maioria dos testes toxicológicos que examinam os efeitos dos pesticidas sobre os invertebrados aquáticos, têm usado os cladóceros para representar espécies de zooplâncton em seus ambientes aquáticos afetados.

No entanto, em águas doces do Brasil, cladóceros estão frequentemente presentes em baixa abundância em comparação com outras espécies de micro-invertebrados. De acordo com Rocha et al. (1995), os rotíferos dominam o zooplâncton da maioria dos lagos, tanques, reservatórios e rios do Brasil em densidade e número de espécies. Isto se deve provavelmente ao fato destes organismos consumirem uma variedade de espécies fitoplanctônicas, detritos e bactérias, com dietas variando entre espécies distintas ou mesmo em uma única espécie. Os rotíferos também são dominantes em quase todos os ecossistemas aquáticos de água doce de todo o mundo (Segers et al., 1993; Sharma e Sharma, 2012).

Isto sugere que a utilização somente de cladóceros pode ter uma utilidade limitada na avaliação de riscos ecológicos de substâncias tóxicas. Além disso, dados ecotoxicológicos para outros grupos de invertebrados aquáticos são reduzidos, e os testes realizados com rotíferos têm focado principalmente os Monogononta, usando o gênero *Brachionus* (*Brachionus calyciflorus* é de longe o rotífero de água doce mais comumente usado em ensaios de toxicidade).

Rotíferos da ordem Bdelloidea representam um importante grupo de invertebrados em corpos d'água do Brasil e do mundo e estudos abordando seus aspectos biológicos e ecotoxicológicos, são ainda incipientes. Mais estudos são, portanto, imprescindíveis.

O presente estudo focalizou: (1) aspectos envolvendo a biologia da espécie *Philodina roseola* Ehrenberg, 1830 (Rotifera, Bdelloidea), (2) o desenvolvimento de um protocolo de cultivo desse rotífero, (3) a realização de ensaios ecotoxicológicos agudos e crônicos em laboratório dessa espécie, (4) a avaliação da sensibilidade de *Philodina roseola* a uma substância de referência, o dicromato de potássio, (5) a avaliação da sensibilidade de *Philodina roseola* ao pesticida carbofurano (ingrediente ativo e produto formulado) utilizando diferentes variáveis.

Diante deste contexto, o presente estudo teve por objetivo testar a hipótese de que a espécie *Philodina roseola* Ehrenberg, 1830 (Rotifera, Bdelloidea), é um organismo-teste utilizável em estudos ecotoxicológicos e para isso realizou-se o estudo de diferentes aspectos de seu ciclo de vida e de sua sensibilidade a compostos tóxicos.

7. Referências

ADAMS, W.J. and ROWLAND, C.D., 2003. *Handbook of Ecotoxicology*. 2nd ed., Lewis Publishers: Boca Raton.

ADELMAN, I.R. and SMITH, L.L., 1976. Fathead minnow (*Pimephales promelas*) and goldfish (*Carassius auratus*) as standard fish in bioassays and their reaction to potential reference toxicants. *Journal of the Fisheries Research Board of Canada*, vol. 33, p. 209-214.

AGUILAR-ALBEROLA J.A. and MESQUITA-JOANES F., 2012. Acute Toxicity Tests with Cadmium, Lead, Sodium Dodecyl Sulfate, and *Bacillus thuringiensis* on a Temporary Pond Ostracod. *Internationale Revue Hydrobiologie*, vol. 97, no. 4, p. 375–388.

ALMEIDA, P. J., 2002. *Intoxicação por agrotóxicos*. Andrei ed. 165 p.

ANVISA - Agência Nacional de Vigilância Sanitária, 2013. SIA: Sistema de informações sobre agrotóxicos. Disponível em: <<http://portal.anvisa.gov.br/wps/wcm/connect/d96d0d804e09c76a9a32bbc09d49251b/C06+%E2%80%93Carbofurano.pdf?MOD=AJPERES>>. Acessado em 07 setembro 2013.

APHA – AMERICAN PUBLIC HEALTH ASSOCIATION, 1998. *Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater*. American Water Works Association, Water Environment Federation. 20th ed., Washington.

AYIBOTELE, N.B., 1992. *The World's Water: Assessing the Resource*. Paper presented at the international conference on Water and the Environment: Development Issue for the 21st century, January, p. 26-31, Dublin Ireland

BARNES, R.S.K., CALOW, P. e OLIVE, P.J.W., 1995. *Os invertebrados: uma nova síntese*. Atheneu, São Paulo.

BARNES, R.S.K. e RUPPERT, E.E., 1996. *Zoologia de invertebrados*. 6 Ed. São Paulo: Roca, p. 301-311.

BRASIL. 2002. Decreto N° 4.074, de 4 de Janeiro de 2002. Regulamenta a Lei n° 7.802, de 11 de julho de 1989, que dispõe sobre a pesquisa, a experimentação, a produção, a embalagem e rotulagem, o transporte, o armazenamento, a comercialização, a propaganda comercial, a utilização, a importação, a exportação, o destino final dos resíduos e embalagens, o registro, a classificação, o controle, a inspeção e a fiscalização de agrotóxicos, seus componentes e afins, e dá outras providências. Disponível em: <http://www.planalto.gov.br/ccivil_03/decreto/2002/D4074.htm>. Acessado em 07 setembro 2013.

BURATINI-MENDES, S. V., 2002. Efeitos do meio de cultivo sobre a sobrevivência, reprodução e sensibilidade de *Ceriodaphnia dubia*. Dissertação de mestrado. Escola de Engenharia de São Carlos, Universidade de São Paulo, 90 p.

CAPRIOLI, M. and RICCI, C., 2001. Recipes for successful anhydrobiosis in bdelloid rotifers. *Hydrobiologia*, vol. 446/447, p. 13–17.

CASTILLO, G.C., VILA, I.C. and NEILD, E., 2004. Ecotoxicity assessment of metals and wastewater using multitrophic assays. *Environmental Toxicology and Chemistry*, vol. 15, no.5, p. 370-375.

CHASIN, A.A.M. e AZEVEDO, F.A., 2004. Intoxicação e avaliação da toxicidade. 127- 163. In: Azevedo, F.A.; Chasin, A.A.M. (orgs.), *As bases toxicológicas da ecotoxicologia*. RiMa, São Carlos, 322 p.

Collective of authors SPA (State Phytosanitary Administration), 2002. *List of the Registered Plant Protection Products*. Agrospoj, SPA.

CONAMA – CONSELHO NACIONAL DO MEIO AMBIENTE, 2005. Ministério do Meio Ambiente. Resolução no 357, de 17 de março de 2005. Dispõe sobre a classificação dos corpos de água e diretrizes ambientais para o seu enquadramento, bem como estabelece as condições e padrões de lançamento de efluentes, e dá outras providências. Diário Oficial da União, Brasília, DF.

DAVIS, J.C. and HOOS, R.A.W., 1975. Use of sodium pentachlorophenate and dehydroabiatic acid as reference toxicants for salmonid bioassays. *Journal of the Fisheries Research Board of Canada*, vol. 32, p. 411-416.

DE BEAUCHAMP, P.M., 1909. Recherches sur les Rotifères: les formations tégumentaires et l'appareil digestif. *Archives de zoologie expérimentale et générale*. IV Series, vol 10, p. 1–410.

DE KRUIJF, H. A. M., 1988. *Manual on Aquatic Ecotoxicology*. In: DE KRUIJF, H. A. M. & DE ZWART, D. (EDS.). Kluwer Academica Publishers, Dordrecht.

DONNER, J., 1965. *Ordnung Bdelloidea (Rotifera, Rädertiere)*. Akademie Verlag, Berlin. 297 p. (in German).

DONNER, J., 1966. *Rotifers*. London: Frederick Warne, 80 p.

DORES, E.F.G.C. and DE-LAMONICA-FREIRE, E.M., 1999. Contaminação do Ambiente Aquático por Pesticida: Vias de Contaminação e Dinâmica dos Pesticidas no Ambiente Aquático. *Pesticidas: Ecotoxicologia e Meio Ambiente*, vol. 9, p. 1-18.

ECOLOGICAL ANALYSTS, 1981. *The sources, chemistry, fate, and effects of chromium in aquatic environments*. Avail. from American Petroleum Institute, 2101 L St., N.W., Washington, DC 20037. 207 p.

EDMONDSON, W.T. 1959. *Freshwater Biology*. 2 ed. New York John Wiley & Sons Inc. 1248 p.

ENVIRONMENTAL CANADA, 1990. *Guidance document on control of toxicity test precision using reference toxicants*. Repon EPS 1/RM/12. 85 p.

EUROPEAN COUNCIL, 2012. Regulation (EU) No 528/2012 of the European Parliament and of the council of 22 May 2012 concerning the making available on the market and use of biocidal products. vol 55. Official Publications of the European Communities, L167 of 27 June 2012. Office for Official Publications of the European Communities, Luxembourg.

FISHER, S.J., GALINAT, G.F. and BROWN, M.L., 1999. Acute toxicity of carbofuran to adult and juvenile flathead chubs. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*, vol. 63, p. 385 -391.

FONTANETO, D., FICETOLA, G.F., AMBROSINI, R. and RICCI, C., 2006. Patterns of diversity in microscopic animals: are they comparable to those in protists or in larger animals? *Global Ecology and Biogeography*, vol. 15, p. 153-162.

FONTANETO, D., HERNIOU, E.A., BARRACLOUGH, T.G. and RICCI, C., 2007. On the global distribution of microscopic animals: new worldwide data on bdelloid rotifers. *Zoological Studies*, vol. 46, p. 336-346.

FONTANETO, D., BARRACLOUGH, T.G., CHEN, K., RICCI, C. and HERNIOU, E.A., 2008. Molecular evidence for broad-scale distributions in bdelloid rotifers: everything is not everywhere but most things are very widespread. *Molecular Ecology*, vol. 17, p. 3136-3146.

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

GILBERT, J.J., 1974. *Dormancy in rotifers*. Transactions of the American Microscopical Society, vol. 93, p. 490–513.

GILBERT, J.J., 1983. *Rotifera*. In Adiyodi K.G. and Adiyodi R.G. (Eds) Reproductive biology of invertebrates. Vol. I: oogenesis, oviposition and oosorption. p 181–209. Wiley and Sons.

GRAVILESCU, M., 2005. Fate of pesticide in the environment and its bioremediation. *Eng. Life Science*, vol. 5, no. 6, p. 497-526.

GRÜTZMACHER, D. D., GRÜTZMACHER, A. D., AGOSTINETTO, D., LOECK, A. E., ROMAN, R., PEIXOTO, S. C. e ZANELLA, R., 2008. Monitoramento de agrotóxicos em dois mananciais hídricos no sul do Brasil. *Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental*, Campina Grande, v. 12, n.6, p. 632-637.

HERMENS, J. L. M., HERINGA, M. B. and LAAK, T. L., 2007. Bioavailability in dose and exposure assessment of organic contaminants in (eco)toxicology. *Journal of Toxicology and Environmental Health, Part A*, vol. 70, no. 9-10, p. 727-730.

HICKMAN, C.P., ROBERTS, L.S. e LARSON, A., 2004. *Princípios integrados de zoologia*. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan S.A.

HODGSON, E., 2004. *A Textbook of Modern Toxicology*. In: HODGSON, E. (ed). 3rd ed., John Wiley & Sons. New Jersey.

HOLT, M. S., 2000. Sources of chemical contaminants and routes into the freshwater environment. *Food Chemistry Toxicology*, vol. 38, no.1, p.1-7.

HUNN, J.B., SCHOETTGER, R.A. and WEALD, E., 1968. Observations on the handling and maintenance of bioassay fish. *The Progressive Fish-Culturist*, vol. 30. p.164-167.

JAMES, R. C., ROBERTS, S. M. and WILLIAMS, P. L., 2000. *Principles of Toxicology: Environmental and Industrial Applications*. In: WILLIAMS, P. L., JAMES, R. C. & ROBERTS, S. M. (eds.). 2nd ed. John Wiley & Sons: New York.

KENDALL, R. J., ANDERSON, T. A., BAKER, R. J., BENS, C. M., CARR, J. A., CHIODO, L. A., COB III, G. P., DICKERSON, R. L., DIXON, K. R., FRAME, L. T., HOOPER, M. J., MARTIN, C. F., MCMURRY, S. T., PATINO, R., SMITH, E. E. and THEODORAKIS, W., 2001. *Casarett and Doull's Toxicology – The Basic Science of Poisons*. In: KLAASSEN, C. D. (ed.) 6th ed.. MacGraw-Hill, New York, cap. 29.

KLAVERKAMP, J.F., KENNEY, A., HARRISON, S.E. and DANELL, R., 1975. *An evaluation of phenol and sodium azide as reference toxicants in rainbow trout*. Second Annual Aquatic Toxicity Workshop. Proceedings, Toronto, Ontario.

KNIE, J.L.W. e LOPES, E.W.B., 2004. *Testes Ecotoxicológicos: métodos, técnicas e aplicações*. Florianópolis: FATMA, 288 p.

LANGARD, S. and NORSETH, T., 1979. *Chromium*. Handbook on the toxicology of metals. In: FRIBERG, L., NORDBERG, G. F. & VOUK, V. B. (eds.). Elsevier, North Holland Biomedical Press. p. 383-397.

LAROCHE, E., EISLER, R. and TARZWELL, C.M., 1970. Bioassay procedures for oil and oil dispersant toxicity evaluation. *Journal of Water Pollution Control*, vol. 42, p. 1982-1989.

MAPA - Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento, 2013. Agrofit: Sistema de Agrotóxicos Fitossanitários. Disponível em: <http://agrofit.agricultura.gov.br/agrofit_cons/principal_agrofit_cons>. Acessado em 14 de outubro de 2013.

MARKING, L.L., 1966. *Evaluation of p,p'-DDT as a reference toxicant in bioassays*. Investigations in fish control. U.S. Department of Interior Fish and Wildlife Service Resource Publication 14.

MARK WELCH D. and MESELSON M., 2000. Evidence for the evolution of bdelloid rotifers without sexual reproduction or genetic exchange. *Science* 288: 1211–1215. Maynard Smith, J., 1986. Contemplating life without sex. *Nature*, vol. 324, p.300-301.

MATSUMURA-TUNDISI, T., 1999. *Diversidade de zooplâncton em represas do Brasil*. In: HENRY, R. ed. Ecologia de reservatórios: estrutura, função e aspectos sociais. Botucatu, FUNDIBIO/FAPESP. p. 39-54.

- MAYNARD SMITH, J., 1986. Contemplating life without sex. *Nature*, vol. 324, p. 300–301.
- MELONE, G. and RICCI, C., 1995. Rotatory apparatus in bdelloids. *Hydrobiologia*, vol. 313/314, p. 91–98.
- MELONE, G., RICCI, C. and SEGERS, H., 1998. The trophi of Bdelloidea (Rotifera): a comparative study across the class. *Canadian Journal of Zoology*, vol.76, p. 1755–1765.
- MELONE, G. and FONTANETO, D., 2005. Trophi structure in bdelloid rotifers. *Hydrobiologia*, vol. 546, p.197-202.
- MOZETO, A.A. e ZAGATTO, P.A., 2008. *Introdução de agentes químicos no ambiente*. 15-38. In: Zagatto, P.A. e Bertolotti E. (orgs.), *Ecotoxicologia aquática: princípios e aplicações*. RiMa, São Carlos, 478 p.
- NASCIMENTO, E., 2008. *Mecanismos bioquímicos dos agentes químicos: biodegradação*. 39-54. In: Zagatto, P.A. e Bertolotti E. (orgs.), *Ecotoxicologia aquática: princípios e aplicações*. RiMa, São Carlos, 478 p.
- NEWMAN, M. C. and CLEMENTS, W. H., 2008. *Ecotoxicology: a comprehensive treatment*. CRC Press, Boca Raton, New York. 852 p.
- NOGRADY, T., WALLACE, R.L. and SNELL, T.W., 1993. *Rotifera: biology, ecology and systematic*. In: DUMONT, H.J.F. (Coord.). *Guides to the identification of the microinvertebrates of the continental waters of the world*. Netherlands: SPB Academic Publishing, vol.1, 42 p.
- NOGRADY, T., POURRIOT, R. and SEGERS, H., 1995. *Rotifera: the Notommatidae and the Scaridiidae*. In: DUMONT, H.J.F. (Coord.). *Guides to the identification of the microinvertebrates of the continental waters of the world*. Netherlands: SPB Academic Publishing, vol. 3, 248 p.
- OLIVEIRA-NETO, A.L. e MORENO, I.H., 1999. *Rotíferos*. In *Biodiversidade do Estado de São Paulo, Brasil: síntese do conhecimento ao final do século XX*. Invertebrados de água doce (C.A. Joly & C.E.M. Bicudo, coord.). FAPESP, São Paulo, vol. 4.
- ORSENIGO, S., RICCI, C. and CAPRIOLI, M., 1998. The paradox of bdelloid egg size. *Hydrobiologia*, vol. 387/388, p. 317–320.
- ÖRSTAN, A., 1995. Desiccation survival of the eggs of the rotifer *Adineta vaga* (Davies, 1873). *Hydrobiologia*, vol. 313/314, p. 373 – 375.
- PAGGI, S.J., 1995. *Rotíferos – Aspectos Metodológicos*. Workshop Invertebrados de água doce neotropicais.
- PEJLER, B. and BERZINŠ, B., 1993. On choice of substrate and habitat in bdelloid rotifers. *Hydrobiologia*, vol. 255/256, p. 333–338.

- PERES, F., MOREIRA, J. C. e DUBOIS, G. S., 2003. Agrotóxicos, saúde e ambiente: uma introdução ao tema. In: PERES, F. ; MOREIRA (2003). *É veneno ou remédio? Agrotóxicos, saúde e ambiente*. p. 21-41.
- PESSAH, E., WELLS, P.G. and SCHNEIDER, J.R., 1975. *Dodecyl sodium sulphate (DSD) as an intralaboratory reference toxicant in fish bioassays*. Second Annual Aquatic Toxicity Workshop. Proceedings, Toronto, Ontario.
- PIMENTEL and LEVITAM., 1986. Pesticide: amounts applied and amounts reaching plants. *Bio Science*, vol. 36, p. 86-91.
- RAND, G. M., WELL, P. G. and MCCARTHY, L. S., 1995. *Introduction to aquatic toxicology*. In: RAND, G. M. (ed). *Fundamentals of aquatic toxicology: effects, environmental fate, and risk assessment*. 2nd edition. Taylor & Francis.
- RIBO, J. M., 1997. Interlaboratory comparison studies of the luminescent bacteria toxicity bioassay. *Environmental Toxicology*. Water Qual., vol. 12, no. 4, p. 283-294.
- RICCI, C., 1983. Life histories of some species of Rotifera Bdelloidea. *Hydrobiologia*, vol. 104, p. 175-180.
- RICCI, C., 1984. Culturing of some bdelloid rotifers. *Hydrobiologia*, vol. 112, p.45–51.
- RICCI, C., 1987. Ecology of bdelloids: how to be successful. *Hydrobiologia*, vol. 147, p. 117–127.
- RICCI, C., 1992. *Rotifers: parthenogenesis and heterogony*. In Dallai R. (Ed.) Sex origin and evolution, p. 329–341. Selected Symposia and Monographs U.Z.I., 6, Mucchi, Modena.
- RICCI, C., 1998. Anhydrobiotic capabilities of bdelloid rotifers. *Hydrobiologia*, vol. 387/388, p. 321– 326.
- RICCI, C. and BALSAMO M., 2000. The biology and ecology of lotic rotifers and gastrotrichs. *Freshwater Biology*, vol. 44, p. 15–28.
- RICCI, C., 2001. Dormancy patterns in rotifers. *Hydrobiologia*, vol. 446/447, p. 1–11.
- RICCI, C., MELONE G. and WALSH E.J., 2001. A carnivorous bdelloid rotifer, *Abrochtha* carnivore n.sp. *Invertebrate Biology*, vol, 120, p.136–141.
- RICHARDS, R.P, KRAMER, J.W, BAKER, D.B and KRIEGER, K.A., 1987. Pesticides in rainwater in the northeastern United States. *Nature*, vol.327, p. 129-131.
- ROCHA, O., SENDACZ, S. and MATSUMURA-TUNDISI, T., 1995. *Composition, biomass and productivity of zooplankton in natural lakes and reservoirs of Brazil*. In *Limnology in Brazil* (J.B. Tundisi, C.E. Bicudo & T. Matsumura-Tundisi, eds.). ABC/SLB, Rio de Janeiro, p.151-165.

ROCHA, O., 2000. *A poluição química e a biodiversidade*. In: VI encontro de ecotoxicologia. “Ecotoxicologia e desenvolvimento sustentável: perspectiva para o século XXI”, 2000, São Carlos. Anais. São Carlos:USP. 25 p.

RONCO, A., BÁEZ, M. C. D. and GRANADOS, Y. P., 2004. *Ensayos Toxicológicos y Métodos de Evaluación de Calidad de Aguas – Estandarización, Intercalibración, Resultados y Aplicaciones*. In: Morales, G. C. (ed.). Centro Internacional de Investigaciones para el Desarrollo, Ottawa.

SCHADEN, R., 1970. *Sobre rotíferos planctônicos da raia Olímpica na cidade Universitária, em São Paulo*. São Paulo. Dissertação de mestrado, Universidade de São Paulo, SP.

SEGERS, H., NWADIARO, CS. and DUMONT, H.J., 1993. Rotifera of some lakes in the floodplain of the river Niger (Imo State, Nigeria). II. Faunal composition and diversity. *Hydrobiologia*, vol. 250, p. 63-71.

SEGERS, H., 2007. Annotated checklist of the rotifers (Phylum Rotifera), with notes on nomenclature, taxonomy and distribution. *Zootaxa*, vol. 1564. Magnolia Press Auckland, New Zealand, 144 p.

SHARMA, B.K. and SHARMA, S., 2012. Diversity of zooplankton in a tropical floodplain lake of the Brahmaputra river basin, Assam (Northeast India). *Opuscula Zoologica Budapest*, vol. 43, no. 2, p. 187-195.

SINDAG - Sindicato Nacional da Indústria de Produtos para Defesa Agrícola, 2013. *Uso de defensivos é intensificado no Brasil*. Publicada em 30 de julho de 2012. Disponível em: <http://www.sindag.com.br/noticia.php?News_ID=2278>. Acesso em: 14 de agosto de 2013.

STEVEN, J. D., DAVIES, L. J., STANLEY, E. K., ABBOTT, R. A., IHNAT, M., BIDSTRUP, L. and JAWORSKI, J. F., 1976. Effects of chromium in the Canadian environment. *Natural Resources Coun. Canada*, NRCC No. 15017. 168 p.

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

TAIT, R. V. and DIPPER, F. A., 1998. *Elements of Marine Ecology*. 4a Ed. Butterworth-Heinemann. Great Britain. 462 p.

TOWILL, L. E., SHRINER, C. R., DRURY, J. S., HAMMONS, A. S. and HOLLEMAN, J. W., 1978. *Reviews of the environmental effects of pollutants: III chromium*. U.S. Environ. Protection Agency Rep. 600/1-78-023. 287 p.

TUNDISI, J.G., BICUDO, C.E.M. and MATSUMURA-TUNDISI, T., 1995. *Limnology in Brazil*. Rio de Janeiro: ABC/SBL, 384 p.

U.S.EPA - U.S. Environmental Protection Agency, 2002. *Methods for measuring the acute toxicity of effluents and receiving waters to freshwater and marine organisms*. Washington, DC.

VAN LEEUWEN, C. J., 1988. *Manual on Aquatic Ecotoxicology*. In: DE KRUIJF, H. A. M. and DE ZWART, D. (eds.). Kluwer Academica Publishers, Dordrecht.

YU, M.H., 2005. *Environmental Toxicology: Biological and Health Effects of Pollutants*. 2nd ed., CRC Press, Boca Raton.

WAITE, D. T., GROVER, R., WESCOTT, N. D., SOMMERSTAD, H. and KARR, L., 1992. Pesticides in ground water, surface water and spring runoff! In a small Saskatchewan watershed. *Environmental Toxicology and Chemistry*, vol. 11, p. 741-748.

WALLACE, R. L. and SNELL, T. W., 2010. *Rotifera*. Chapter 8. In: Ecology and classification of North American freshwater invertebrates (eds. Thorp, J.H. and A.P. Covich). Elsevier. Oxford. p. 173 - 235.

WELLS, P.G., ABERNETHY, S.G. and MACKAY, D., 1982. Study of oil-water partitioning of a chemical dispersant using an acute bioassay with marine crustaceans. *Chemosphere*, vol.11, p. 1071-1086.

ZAGATTO, P.A., 2006. *Ecotoxicologia*, p. 1-12. In: ZAGATTO, P.A.; BERTOLETTI, E. *Ecotoxicologia aquática*. São Carlos: Rima, 2006.

Capítulo 1: O ciclo de vida de *Philodina roseola* Ehrenberg, 1830 (Rotifera, Bdelloidea)

Resumo

O estudo do ciclo de vida das espécies zooplânctônicas fornece dados importantes sobre aspectos biológicos e ecológicos das mesmas, além de informações para o entendimento das interações com outras espécies. Este estudo obteve informações sobre o ciclo de vida de *Philodina roseola* cultivada em laboratório. Os experimentos foram mantidos em câmara incubadora com temperatura de $25,0 \pm 1$ °C, fotoperíodo de 16 horas luz/8 horas escuro e com alimentação por meio de uma suspensão da alga clorofícea *Raphidocelis subcapitata* na concentração de 10^5 cels. mL⁻¹. As observações foram feitas em intervalos de 3 horas para o acompanhamento do desenvolvimento embrionário e posteriormente em intervalos de 6 horas, para o acompanhamento do desenvolvimento pós-embrionário, durante o qual foram avaliados o crescimento individual, o tamanho da primípara, a fecundidade e a longevidade. A duração do desenvolvimento embrionário foi de 23,88 horas e a idade da primípara de *P. roseola* foi em média de 3,5 dias. A longevidade máxima foi de 23 dias. O tamanho médio dos neonatos foi de 198,77 µm, o comprimento médio da primípara foi de 395,56 µm e o comprimento médio dos adultos foi de 429,96 µm. A fecundidade média de *P. roseola* foi de 1,22 ovos fêmea⁻¹ e o número total de ovos produzidos por fêmea durante todo o ciclo de vida foi, em média, 22,33 ovos. Com este estudo pode-se concluir que *P. roseola* tem um rápido desenvolvimento. A desaceleração do crescimento somático coincidindo com o início da reprodução evidencia um dos tipos de barganha entre crescimento e reprodução, frequentemente observada entre os micrometazoários, onde a espécie aloca energia no crescimento corporal até a primeira reprodução e depois disso canaliza quase toda a energia disponível para a reprodução.

Palavras-chave: longevidade, fecundidade, crescimento, desenvolvimento embrionário, zooplâncton

1. Introdução

O conhecimento aprofundado do ciclo de vida das espécies do zooplâncton é especialmente importante para o estudo da dinâmica das populações, do papel destas nas cadeias e teia alimentar, envolvendo diferentes interações ecológicas na comunidade. Fornece também subsídios para a utilização destes organismos como organismos-teste em avaliações ecotoxicológicas, visando o monitoramento da qualidade ambiental (Freitas e Rocha, 2006; Forbes et al., 2010). Além disso, os estudos do ciclo de vida podem proporcionar informações básicas essenciais para as investigações de processos como as taxas de ingestão, assimilação e produção secundária das espécies individuais (Santos-Wisniewski et al., 2006).

O crescimento, a reprodução e a sobrevivência do zooplâncton podem ser influenciados por diversos fatores ambientais. Entre esses fatores, a qualidade do alimento e a temperatura são os mais importantes, sendo a temperatura especialmente relevante para a duração do desenvolvimento e a disponibilidade de alimento para a fecundidade (Bottrell et al., 1976). Os parâmetros do ciclo de vida das espécies são também importantes para a interpretação de aspectos da sua biologia e ecologia em ambientes específicos, e além destes, de sua distribuição geográfica como um todo (Güntzel et al., 2003).

As espécies da Subclasse Bdelloidea são componentes importantes do plâncton limnético, ocorrendo em uma grande variedade de massas de água. Compreendem cerca de 460 espécies conhecidas (Segers, 2007). São encontradas em habitats em todo o mundo (Mayr, 1963; Bell, 1987), no entanto, pouco se sabe sobre a biologia e a ecologia de espécies desta Subclasse. A maioria dos rotíferos bdelloides são de vida livre, profusamente encontrados em águas doces e lugares úmidos ou periodicamente úmidos (Donner, 1965; Ricci, 1987; Wallace e Snell, 1991, Wallace, et al., 2006).

Os rotíferos bdelloides têm duas características especiais que têm atraído a atenção de cientistas em todo mundo (Fontaneto et al., 2007). A primeira é que eles podem viver em qualquer habitat aquático, mesmo que seja efêmero, porque eles são capazes de sobreviver à dessecação por meio de uma forma de dormência chamada anidrobiose (Ricci, 2001; Ricci e Capriol, 2005). A segunda característica é que os Bdelloidea parecem ter evoluído sem reprodução sexual, sendo o maior, mais antigo e mais diversificado táxon multicelular para o qual existem evidências morfológicas, citológicas e moleculares de evolução assexuada de longo prazo (Mark Welch e Meselson, 2000; Mark Welch et al., 2004).

Quando dormente qualquer bdelloide representa um propágulo facilmente dispersável, que pode colonizar qualquer novo habitat adequado. Qualquer propágulo pode ser o fundador de uma nova população, já que não há necessidade de companheiros sexuais. Assim, em teoria, uma dada espécie deste grupo de rotíferos pode ser encontrada em qualquer habitat adequado em qualquer parte do mundo. Geralmente é assumido que as espécies da Subclasse Bdelloidea são cosmopolitas (Fontaneto et al., 2006).

As espécies do gênero *Philodina* têm características biológicas que prontamente as recomendariam como um organismo-teste (Buikema et al., 1974; Hagen et al., 2009, 2010; Allinson et al., 2011): são pequenos, se reproduzem unicamente por partenogênese, tem alta fecundidade e ciclo de vida curto. Assim é possível obter um grande número de indivíduos para bioensaios com o mínimo de problemas, tempo e despesas e por clonagem é possível obter milhares de animais geneticamente uniformes em um curto período de tempo. Além de serem de fácil obtenção e elevada representatividade, por serem encontrados em uma grande variedade de habitats, incluindo o fundo de lagos, lagoas, pântanos, rios, córregos e nascentes. Estão também presentes em musgos e líquens, em poças de água em sarjetas, serapilheira ou no solo e até em tanques de estações de tratamento de esgoto (Wallace e Snell, 2010).

O objetivo do presente estudo foi o de obter informações detalhadas sobre o ciclo de vida de *Philodina roseola* incluindo o desenvolvimento embrionário e pós-embrionário, a idade da primípara, tempo de geração, a longevidade, a taxa de crescimento e fecundidade individual visando contribuir para estudos de produção secundária de ecossistemas de água doce no Brasil e outros países onde esta espécie ou espécies semelhantes ocorram. Estas informações detalhadas são muito importantes para o estabelecimento de critérios a serem utilizados em ensaios ecotoxicológicos e estabelecimento de metodologias de cultivo em larga escala voltadas para sua utilização como alimento vivo de larvas de peixes em piscicultura.

2. Materiais e Métodos

*2.1. Manutenção da cultura - estoque de *Philodina roseola**

Philodina roseola Ehrenberg, 1830 (Rotifera, Bdelloidea) foi coletada em tanques experimentais de fibra de vidro, com 10.000 L de capacidade, localizado na Universidade Federal de São Carlos, São Carlos, São Paulo – Brasil (21°98' -31°25'S e 47°87' - 81°21'W). Os indivíduos de *P. roseola* foram coletados com rede de plâncton com 68 µm de abertura de

malha. O material foi armazenado em frascos de polietileno, triado e identificado com base nas descrições de Koste e Terlutter (2001) para a separação de indivíduos desta espécie.

Para o cultivo foi utilizada água reconstituída preparada de acordo com os procedimentos recomendados pela Sociedade Americana de Testes e Materiais (ASTM, 2001). A água reconstituída foi preparada com 0,03 g L⁻¹ CaSO₄.2H₂O, 0,061 g de L⁻¹ de MgSO₄.7H₂O, 0,048 g de L⁻¹ de NaHCO₃, e 0,002 g L⁻¹ de KCl dissolvidos em 1 L de água destilada e de acordo com as recomendações da ABNT (2005), com as seguintes características: pH entre 7,0 e 7,8; dureza entre 40 e 48 mg CaCO₃ L⁻¹ e condutividade elétrica de 160 µS cm⁻¹.

As culturas-estoque, com grande densidade deste rotífero (valor médio de 116 ind. mL⁻¹) foram mantidos em béqueres de 50 a 250 mL e estes foram mantidos em incubadora com temperatura controlada a 25 ± 1°C, com fotoperíodo de 16h claro: 8h escuro. Para evitar a evaporação do meio de cultura, os béqueres foram lacrados com filme de plástico e a manutenção das culturas foi realizada de acordo com os procedimentos propostos por Hagen et al. (2009), a cada 76 horas, quando eram renovadas a água e o alimento. Os indivíduos de *P. roseola* foram alimentados com suspensão algácea de *Raphidocelis subcapitata*, cultivada em meio CHU-12 (Müller, 1972), na concentração de 1 x 10⁵ células mL⁻¹.

O presente estudo foi realizado por cultivo individual, cada organismo foi cultivado em 3,0 mL de meio de cultura, em vidros de relógio (90 mm de diâmetro) mantidos em placas de Petri (110 x15mm) para evitar a evaporação do meio. Os meios de cultura foram preparados com água reconstituída e renovados a cada dia. As observações dos animais foram realizadas sob microscópio estereoscópico em aumento de 50 vezes e estes foram manuseados cuidadosamente por meio de pipetas Pasteur.

2.2. Desenvolvimento embrionário

A duração do desenvolvimento embrionário de *Philodina roseola* foi determinado observando-se as principais transformações que ocorrem na progênie a partir da formação dos ovos nas fêmeas. Além disso, a duração de cada fase do desenvolvimento embrionário (em horas) foi medido. O método utilizado foi o seguinte: fêmeas sexualmente imaturas foram separadas a partir dos cultivos-estoque, em vidros de relógio contendo meio de cultura. Quando estavam prontas para produzir ovos (ou seja, pouco antes da primípara), 9 fêmeas foram colocadas individualmente em vidros de relógio contendo 3 mL de meio de cultura.

2.3. Desenvolvimento pós-embriológico

Nove recém-nascidos foram colocados individualmente em 3 mL de meio de cultura em vidros de relógio (90 mm) e estes mantidos em placas de Petri (110 x15mm) sendo cultivados conforme descrito na seção Manutenção da cultura estoque de *Philodina roseola*. As medições foram feitas sob microscópio estereoscópico e escala micrométrica no sentido anteroposterior, portanto em relação ao comprimento do animal. O intervalo entre as medidas foi de 3 horas. Durante o experimento, o comprimento e a largura de cada um dos rotíferos foram medidos no momento do seu completo alongamento. As curvas de crescimento foram ajustados utilizando-se a equação de von Bertalanffy, sendo o parâmetro inicial obtido pela transformação de Ford-Walford (Sparre e Venema, 1998):

$$L_t = L_{\infty} [1 - e^{-K(t-t_0)}]$$

L_t = tamanho em um certo intervalo de tempo t , expresso em mm; L_{∞} = comprimento máximo, expresso em mm; K = constante relacionada com a taxa de crescimento; e = base de logaritmo neperiano; t_0 = parâmetro relacionado com o comprimento inicial dos indivíduos no nascimento (L_0), expresso em dias.

Para o cálculo da idade da primípara, computou-se o tempo decorrido desde o nascimento do neonato até sua primeira reprodução. As observações foram feitas em intervalos de 3 horas.

Para determinação da fecundidade, o número de ovos produzidos por cada fêmea foi contado diariamente e as observações foram feitas em intervalos de 6 horas, retirando-se das culturas os filhotes nascidos entre os períodos de observações. A longevidade ou duração máxima do ciclo de vida foi determinada computando-se o tempo desde o nascimento até a morte de cada indivíduo, por meio de observações variando entre 3 horas inicialmente e passando para 6 horas após ser verificada a estabilização do crescimento dos organismos.

3. Resultados

O crescimento individual de *Philodina roseola* foi analisado avaliando-se o comprimento médio de 9 fêmeas, em cada intervalo de observação. Os valores obtidos por medições diárias serviram de base para o traçado das curvas de crescimento em comprimento

de *P. roseola* para as condições estabelecidas. O tamanho de um rotífero recém-nascido foi em média de $198,77 \pm 25,88 \mu\text{m}$. Na Figura 1 é mostrada a variação do tamanho corporal de *P. roseola* ao longo do ciclo de vida desta espécie, podendo-se observar que o comprimento do corpo mudou substancialmente durante os primeiros dias de vida do organismo. A curva de crescimento pode ser descrita pela função logística, uma vez que após um rápido período exponencial, houve redução no crescimento, o qual aumentou lentamente até atingir o máximo valor assintótico. A partir do 4º dia foi observada a redução do crescimento. Entretanto, deve-se considerar que essa curva é representativa de indivíduos desenvolvendo-se em um meio com alimento abundante (*Raphidocelis subcapitata*) e temperatura favorável controlada de $25 \pm 1^\circ\text{C}$.

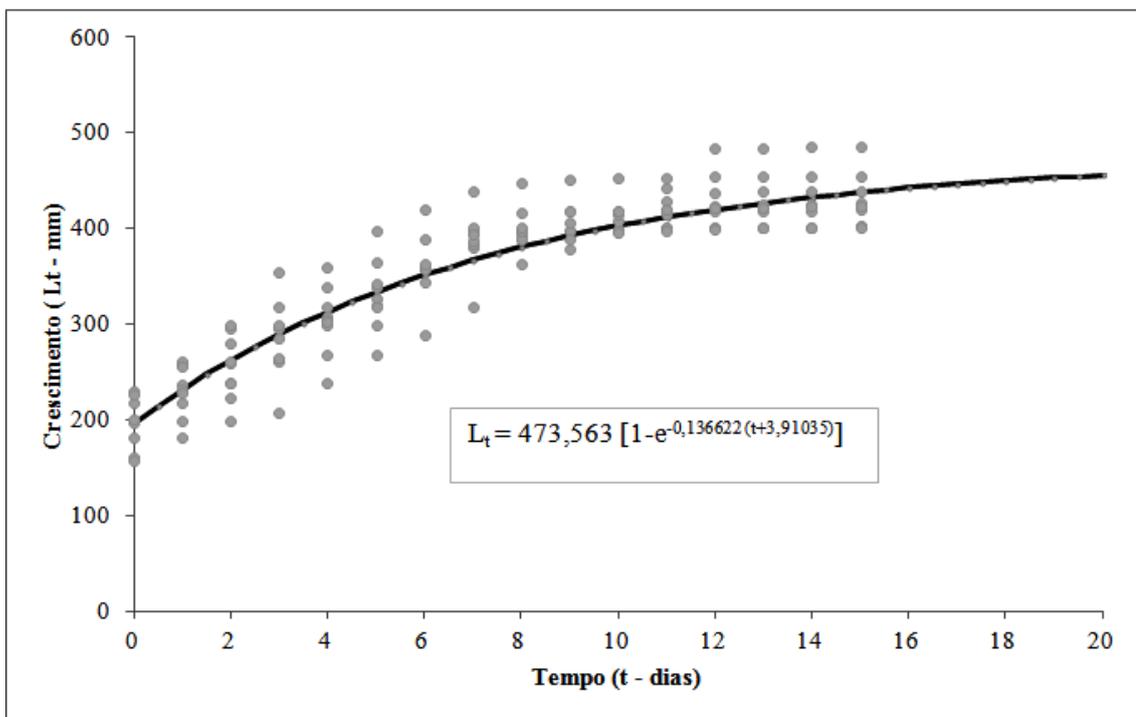


Figura 1: Curva de crescimento individual para *Philodina roseola* cultivada a $25 \pm 1^\circ\text{C}$, e alimentadas com a microalga clorofícea *Raphidocelis subcapitata* na concentração de 1×10^5 células mL^{-1} . Os pontos se referem aos valores obtidos para nove réplicas animais.

A duração do desenvolvimento embrionário de *Philodina roseola* correspondeu ao valor médio de $23,88 \pm 3,82$ horas. O valor da fecundidade média de uma fêmea e a fecundidade média total para nove fêmeas cultivadas pode ser encontrado na Tabela 1, assim como outros parâmetros analisados do ciclo de vida de *P. roseola*.

Tabela 1: Parâmetros do ciclo de vida (valores médios \pm desvio-padrão) do rotífero *Philodina roseola* cultivado em laboratório, nas condições controladas de $25 \pm 1^\circ\text{C}$, e alimentado com suspensão de *Raphidocelis subcapitata* a 10^5 células mL^{-1} .

Parâmetros do ciclo de vida	Valores
Tamanho médio do adulto (μm)	$429,96 \pm 28,12$
Tamanho médio do neonato (μm)	$198,77 \pm 25,88$
Tamanho médio da primípara (μm)	$395,56 \pm 19,44$
Tamanho mínimo da primípara (μm)	360,00
Fecundidade total (No. de ovos em toda a vida)	$22,33 \pm 2,29$
Fecundidade média (No. de ovos/fêmea)	$1,22 \pm 0,44$
Longevidade máxima (dias)	23,00
Longevidade média (dias)	$19,33 \pm 2,06$
Duração do desenvolvimento embrionário (horas)	$23,88 \pm 3,82$
Idade média da primípara (dias)	$3,5 \pm 3,11$

Os valores diários de fecundidade média durante todo o ciclo de vida de *P. roseola* são plotados na Figura 2. Nota-se que os maiores valores de fecundidade média observada foram quatro ovos por fêmea entre o 4° e 5° dia de vida.

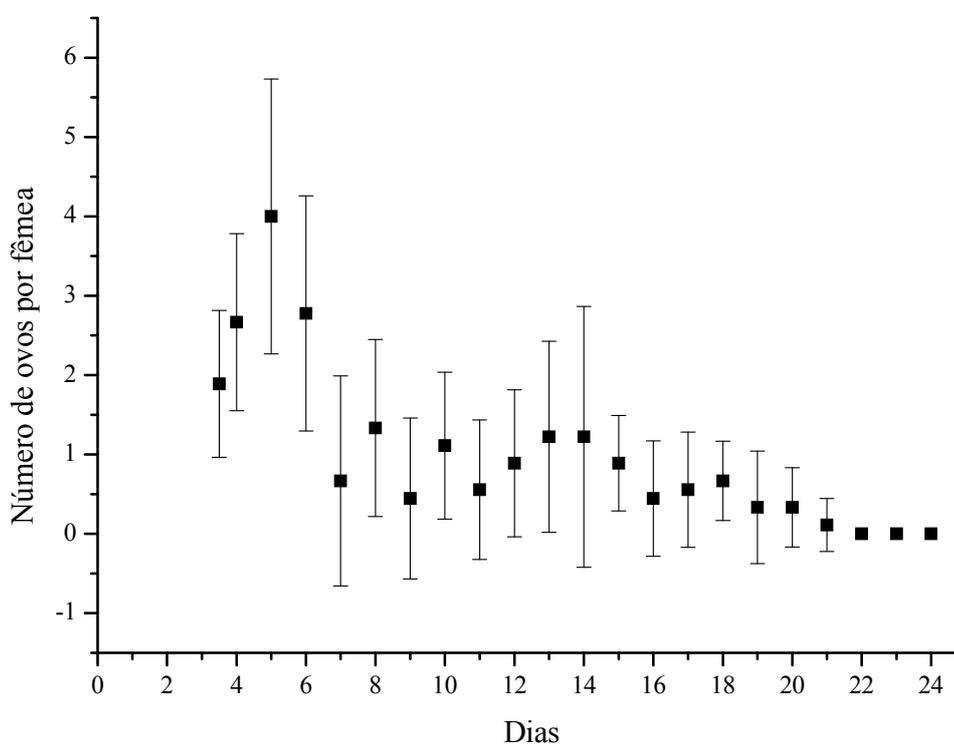


Figura 2. Fecundidade média de *Philodina roseola* durante o seu ciclo de vida, quando cultivada a $25 \pm 1,0^\circ\text{C}$. Os pontos representam os valores médios obtidos para nove indivíduos isolados.

4. Discussão

Philodina roseola pode ser considerada um micrometazoário de rápido desenvolvimento com base na taxa de crescimento e tempo para atingir o tamanho máximo. A desaceleração do crescimento somático coincidindo com o início da reprodução evidencia um dos tipos de barganha entre crescimento e reprodução que os micrometazoários frequentemente fazem em decorrência da baixa disponibilidade de energia, levando as espécies a alocar energia no crescimento do corpo até a primeira reprodução e depois disso, canalizarem toda a energia disponível para a reprodução (Snell e King, 1977). Com relação à estrutura corporal e ao crescimento de invertebrados do Filo Rotifera, estes possuem uma cavidade corporal preenchida por líquido, como todos os blastocelomados, intestino completo, epiderme sincicial, mas com um número pré-determinado de núcleos (eutelia), onde o crescimento nesses organismos ocorre apenas via volume de células (Ruppert e Barnes, 1996).

De acordo com Dumont (1987), algumas espécies investem em energia ao longo da vida e conseqüentemente tem baixa reprodução, enquanto outras investem na reprodução e assim tem um tempo de vida menor. Neste estudo, verificou-se que o crescimento da espécie estudada é rápido até o terceiro dia de vida, quando então atinge o estágio de primípara. Embora continue a crescer depois da primeira reprodução, *P. roseola* investe mais energia em reprodução do que em crescimento corporal e a taxa de crescimento é reduzida, em torno do 5º dia.

Lebedeva e Gerasimova (1985) afirmam que o efeito da temperatura sobre a duração do período reprodutivo e a produção de ovos por fêmea de *Philodina roseola* é evidente. Esses autores também acompanharam o desempenho reprodutivo durante todo o ciclo de vida desta mesma espécie e concluíram que este diferiu completamente entre baixas e altas temperaturas. Por exemplo, a 26 °C foi observado um aumento rápido da fecundidade, em torno do 5º. dia, a 14 °C foi observada baixa fecundidade, sem um período máximo pronunciado de produção de ovos. A reprodução foi inibida a 32 °C. Estes autores concluem que *P.roseola* tem uma grande tolerância a variações de temperatura, mas que o intervalo de temperatura de 20-26 °C deve ser considerado o ideal para o crescimento e reprodução da espécie e as faixas de temperaturas próximas a 14 e 32 °C como os limites mínimo e máximo para a tolerância térmica.

Uma comparação dos resultados do presente estudo e da literatura para a longevidade, fecundidade total, idade da primípara e temperatura de cultivo de várias espécies de rotíferos das Subclasse Monogononta e Bdelloidea são apresentados na Tabela 2. A idade da primípara de *Philodina roseola* foi a mesma que a observada para *Adineta vaga*, *Habrotrocha constricta* e *Macrotrachela inermis*, todas essas espécies da Subclasse Bdelloidea, tendo sido cultivadas em temperaturas próximas a 24 ± 1 °C.

Tabela 2. Comparação entre a duração da longevidade (dias), fecundidade total (número de ovos), idade da primípara (dias) e temperatura de cultivo de *Philodina roseola* obtidos no presente estudo com parâmetros disponíveis na literatura para outras espécies de Rotifera.

Espécie	Longevidade	Fecundidade total	Idade da primípara	Temperatura (°C)	Referência
Monogononta					
<i>Brachionus angularis</i>	5	-	-	20	Walz, 1987
<i>Brachionus calyciflorus</i>	11	-	-	20	Halbach, 1973
<i>Brachionus caudatus</i>	8	19	-	25	Athibai e Sanoamuang, 2008
<i>Brachionus plicatilis</i>	11	21	5 - 9	20	Korstad et al., 1989
<i>Encentrum linnhei</i>	12	-	-	22	Schmid-Araya, 1991
<i>Euchlanis dilatata</i>	7	-	-	20	King, 1967
<i>Euchlanis triquetra</i>	7	-	-	20	Lansing, 1947
<i>Keratella cochlearis</i>	9	-	-	20	Walz, 1987
<i>Lecana tenuiseta</i>	26	7	-	20	Hummon e Bevelhymer, 1980
Bdelloidea					
<i>Adineta vaga</i>	17	14	3	24	Ricci, 1983
<i>Embata laticeps</i>	27	20	4	24	Ricci, 1983
<i>Habrotrocha constricta</i>	38	21	3	24	Ricci, 1983
<i>Habrotrocha elusa vegeta</i>	32	22	2	24	Ricci, 1983
<i>Habrotrocha sylvestris</i>	40	26	4	24	Ricci, 1983
<i>Macrotrachela inermis</i>	31	24	3	24	Ricci, 1983
<i>Macrotrachela insolita</i>	76	22	9	24	Ricci, 1983
<i>Otostephanos torquatus</i>	45	10	7 - 8	24	Ricci, 1983
<i>Philodina roseola</i>	20	23	3	25	Presente estudo
<i>Philodina roseola</i>	27	35	3	24	Ricci, 1983
<i>Philodina vorax</i>	22	13	6	22	Ricci e Fascio, 1995

Pode-se observar na Tabela 2 que em comparação com as espécies da Subclasse Monogononta, a longevidade das espécies de Bdelloidea tem maior duração, exceto para a espécie *Lecane tenuiseta*. Para os rotíferos da Subclasse Bdelloidea, cultivadas em condições

de laboratório, o ciclo de vida é em torno de 30 dias, durante o qual elas produzem em média cerca de 20-35 ovos (Ricci, 1983). Já a expectativa de vida no campo é desconhecida. Em resposta aos distúrbios (por exemplo, evaporação da água) os bdelloides podem entrar em anidrobiose, e retomar à atividade quando as condições do habitat se tornarem novamente apropriadas. A taxa de recuperação depende da espécie (Ricci, 1998), da duração do período de dessecação (Caprioli e Ricci, 2001) e da idade dos rotíferos (Ricci, 1987; Örstan, 1995; Orsenigo et al., 1998). Em qualquer caso, a dormência representa um período “cego” na vida dos bdelloides, porque eles vão retomar o ciclo de vida sem considerar o tempo que passaram em dormência.

Para a maioria dos rotíferos da Subclasse Monogononta completam seu ciclo de vida em uma faixa de 5 a 12 dias, em média, em temperaturas variando entre 20 e 25 °C, sendo assim de curta duração. Eles ocorrem de forma consistente no plâncton de lagos (Edmondson, 1959; Nogrady et al., 1993; Shiel et al., 1998), muitas espécies habitam o fundo (Schmid-Araya, 1998; Ricci e Balsamo, 2000) e também o perifíton (Duggan, 2001), tanto de habitats aquáticos lênticos como lóticos.

Ricci (2001) acredita que as formas de dormência dos rotíferos podem estar relacionadas com a variação temporal dos seus ambientes, além da sua biologia e ecologia. Os Monogononta normalmente tem ciclo de vida de curta duração, com o ciclo de vida em ambientes chamados de granulação grossa, aos quais são incertos ou imprevisíveis (Levins, 1968). Suas histórias de vida são caracterizadas por um maior esforço reprodutivo inicial em detrimento de maior longevidade. Por outro lado os Bdelloidea tem longevidade 2 a 3 vezes maior que a dos Monogononta, vivem nos chamados ambientes de granulação fina, mais previsíveis e podem se transformar em formas quiescentes de curto prazo, diretamente, em resposta à perturbação ambiental (Ricci, 1983). Os dados obtidos do cultivo em laboratório sugerem que *P. roseola* se enquadra nesta última categoria, seguindo o padrão típico dos Bdelloidea.

A qualidade e a quantidade de alimentos são fatores que controlam produção secundária em ecossistemas aquáticos (Santos et al., 2010) e um aumento da disponibilidade de alimentos aumenta a produção de ovos (Santos et al., 2006). De acordo com Sarma et al. (2005), nas regiões tropicais a maior disponibilidade de alimento e temperaturas mais elevadas do que em regiões temperadas favorecem os Rotifera, que estão presentes na maioria dos habitats de água doce e são frequentemente o grupo de maior importância para a

produção secundária da comunidade zooplanctônica em virtude de seu curto tempo de geração e dominância numérica (Starkweather, 1987; Walz, 1997; Wallace, 2002, Wallace e Snell, 2010), apesar de reduzida biomassa instantânea (Ruttner-Kolisko, 1974).

A maior parte do conhecimento sobre a biologia e ecologia de rotíferos é principalmente baseada em estudos de rotíferos planctônicos em zonas temperadas, e é consideravelmente pouco o conhecimento sobre as características de rotíferos de outras regiões ou habitats (Ricci, 2001). Acreditamos que mesmo espécies consideradas cosmopolitas como *P. roseola* podem ter estratégias e histórias de vida muito diferentes dependendo de características particulares de seus habitats, ou a imprevisibilidade dos mesmos e que o estudo das espécies deve se estender além do laboratório para os ambientes naturais, especialmente nos corpos de água doce tropicais onde são na maioria das vezes dominantes.

Referências

- ABNT - Associação Brasileira de Normas Técnicas, 2005. *Ecotoxicologia aquática - Toxicidade crônica – Método de ensaio com Ceriodaphnia spp. (Crustacea, Cladocera)*. NBR 13373. Rio de Janeiro, 15 p.
- ALLINSON, G., HAGEN, T., SALZMAN, S., WIGHTWICK, A. and NUGEGODA, D., 2011. Effect of increasing salinity on the acute toxicity of a commercial endosulfan formulation to the bdelloid rotifer *Philodina acuticornis odiosa*. *Environmental Toxicology and Chemistry*, vol. 93, no. 4, p. 722-728.
- ASTM - American Society for Testing and Materials, 2001. *Standard guide for conducting acute toxicity testing on test materials with fishes, macroinvertebrates, and amphibians*. E729–E796. West Conshohocken, PA.
- ATHIBAI, S. and SANOAMUANG, L., 2008. Effect of temperature on fecundity, life span and morphology of long- and short-spined clones of *Brachionus caudatus* f. *apsteini* (rotifera). *International Review of Hydrobiology*, vol. 93, p. 690-699.
- BELL, G., 1987. *The Masterpiece of Nature: the Evolution and Genetics of Sexuality*. Berkeley: University of California Press. 635 p.
- BOTTRELL, HH., DUNCAN, A., GLIWICZ, ZM., HERZIG, A., HILLBRICHT-ILKOWSKA, A., KURASAWA, H., LARSSON, P. and WEGLENSKA, T., 1976. A review of some problems in zooplankton production studies. *Brow. Journal of Zoology*, vol. 24, p. 419-456.

- BUIKEMA, AL., CAIRNS, J. and GAIL SULLIVAN, W., 1974. *Development and assessment of acute bioassay techniques for the littoral rotifer, Philodina acuticornis: completion report*. Office of Water Resources Research Bulletin no. 71. Virginia Polytechnic Institute and State University, Virginia, USA.
- CAPRIOLI, M., KATHOLM, AK., MELONE, G., RAMLOV, H., RICCI, C. and SANTO, N., 2004. Trehalose in desiccated rotifers: a comparison between a bdelloid and a monogonont species. *Comparative Biochemistry and Physiology*, vol. 139, p. 527-532.
- DONNER, J., 1965. *Ordnung Bdelloidea*. Berlin: Akademie-Verlag.
- DUMONT, H.L., 1987. A population study of *Scapholeberis rammneri* Dumont and Pensaert (Cladocera:Daphniidae). *Hydrobiologia*, vol. 145, p. 275-284.
- FONTANETO, D., HERNIOU, E.A., BARRACLOUGH, T.G. and RICCI, C., 2007. On the Global Distribution of Microscopic Animals: New Worldwide Data on Bdelloid Rotifers. *Zoological Studies*, vol. 46, no. 3, p. 336-346.
- FORBES, V.E., OLSEN, M., PALMQVIST, A. and CALOW, P., 2010. Environmentally sensitive life-cycle traits have low elasticity: implications for theory and practice. *Ecological Applications*, vol. 20, no. 5, p. 1449-1455.
- FREITAS, E.C. and ROCHA, O., 2006. The life cycle of *Pseudosida ramosa*, Daday 1904, an endemic Neotropical cladoceran. *Acta Limnologica Brasiliensia*, vol. 18, no. 34, p. 293-303.
- GÜNTZEL, A.M., ROCHA, O. and MATSUMURA-TUNDISI, T., 2003. Life cycle of *Macrothrix flabelligera* Smirnov, 1992 (Cladocera, Macrothricidae) recently reported for the Neotropical region. *Hydrobiologia*, vol. 490, no. 1-3, p. 87-92.
- HAGEN, T., ALLINSON, G., WIGHTWICK, A. and NUGEGODA, D., 2009. Assessing the performance of a bdelloid rotifer *Philodina acuticornis odiosa* acute toxicity assay. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*, vol. 82, p. 285-289.
- HAGEN, T., ALLINSON, G., WIGHTWICK, A., SALZMAN, S. and NUGEGODA, D., 2010. Utilisation of a new bdelloid rotifer (*Philodina acuticornis odiosa*) assay to evaluate the effect of salinity on the toxicity of chlorothalonil. *Environmental Toxicology and Chemistry*, vol. 92, p. 743-748.
- HALBACH, U., 1973. Life table data and population dynamics of the rotifer *Brachionus calyciflorus* Pallas as influenced by periodically oscillating temperatures. In: WIESER, W. (ed.). *Effects of Temperature on Ectothermic Organisms*. Verlag: Springer.
- HUMMON, W.D. and BEVELHYMER, D.P., 1980. Life table demography of the rotifer *Lecane tenuiseta* under culture conditions, and various age distributions. *Hydrobiologia*, vol. 70, p. 25-28.
- KING, C.E., 1967. Food, age and the dynamics of a laboratory population of rotifers. *Ecology*, vol. 48, p. 111-128.

- KORSTAD, J., VADSTEIN, O. and OLSEN, Y., 1989. Feeding kinetics of *Brachionus plicatilis* fed *Isochrysis galbana*. *Hydrobiologia*, vol. 186/187, p. 43-50.
- KOSTE, W. and TERLUTTER, H., 2001. Die Rotatorienfauna einiger Gewässer des Naturschutzgebietes "Heiliges Meer" im Kreis Steinfurt. *Osnabrücker Naturwissenschaftliche Mitteilungen Band*, vol. 27, p. 113-117.
- KRIENITZ, L. and BOCK, C., 2011. SSU rRNA Gene Phylogeny of morphospecies affiliated to the bioassay alga "*Selenastrum capricornutum*" recovered the polyphyletic origin of crescent-shaped Chlorophyta. *Journal of Phycology*, vol. 47, p. 880-893.
- LANSING, A.I., 1947. A transmissible, cumulative and reversible factor in aging. *Journal of Gerontology*, vol. 2, p. 228-239.
- LEBEDEVA, L.I. and GERASIMOVA, T.N., 1985. Peculiarities of *Philodina roseola* (EHRBG.) (Rotatoria, Bdelloida) - Growth and Reproduction under Various Temperature Conditions. *Internationale Revue der gesamten Hydrobiologie und Hydrographie*, vol. 70, no. 4, p. 509-525.
- LEVINS, R., 1968. *Evolution in Changing Environments*. New Jersey: Princeton University Press.
- MARK WELCH, D.B. and MESELSON, M., 2000. Evidence for the evolution of bdelloid rotifers without sexual reproduction or genetic exchange. *Science*, vol. 288, p. 1211-1215.
- MARK WELCH, J.L., MARK WELCH, D.B. and MESELSON, M., 2004. Cytogenetic evidence for asexual evolution of bdelloid rotifers. *Proceedings of the National Academy of Sciences (USA)*, vol. 101, p. 1618-1621.
- MAYR, E., 1963. *Animal Species and Evolution*. Cambridge: Harvard University Press. p. 797
- MÜLLER, H., 1972. Wachstum and phosphatbedarf von *Nitzschia actinastroides* (Lemn.) v. Goor in statischer und homokontinuierlicher Kultur unter Phosphatlimitierung. *Archiv für Hydrobiologie (Suppl)*, vol. 38, p. 399-484.
- ÖRSTAN, A., 1995. A new species of bdelloid rotifer from Sonora, Mexico. *The Southwestern Naturalist*, vol. 40, p. 255-258.
- ORSENIGO, S., RICCI, C. and CAPRIOLI, M., 1998. The paradox of bdelloid egg size. *Hydrobiologia*, vol. 387/388, p. 317-320.
- RICCI, C., 1983. Life histories of some species of Rotifera Bdelloidea. *Hydrobiologia*, vol. 104, p. 175-180.
- RICCI, C. 1987. Ecology of bdelloids: How to be successful. *Hydrobiologia*, vol. 147, p. 117-127.

- RICCI, C. and FASCIO, U., 1995. Life-history consequences of resource allocation of two bdelloid rotifer species. *Hydrobiologia*, vol. 299, p. 231-239.
- RICCI, C., 1998. Anhydrobiotic capabilities of bdelloid rotifers. *Hydrobiologia*, vol. 387/388, p. 321-326.
- RICCI, C., MELONE, G. and WALSH, E.J., 2001. A carnivorous bdelloid rotifer, *Abrochtha carnivora* n. sp.. *Invertebrate Biology*, vol. 120, p. 136-141.
- RICCI, C. and CAPRIOLI, M., 2005. Anhydrobiosis on Bdelloid species, populations and individuals. *Integrative and Comparative Biology*, vol. 45, p. 759-793.
- RUPPERT, E. E. e BARNES, R.D., 1996. *Zoologia dos Invertebrados*. 6 ed. São Paulo: Ed. Roca. 1028 p.
- RUTTNER-KOLLISKO, A., 1972. III. Rotatoria. Das zooplankton der Binnengewässer. *Die Binnengewässer*, vol. 26, p. 99-234.
- SANTOS, M.A.P.F., MELÃO, M.G.G. and LOMBARDI, A.T., 2006. Life history characteristics and production of *Ceriodaphnia silvestrii* Daday (Crustacea, Cladocera) under different experimental conditions. *Acta Limnologica Brasiliensia*, vol. 18, no. 2, p. 199-212.
- SANTOS-WISNIEWSKI, M.J., ROCHA, O. and MATSUMURA-TUNDISI, T., 2006. Aspects of the Life Cycle of *Chydorus pubescens* Sars, 1901 (Cladocera, Chydoridae). *Acta Limnologica Brasiliensia*, vol. 18, no. 3, p. 305-310.
- SANTOS, RM., NEGREIROS, NF., SILVA, LC., ROCHA, O. and SANTOS-WISNIEWSKI, M.J., 2010. Biomass and production of Cladocera in Furnas Reservoir, Minas Gerais, Brazil. *Brazilian Journal of Biology*, vol. 70, p. 879-887.
- SARMA, S.S.S., NANDINI, S. and GULATI, R.D., 2005. Life history strategies of cladocerans: comparisons of tropical and temperate taxa. *Hydrobiologia*, vol. 542, p. 315-333.
- SCHAEFER, E.D. and PIPES, W.O., 1973. Temperature and the toxicity of chromate and arsenate to the rotifer *Philodina roseola*. *Water Research*, vol. 7, p. 1781-1790.
- SNELL, T.W. and KING, C.E., 1977. Lifespan and fecundity patterns of rotifers: the cost of reproduction. *Evolution*, vol. 31, p. 882-890.
- SPARRE, P. and VENEMA, SC., 1998. *Introduction to tropical fish stock assessment*. Rome: FAO Fisheries Technical Paper 306/1 Rev. 2. 408 p.
- STARKWEATHER, P.L., 1987. Rotifera. In: PANDIAN, TJ. and VERNBERG, FJ. (eds.), *Animal energetics*. Vol 1: *Protozoa through Insecta*, Orlando: Academic Press. p. 159-183.
- WALLACE, R.L. and SNELL, T.W., 1991. Rotifera. Chapter 8. In: THORP, J.H. and COVICH, A.P. (eds.). *Ecology and Classification of North American Freshwater Invertebrates*. New York: Academic Press. p. 187-248.

WALLACE, R.L., 2002. Rotifers: Exquisite Metazoans. *Integrative and Comparative Biology*, vol. 42, no. 3, p. 660-667.

WALLACE, R.L., SNELL, T.W., RICCI, C., and NOGRADY, T. 2006. Rotifera, Volume 1: Biology, Ecology and Systematics (2nd edn.). In: SEGERS, H. (ed.). *Guides to the Identification of the Microinvertebrates of the Continental Waters of the World*. Leiden: Kenobi Productions, Ghent and Backhuys Publishers.

WALLACE, R.L. and SNEL, T.W., 2010. Rotifera. Chapter 8. In: THORP, JH. and COVICH, AP. (eds.). *Ecology and classification of North American freshwater invertebrates*. Oxford: Elsevier. p. 173-235.

WALZ, N., 1987. Comparative population dynamics of the rotifers *Brachionus angularis* and *Keratella cochlearis*. *Hydrobiologia*, vol. 147, p. 209-213.

WALZ, N., 1997. Rotifer life history strategies and evolution in freshwater plankton communities. In: STREIT, B., STÄDLER, T. and LIVELY, CM. (eds.). *Evolutionary ecology of freshwater animals*. Basel: Birkhäuser Verlag, p. 119-149.

Capítulo 2: A produção secundária de *Philodina roseola* (Rotifera, Bdelloidea) cultivada em laboratório

Resumo

O objetivo desse trabalho foi quantificar a produção secundária da espécie *Philodina roseola* cultivada em laboratório. As variações no tamanho do corpo dos rotíferos e na reprodução foram individualmente determinadas para nove indivíduos. As medidas das dimensões lineares (comprimento total, largura e diâmetro) de partes do corpo foram realizadas após o nascimento dos indivíduos e acompanhadas ao longo do ciclo de vida dos mesmos. A biomassa ($\mu\text{g PS. ind}^{-1}$) foi estimada por meio do cálculo do biovolume corporal o qual foi determinado por meio de equações adequadas para as formas geométricas mais próximas ao formato das diferentes partes do corpo da espécie. A produção individual em crescimento corporal (Pg) foi determinada, assim como a produção reprodutiva (Pr). O comprimento médio do corpo do rotífero adulto ($429,96 \pm 28,12 \mu\text{m}$) foi cerca de duas vezes maior que o tamanho médio dos neonatos ($198,77 \pm 25,88 \mu\text{m}$). O aumento dos valores de biomassa em peso seco das diferentes fases de desenvolvimento, ocorreu na mesma proporção, sendo a biomassa do indivíduo neonato ($0,0104 \pm 0,0014$) aproximadamente a metade daquela do juvenil ($0,0254 \pm 0,0029$) e a da fase adulta ($0,0508 \pm 0,0071$) aproximadamente o dobro da biomassa do juvenil. Somando-se os resultados dos valores da produção corporal foi obtido o valor referente à produção corporal média da espécie ($0,042464 \pm 0,007242 \mu\text{g PS. ind}^{-1}$). A produção relativa ao aumento de biomassa corporal entre neonato e juvenil foi maior, correspondendo a 1,3 vezes o incremento ocorrido quando o indivíduo passou da fase juvenil para a fase adulta. A produção reprodutiva foi em média muito maior (5,8 vezes mais) do que a produção corporal, correspondendo assim a $84,68 \pm 3,65 \%$ do valor da produção total de *P. roseola*.

Palavras-chave: rotífero, crescimento, biomassa, reprodução, peso seco

1. Introdução

As determinações de biomassa e da produção secundária das diferentes populações do zooplâncton são indispensáveis para o conhecimento da produção orgânica dos ecossistemas aquáticos (Matsumura-Tundisi et al., 1989). Apesar do elevado número de trabalhos sobre a composição e abundância do zooplâncton, poucos são os estudos em que a biomassa e a produção das espécies individuais ou da comunidade toda são quantificadas (Culver et al., 1985; Bonecker et al., 2007). Soma-se a isso o fato de muitos trabalhos sobre a produtividade zooplanctônica abrangerem somente cladóceros e copépodos, não considerando a importância de rotíferos na transferência de energia e ciclagem de nutrientes em ambientes aquáticos (Rossa et al., 2007).

Na maioria dos ambientes de água doce o grupo dos Rotifera é bastante diversificado e usualmente inclui diversas associações congênicas (Matsumura-Tundisi et al., 1990), sendo um dos mais representativos em lagos e reservatórios nos ecossistemas de água doce de todo mundo (Segers et al., 1993; Rocha et al., 1995; Bozelli, 2000; Sharma e Sharma, 2012). Os Rotifera geralmente representam uma menor proporção da biomassa da comunidade, quando comparados com a biomassa de outros grupos como os Cladocera e Copepoda. No entanto, os rotíferos geralmente possuem maiores taxas de renovação (“turnover rates”) do que estes outros grupos e em alguns ambientes podem ser mais representativos não só numericamente, mas também em relação à biomassa e produção secundária (Makarewicz e Likens, 1979; Pace e Orcutt, 1981; Hernroth, 1983).

Os organismos pertencentes ao filo Rotifera são importantes componentes dos ambientes aquáticos porque suas taxas de reprodução encontram-se entre as mais rápidas dos metazoários, devido à alternância de reprodução sexuada e assexuada, além da existência de espécies com reprodução exclusivamente partenogenética e curtos períodos de desenvolvimento (Herzig, 1983). São eficazes filtradores de partículas orgânicas em suspensão, principalmente de algas e bactérias (Havens, 1991; Arndt, 1993; Gilbert e Jack, 1993) e são presas de muitos predadores como turbelários, larvas e ninfas de insetos, copépodos Cyclopoida e larvas de peixes (Polgar e Souza, 1981; Setzler -Hamilton et al., 1981; Williamson, 1983; Stoecker e Egloff, 1987; Telesh, 1993; Conde - Porcuna e Declerck, 1998) . Desta maneira, eles podem colonizar ambientes vagos com extrema rapidez, e converter a produção primária em uma forma utilizável para outros consumidores

secundários, podendo chegar a produzir 30 % do total da biomassa planctônica (Nogrady et al., 1993).

Muitos estudos sobre a produção secundária do zooplâncton foram publicados em 1970 e 1980, com o objetivo geral de rever e sistematizar as técnicas utilizadas na investigação sobre este tema (Winberg et al., 1971; Edmondson, 1974; Bottrell et al., 1976). Apesar das dificuldades de ordem prática, as estimativas de produtividade do zooplâncton são importantes a fim de avaliar o seu papel no funcionamento nos ambientes aquáticos. Para os Rotifera, vários fatores podem determinar as diferenças observadas nos valores de biomassa obtidos para uma dada espécie, particularmente quando são estudadas as populações *in situ*, desde o método de preservação das amostras, até as características próprias dos indivíduos devido aos fatores físicos e químicos do ambiente, como a concentração de nutrientes, a temperatura, a qualidade, a quantidade de alimento e a pressão de predação, dentre outros (Rossa et al., 2007).

Desta maneira, os objetivos do presente trabalho foram quantificar a biomassa e a produção secundária das principais fases de desenvolvimento da espécie *Philodina roseola* Ehrenberg, 1830 (Rotifera, Bdelloidea), para indivíduos cultivados em laboratório, sob condições controladas de temperatura e quantidade de alimento.

2. Materiais e métodos

*2.1. Manutenção da cultura estoque de *Philodina roseola**

Philodina roseola Ehrenberg, 1830 (Rotifera, Bdelloidea) foi coletada no plâncton que naturalmente se desenvolve em tanques de fibra de vidro, com 10.000 L de capacidade, mantidos na Estação de Aquicultura da Universidade Federal de São Carlos, São Carlos, SP, Brasil (21°98'-31°25'S e 47°87'-81°21'W). Amostras de zooplâncton foram coletadas com rede de plâncton de 68 µm de abertura de malha, temporariamente armazenadas em frascos de polietileno, de onde os indivíduos de *P. roseola* foram isolados e identificados com base nas descrições de Koste e Terlutter (2001).

O meio para o cultivo foi a água reconstituída preparada de acordo com os procedimentos recomendados pela Sociedade Americana de Testes e Materiais (ASTM, 2001), sendo constituída de 0,03 g L⁻¹ CaSO₄.2H₂O, 0,061 g de L⁻¹ de MgSO₄.7H₂O, 0,048 g de L⁻¹ de NaHCO₃, e 0,002 g L⁻¹ de KCl dissolvidos em 1 L de água destilada e ajustada

para apresentar, de acordo com as recomendações da ABNT (2005), as seguintes características: pH entre 7,0 e 7,8; dureza entre 40 e 48 mg CaCO₃ L⁻¹ e condutividade elétrica de 160 µS cm⁻¹.

Cultivos-estoque, com grande densidade deste rotífero (valor médio de 116 ind. mL⁻¹) foram mantidos em béqueres de 50 a 250 mL, dentro de incubadora com temperatura constante de 25 ± 1°C e fotoperíodo de 16h claro: 8h escuro. Os béqueres foram lacrados com filme de plástico para evitar a evaporação do meio de cultura, e a manutenção das culturas foi realizada de acordo com os procedimentos propostos por Hagen et al. (2009), a cada 76 horas, quando eram então renovadas a água e o alimento. Os indivíduos de *P. roseola* foram alimentados com suspensão algácea de *Raphidocelis subcapitata*, cultivada em meio CHU-12 (Müller, 1972), na concentração de 1 x 10⁵ células mL⁻¹.

No presente estudo os cultivos experimentais para determinação da produção secundária foram individuais, sendo cada indivíduo cultivado em 3,0 mL de meio de cultura, em vidros de relógio de 90 mm de diâmetro, mantidos em placas de Petri de 110 x15mm, tampadas para evitar a evaporação do meio. As observações e medidas dos rotíferos foram realizadas sob microscópio estereoscópico em aumento de 50 vezes e estes foram manuseados cuidadosamente por meio de pipetas Pasteur. Os meios de cultura foram preparados com água reconstituída e renovados a cada dia.

2.2. Medidas de tamanho e cálculos da biomassa de *Philodina roseola*

As medidas das dimensões lineares dos organismos (9 réplicas) foram realizadas sob microscópio óptico com ocular micrometrada para diferentes partes do corpo. As medições foram feitas sob microscópio estereoscópico e escala micrométrica no sentido anteroposterior, portanto em relação ao comprimento do animal. O intervalo entre as medidas foi de 3 horas. O comprimento e a largura de cada um dos rotíferos foram medidos em instantes de seu completo alongamento.

Uma fórmula para cálculo do volume corporal foi estabelecida acoplando duas formas geométricas, um cilindro e um cone, como ilustrado na Figura 1. Com base nas dimensões lineares medidas e nesta fórmula foram calculados os biovolumes dos indivíduos neonatos, juvenis e adultos.

$$Vt = \frac{\pi}{4} [D1^2 \times h1 + \frac{h2}{3} (D1^2 + D1 \times D2 + D2^2)], \text{ onde:}$$

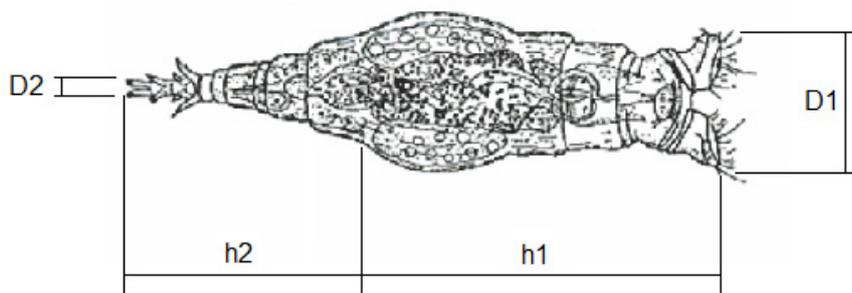


Figura 1: Representação esquemática da forma do corpo de *Philodina roseola* e dimensões lineares medidas para o cálculo do biovolume de um indivíduo.

Uma vez calculado o volume, este foi convertido em peso úmido assumindo-se a densidade específica de 1,0. Para conversão de peso úmido em peso seco foi utilizado o fator de conversão de 10%, como proposto por (Doohan, 1973 in Bottrell et al., 1976). As dimensões dos organismos são apresentadas em μm , o biovolume calculado, em μm^3 , e o peso úmido e o peso seco expressos em microgramas (μg).

2.3. Cálculos da produção secundária de *Philodina roseola*

A produção secundária alocada em crescimento (P_g) para os rotíferos juvenis foi determinada, pela subtração dos valores de peso seco do neonato do valor do peso seco do juvenil, sendo a diferença dividida pela duração do tempo de desenvolvimento da fase de neonato a juvenil (em horas). A produção foi posteriormente calculada e expressa em $\mu\text{g PS ind}^{-1} \text{ dia}^{-1}$. Similarmente a produção dos adultos foi determinada pela subtração do valor do peso seco do juvenil do peso seco do adulto, sendo a diferença dividida pela duração do tempo de desenvolvimento da fase de juvenil a adulto. O tempo médio correspondente à duração da fase de desenvolvimento de neonato-juvenil e de juvenil-adulto é de 15,0 e de 33,0 horas respectivamente. Somando-se os valores da produção em crescimento para cada fase de desenvolvimento (juvenil e adulto) foi encontrada o valor referente à produção secundária alocada em crescimento pela espécie.

A produção secundária alocada em reprodução ou produção de ovos (P_r) foi obtida por meio da quantificação do biovolume dos ovos, conversão do biovolume em peso fresco e

posteriormente em peso seco de maneira similar à realizada para a biomassa corporal. Para a determinação da biomassa dos ovos foram feitas medidas das dimensões lineares dos mesmos (largura e comprimento), tendo sido medidos 10 ovos. A fecundidade total de cada indivíduo experimental (9 repetições) foi determinada ao longo de todo o seu ciclo de vida. Para o cálculo da biomassa dos ovos foi utilizada a fórmula para a forma oval elipsóide:

$$\frac{4}{3}\pi r_1 r_2^2$$

Onde r_1 é a maior dimensão linear e r_2 a menor dimensão linear.

Uma vez calculado o biovolume, este foi convertido em peso úmido e posteriormente em peso seco da mesma forma que o biovolume corporal. A produção reprodutiva (Pr) da espécie foi obtida multiplicando-se o peso seco médio dos ovos, pelo número de ovos produzido ao longo da vida de cada indivíduo, dividido pelo tempo de desenvolvimento embrionário da espécie.

A produção secundária total para a espécie foi determinada, somando-se o valor médio obtido para a produção corporal, com o valor médio de produção reprodutiva para todo o ciclo de vida, expressa $\mu\text{g PS ind}^{-1} \text{ dia}^{-1}$.

3. Resultados

Na Tabela 1 estão apresentados os valores das dimensões lineares medidas e utilizadas na fórmula para o cálculo do biovolume de *Philodina roseola* dos 3 estágios de desenvolvimento da espécie (neonato, juvenil e adulto).

Tabela 1. Valores das dimensões lineares, biovolume (μm^3), biomassa em peso úmido (PU $\mu\text{g}\cdot\text{ind}^{-1}$) e em peso seco (PS $\mu\text{g}\cdot\text{ind}^{-1}$) para neonatos, juvenis e adultos de cada indivíduo de *Philodina roseola* cultivado (n=9), além dos valores médios e respectivos desvios-padrão para cada variável analisada.

Fase	Medidas usadas na fórmula				Volume (μm^3)	Biovolume (μm^3)	Biomassa PU ($\text{d}=1\text{g}\cdot\text{cm}^{-3}$) $\mu\text{g}\cdot\text{ind}^{-1}$	Biomassa PS (10% B. PU) $\mu\text{g}\cdot\text{ind}^{-1}$
	h2	h1	D1	D2				
	μm	μm	μm	μm				
Neonato	92,48	138,72	27,50	8,91	108546,95	108547	0,10854695	0,010854695
	80,10	120,00	25,92	9,22	84034,99	84035	0,08403499	0,008403499
	87,68	131,52	28,20	10,25	109390,00	109390	0,10939000	0,010939
	79,88	119,82	30,15	8,80	111367,09	111367	0,11136709	0,011136709
	65,36	98,04	29,40	10,35	88343,28	88343	0,08834328	0,008834328
	73,64	110,46	30,42	9,51	105300,04	105300	0,10530004	0,010530004
	81,00	121,57	28,33	9,45	100924,00	100924	0,10092400	0,0100924
	64,50	96,00	31,56	9,81	98220,68	98221	0,09822068	0,009822068
	91,52	137,28	30,80	8,95	133476,90	133477	0,13347690	0,01334769
Média e Desvio-padrão					104400,44 $\pm 14403,7$	104400 $\pm 14403,7$	0,10440044 $\pm 0,014404$	0,01044 $\pm 0,00144$
Juvenil	144,76	217,14	33,9	10,93	258047,08	258047	0,25804708	0,025804708
	136,36	204,54	35,44	11,32	264889,53	264890	0,26488953	0,026488953
	128,20	192,35	31,98	11,52	204596,60	204597	0,20459660	0,02045966
	123,88	185,82	39,51	10,87	295926,85	295927	0,29592685	0,029592685
	120,00	180,20	37,35	12,12	259176,21	259176	0,25917621	0,025917621
	122,56	183,84	38,20	12,45	277649,65	277650	0,27764965	0,027764965
	107,72	161,58	36,27	10,68	217246,64	217247	0,21724664	0,021724664
	96,00	144,50	40,26	11,77	238646,69	238647	0,23864669	0,023864669
	121,56	182,34	38,30	11,31	274592,28	274592	0,27459228	0,027459228
Média e Desvio-padrão					254530,17 $\pm 29427,16$	254530,17 $\pm 29427,16$	0,25453017 $\pm 0,029427$	0,025453 $\pm 0,002943$
Adulto	182,62	273,91	39,28	12,30	436000,86	436001	0,43600086	0,043600086
	161,45	242,10	45,45	13,30	512000,62	512001	0,51200062	0,051200062
	168,52	252,78	42,48	11,81	464445,33	464445	0,46444533	0,046444533
	161,48	242,22	48,63	13,36	583994,01	583994	0,58399401	0,058399401
	161,22	241,84	44,64	12,99	493009,97	493010	0,49300997	0,049300997
	176,48	264,72	46,22	13,91	580985,85	580986	0,58098585	0,058098585
	171,36	257,04	40,42	12,83	433269,47	433269	0,43326947	0,043326947
	194,88	292,32	45,70	11,95	621015,81	621016	0,62101581	0,062101581
	169,92	254,88	41,31	12,98	448429,45	448429	0,44842945	0,044842945
Média e Desvio-padrão					508127,93 $\pm 71001,18$	508128 $\pm 71001,18$	0,50812793 $\pm 0,071001$	0,050813 $\pm 0,0071$

Analisando-se a Tabela 1, observa-se que o tamanho médio em comprimento da espécie *Philodina roseola* quando adulto ($429,96 \pm 28,12$) foi duas vezes maior que o tamanho médio dos neonatos ($198,77 \pm 25,88$). Com relação os valores de biomassa (peso seco) das diferentes fases de desenvolvimento, ocorreu o aumento na mesma proporção (o

dobro) da fase do indivíduo neonato ($0,01044 \pm 0,00144$) para a fase juvenil ($0,025453 \pm 0,002943$) e de juvenil para a fase adulta ($0,050813 \pm 0,0071$).

Os valores obtidos para a biomassa dos ovos de *P.roseola* estão apresentados na Tabela 2.

Tabela 2. Valores das dimensões lineares dos ovos (comprimento e largura) utilizados para o cálculo do biovolume, biomassa em peso úmido, e biomassa em peso seco, número de ovos produzidos ao longo do ciclo de vida, tempo de desenvolvimento embrionário e produção reprodutiva de cada indivíduo de *Philodina roseola* cultivado (n=9), além dos valores médios e respectivos desvios-padrão para cada variável analisada.

Medidas usadas na fórmula		Biovolume (μm^3)	Biomassa PU ($\mu\text{g.ovo}^{-1}$)	Biomassa PS ($\mu\text{g PS.ovo}^{-1}$)	Nº de ovos	Tempo de des. emb. (horas)	Produção reprodutiva ($\mu\text{gPS.h}^{-1}$)	Produção reprodutiva ($\mu\text{gPS.d}^{-1}$)
Comp. (μm)	Larg. (μm)							
69	41	102207	0,102207	0,0102207	20	29	0,0070488	0,16917
70	40	102625,4	0,102625	0,010262536	24	23	0,0107087	0,25701
70	41	105191	0,105191	0,010519099	23	27	0,0089607	0,215057
71	40	105578,5	0,105578	0,010557846	20	20	0,0105578	0,253388
71	40	105578,5	0,105578	0,010557846	26	26	0,0105578	0,253388
72	40	108573,4	0,108573	0,010857344	22	20	0,0119431	0,286634
72	40	108573,4	0,108573	0,010857344	24	18	0,0144765	0,347435
71	39	102939	0,102939	0,0102939	19	27	0,0072439	0,173853
71	40	105578,5	0,105578	0,010557846	23	25	0,0097132	0,233117
Média e Desvio-padrão		105205 $\pm 2342,222$	0,105205 $\pm 0,002342$	0,01052 $\pm 0,000234$	22,33333 $\pm 2,291288$	23,88889 $\pm 3,822448$	0,0101345 $\pm 0,002298$	0,243228 $\pm 0,055151$

As estimativas da produção secundária total ao longo do ciclo de vida de *P.roseola* são apresentadas na Tabela 3.

Tabela 3. Valores de biomassa do peso seco (PS) para as fases de desenvolvimento neonato, juvenil e adulto. As diferenças em produção corporal entre cada fase também estão representados, assim como os valores de produção total (produção corporal da espécie + produção reprodutiva) de *P.roseola*.

Biomassa (PS) neonato ($\mu\text{g ind}^{-1}$)	Biomassa (PS) juvenil ($\mu\text{g ind}^{-1}$)	Produção sec. neonato \rightarrow juvenil	Biomassa (PS) adulto ($\mu\text{g ind}^{-1}$)	Produção sec. juvenil \rightarrow adulto	Produção sec. em crescimento ($\mu\text{g ind}^{-1}\text{d}^{-1}$)	Produção reprodutiva ($\mu\text{g ind}^{-1}\text{d}^{-1}$)	Produção sec. Total ($\mu\text{g ind}^{-1}\text{d}^{-1}$)
0,010854695	0,025805	0,000997	0,0436	0,000539	0,036862	0,16917	0,206032
0,008403499	0,026489	0,001206	0,0512	0,000749	0,046908	0,25701	0,303918
0,010939	0,02046	0,000635	0,046445	0,000787	0,034131	0,215057	0,249188
0,011136709	0,029593	0,00123	0,058399	0,000873	0,05048	0,253388	0,303868
0,008834328	0,025918	0,001139	0,049301	0,000709	0,044339	0,253388	0,297727
0,010530004	0,027765	0,001149	0,058099	0,000919	0,049637	0,286634	0,336271
0,0100924	0,021725	0,000775	0,043327	0,000655	0,034322	0,347435	0,381757
0,009822068	0,023865	0,000936	0,062102	0,001159	0,050277	0,173853	0,22413
0,01334769	0,027459	0,000941	0,044843	0,000527	0,035221	0,233117	0,268338
Média e Desvio-padrão							
0,01044 $\pm 0,00144$	0,025453 $\pm 0,002943$	0,001001 $\pm 0,000203$	0,050813 $\pm 0,0071$	0,000768 $\pm 0,000198$	0,042464 $\pm 0,007242$	0,243228 $\pm 0,055151$	0,285692 $\pm 0,055185$

Observa-se que a produção secundária alocada em crescimento durante o período entre a fase de neonato a juvenil é maior do que o incremento ocorrido quando o rotífero passou da fase juvenil para a fase adulta. Também podemos perceber que a produção utilizada em crescimento corporal da espécie é menor (5,8 vezes) do que a alocada em reprodução.

4. Discussão

A qualidade e a quantidade de alimento representam os fatores mais importantes para o crescimento e reprodução dos rotíferos (Duncan, 1984; Stemberger e Gilbert, 1985; Galindo et al., 1993). Existem relações significativas entre a massa corporal dos rotíferos e as concentrações de alimentos ao qual foram expostos, tendo essa questão uma grande importância na interpretação dos resultados. Pilarska (1977), ao testar várias concentrações alimentares com o intuito de avaliar os efeitos sobre crescimento e produção de *Brachionus rubens*, concluiu que a faixa ótima de oferta alimentar a esse rotífero deve ser entre 0,4 a 1×10^6 cells mL^{-1} de *Chlorella vulgaris*. A mesma faixa também foi utilizada para *Brachionus calyciflorus* com a dieta alimentar de *Chlorella pyrenoidosa* (Halbach, Halbach-Keup, 1974). Em nossos estudos, acreditamos que o pressuposto de uma ótima alimentação foi cumprido,

tendo em vista que *P. roseola* foi alimentada com uma suspensão na concentração de 1×10^5 cells mL⁻¹ de *Raphidocelis subcapitata* uma alga com biovolume aproximadamente 3 vezes maior ($17,8 \mu\text{m}^{-3}$) do que *Clorella vulgaris* ($5,2 \mu\text{m}^{-3}$).

Informações referentes à biomassa e produção secundária de rotíferos cultivados em laboratório são muito escassas. A disponibilidade de dados sobre a biomassa é um pouco maior do que para a produção podendo ser citados alguns valores para as espécies mais comuns: *Keratella cochlearis*, 0,07 a 0,3 μg (Dumont et al., 1975); *Kellicottia longispina*, 0,04 a 0,1 μg (citado em Margalef, 1983); *Brachionus* sp., 0,11 a 0,4 μg (Doohan, 1975); *Polyarthra* sp., 0,10 a 0,3 μg (Dumont et al., 1975); *Conochilus*, *Conochiloides*, 0,10 μg (citado em Margalef, 1983); *Asplanchna* sp., 0,2 a 6,0 μg (Salonen e Latja, 1988) e *Ploeosoma hudsoni* 1,8 a 2,0 μg (citado em Margalef, 1983). Para produção secundária em organismos cultivados em laboratório uma investigação detalhada da bionomia de *Brachionus rubens* incluindo a avaliação da produção, foi realizada por Pilarska (1977) a qual reportou o valor médio de 0,06199 $\mu\text{g PS ind}^{-1}\text{dia}^{-1}$ (valor recalculado a partir de dados de produção expressos em unidades de energia) para indivíduos alimentados com *Chlorella vulgaris* na concentração de 10^6 mL⁻¹.

Com relação à produção secundária alocada em crescimento observou-se que durante o período entre a fase de neonato a juvenil o incremento de biomassa foi 1,3 vezes maior do que o incremento ocorrido quando o rotífero passou da fase juvenil para a fase adulta. Comparando-se a produção utilizada em crescimento corporal da espécie com a alocada em reprodução por *P. roseola*, verificou-se que uma fração muito maior ($84,68 \pm 3,65 \%$) foi canalizada para a reprodução do que para o crescimento corporal. A desaceleração do crescimento somático dessa espécie coincidindo com o início da reprodução evidencia um dos tipos de barganha energética entre crescimento e reprodução que os micrometazoários frequentemente realizam, canalizam mais energia no crescimento do corpo até a primeira reprodução e depois disso, alocam matéria e energia armazenada para a reprodução (Snell e King, 1977).

Para rotíferos do lago Constance na Alemanha, Pauli (1989) comparou valores de biovolume dos ovos e do corpo de 12 espécies de Rotifera, obtidos com base na forma geométrica das espécies e com a biomassa obtida por pesagem direta. Para *Brachionus calyciflorus*, o peso seco variou de 2,2 a 5,7% do peso fresco, para *Keratella cochlearis* de 24,2 a 27,7%, para *Polyarthra vulgaris* de 8,7 a 12,2%, para *Trichocerca pusilla* de 24,2 a

27,7% e para *Filinia terminalis* de 9,2 a 12,7%. Com estes dados e também com os obtidos no presente estudo constata-se que, os valores estimados de biovolume e de biomassa tem elevada variabilidade que provavelmente inclui a variabilidade natural dos indivíduos dentro da população e também um componente de erro nas determinações. Desta maneira, maior precisão para as informações sobre a biomassa e produção secundária é importante para uma avaliação mais realística acerca da contribuição desses pequenos componentes do plâncton para a produtividade global dos ecossistemas aquáticos.

Em ambientes de água doce, naturais ou artificiais, a biomassa de rotíferos tende a variar amplamente em curtos intervalos de tempo ou de distância (Steele e Frost, 1977). Podendo estar relacionadas às diferenças no peso dos organismos de acordo com o grau de trofia do ambiente (Andrew e Fitzsimons, 1992). Os valores reportados para sistemas de diferentes graus de trofia sugerem que a produção dos Rotifera está diretamente relacionada com o estado trófico do sistema, sendo que ambientes mais eutróficos apresentam maior biomassa e produção do que os sistemas oligotróficos. Assim, estudos sobre produtividade secundária em laboratório com desenhos experimentais que contemplem combinações destes fatores poderão auxiliar na elucidação da transferência de matéria e energia dentro da comunidade dos ecossistemas aquáticos e no entendimento de sua própria organização. Conhecê-la é, portanto, necessário.

Referências

- ABNT - Associação Brasileira de Normas Técnicas, 2005. *Ecotoxicologia aquática - Toxicidade crônica – Método de ensaio com Ceriodaphnia spp. (Crustacea, Cladocera)*. NBR 13373. Rio de Janeiro, p 15.
- ALLAN, J. D., KINSEY, T. G. and JAMES, M. C., 1976. Abundance and production of copepods in the Rhode River subestuary of Chesapeake Bay. *Chesapeake Science*, vol. 17, p. 86–92.
- ANDREW, T. E. and FITZSIMONS, A. G., 1992. Seasonality, population dynamics and production of planktonic rotifers in Lough Neagh, Northern Ireland. *Hydrobiologia*, vol. 246, p. 147–164.
- ARNDT, H., 1993. Rotifers as predators on components of the microbial food web (bacteria, heterotrophic flagellates, ciliates) — a review. *Hydrobiologia*, vol. 255/256, p. 231–246.

- ASTM - American Society for Testing and Materials, 2001. *Standard guide for conducting acute toxicity testing on test materials with fishes, macroinvertebrates, and amphibians*. E729–E796. West Conshohocken, PA.
- BONECKER, C.C., NAGAE, M.Y., BLETLER, M.C.M., VELHO, L.F.M. and LANSAC-TÔHA, F.A., 2007. Zooplankton biomass in tropical reservoirs in Southern Brazil. *Hydrobiologia*, vol. 579, no. 1, p. 115-123.
- BOZELLI, R. L., 2000. Zooplâncton. In Bozelli, R. L., Esteves, F. A. and Roland, F. (Eds.). *Lago Batata: impacto e recuperação de um ecossistema amazônico*. Rio de Janeiro: IB-UFRJ; SBL p. 119-138.
- CONDE-PORCUNA, J. M. and DECLERCK, S., 1998. Regulation of rotifer species by invertebrate predators in a hypertrophic lake: selective predation on egg-bearing females and induction of morphological defenses. *Journal of Plankton Research*, vol. 20, p. 605–618.
- CULVER, D. A., BOUCHERLE, M. M., BEAN, D. J. and FLETCHER, J. W., 1985. Biomass of freshwater crustacean zooplankton from length-weight regressions. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, vol. 42, p. 1380-1390.
- DEWEY, J.M., 1976. Rates of feeding, respiration, and growth of the rotifer *Brachionus plicanlis* and the dinoflagellate *Noctiluca miliaris* in the laboratory. *Ph.D. thesis*, University of Washington.
- DOLAN, J. R. and GALLEGOS, C. C., 1992. Trophic role of planktonic rotifers in the Rhode River Estuary, spring-summer 1991. *Marine Ecology Progress Series*, vol. 85, p. 187–199.
- DOOHAN, M. and RAINBOW, V., 1971. Determination of dry weights of small Aschelminthes. *Oecologia (Berlin)*, vol. 6, p. 380-383.
- DOOHAN, M., 1973. An energy budget for adult *Brachionus plicatilis* Muller (Rotatorial). *Oecologia (Berlin)*, vol. 13, p. 351-362.
- DUMONT, H. J., DE VELDE, I. and DUMONT, S., 1975. The dry weight estimate of biomass in a selection of Cladocera, Copepoda and Rotifera from the plankton, periphyton and benthos of continental waters. *Oecologia (Berlin)*, vol. 19, p. 75-97.
- DUNCAN, A. and GULATI, R. D., 1983. *Feeding studies with natural food particles on tropical species of planktonic rotifers*, in: *Limnology of Parakrama Samundra*, Sri Lanka, pp. 117- 125. Ed. F, Schiemer. W. Junk Publishers, The Hague.
- EDMONDSON, W. T., 1974. Secondary production. *Mitteilungen. Internationale Vereinigung fuer Theoretische und Angewandte Limnologie*, vol. 20, p. 241-264.
- ERMAN, L. A., 1962. Nutrition and multiplication of the plankton rotifer *Brachionus calyciflorus* Palla in culture. *Doklady Akademii Nauk SSSR*, vol. 144, p. 926-929.
- GALINDO, M. D., GUISANDE, C. and TOJA, J., 1993. Reproductive investimento de várias espécies de rotíferos, *Hydrobiologia*, vol. 255/256, p. 317-324.

- GILBERT, J. J. and JACK, J. D., 1993. Rotifers as predators on small ciliates. *Hydrobiologia* vol. 255/256, p. 247–253.
- HAGEN, T., ALLINSON, G., WIGHTWICK, A. and NUGEGODA, D., 2009. Assessing the performance of a bdelloid rotifer *Philodina acuticornis odiosa* acute toxicity assay. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*, vol. 82, p. 285–9.
- HALBACH, U. and HALBACH-KEUP, G., 1974. Quantitative Beziehungen zwischen Phytoplankton und der Population dynamik des Rotators *Brachionus calyciflorus* Pallas. Befunde aus Laboratoriums-experimenten und Freilanduntersuchungen. *Archiv fuer Hydrobiologie*, vol. 73, p. 273-309.
- HAVENS, K. E., 1991. The importance of rotiferan and crustacean zooplankton as grazers of algal productivity in a freshwater estuary. *Archives of Hydrobiology*, vol. 122, p. 1–22.
- HERNROTH, L., 1983. Marine pelagic rotifers and tintinnids— important trophic links in the spring plankton community of the Gullmar Fjord, Sweden. *Journal of Plankton Research*, vol. 5, p. 835–846.
- HERZIG, A., 1983. Comparative studies on the relationship between temperature and duration of embryonic development of rotifers. *Hydrobiologia*, vol. 104, p. 237–246.
- KING, C. E., 1967. Food, age, and the dynamics of a laboratory population of rotifers. *Ecology*, vol. 48, p. 111-128.
- KOSTE, W. and TERLUTTER, H., 2001. Die Rotatorienfauna einiger Gewässer des Naturschutzgebietes “Heiliges Meer” im Kreis Steinfurt, *Osnabrücker Naturwissenschaftliche Mitteilungen Band*, vol. 27, p. 113-117.
- LATJA, R. and SALONEN, K., 1978. Carbon analysis for the determination of individual biomasses of planktonic animals. *Verhandlungen Internationale Vereinigung für Theoretische und Angewandte Limnologie*, vol. 20, p. 2556-2560.
- MAIA-BARBOSA, P.M., 2000. Ecologia de cinco espécies de cladóceros de um lago amazônico impactado por rejeito de bauxita (Lago Batata, Pará – Brasil). 2000, 218f. *Tese (Doutorado em Ciências Biológicas - Zoologia)* – Museu Nacional, Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro.
- MAKAREWICZ, J. C. and LIKENS, G. E., 1979. Structure and function of the zooplankton community of Mirror Lake, N.H. *Ecological Monographs*, vol. 49, p. 109-127.
- MARGALEF, R., 1983. *Limnologia Omega*, Barcelona.
- MATSUMURA-TUNDISI, T., 1986. Latitudinal distribution of Calanoida copepods in freshwater aquatic systems of Brazil. *Rev. Bras. Biol. Brazilian Journal of Biology*, vol. 46, no. 3, p. 527-553.

MATSUMURA-TUNDISI, T., RIETZLER, A. C. and TUNDISI, J. G., 1989. Biomass (dry weight and carbon content) of plankton Crustacea from reservoir (Sao Carlos, SP. Brazil) and its fluctuation across one year. *Hydrobiologia*, Belgium, vol. 179, p. 229-36.

MATSUMURA-TUNDISI, T., NEUMANN-LEITÃO, S., AGUENA, L.S. and MIYAHARA, J., 1990. Eutrofização da Represa de Barra Bonita: estrutura e organização da comunidade de Rotifera. *Rev. Bras. Biol. Brazilian Journal of Biology*, vol. 50, no. 4, p. 923-935.

MELÃO, M. G. G., 1999. *Desenvolvimento e aspectos reprodutivos de cladóceros e copépodos de águas continentais brasileiras*. In: POMPEO, M. L. M. (Ed.). *Perspectivas da limnologia no Brasil*. São Luiz, MA, p. 45-57.

MÜLLER, H., 1972. Wachstum and phosphatbedarf von *Nitzschia actinastroides* (Lemn.) v. Goor in statischer und homokontiuierlicher Kultur unter Phosphatlimitierung. *Archiv für Hydrobiologie – Supplement*, vol. 38, p. 399–484.

NOGRADY, T., WALLACE, R. L. and SNELL, T. W., 1993. Rotifera: biology, ecology and systematic. In: DUMONT, H. J. F. (Coord.). *Guides to the identification of the microinvertebrates of the continental waters of the world*. Netherlands: *SPB Academic Publishing*, vol.1, 142 p.

PACE, M. L. and ORCUTT, J. D. Jr., 1981. The relative importance of protozoans, rotifers, and crustaceans in a freshwater zooplankton community. *Limnology and Oceanography*, vol. 26, no. 5, p. 822-430.

PAULI, H. R., 1989. A new method to estimate individual dry weights of rotifers. *Hydrobiologia*, vol.186/197, p. 355-361.

PILARSKA, J., 1977. Eco-physiological studies on *Brachionus rubens* Ehrbg. (Rotatoria). II. Production and respiration. *Polskie Archiwum Hydrobiologii*, vol. 24, p. 329-341.

POLGAR, T. T. and SOUZA, P., 1981. Analysis of striped bass larval feeding habits in the Potomac estuary, 1976–1977. *Proceedings American Fisheries Society 5th Annual Meeting*, p. 115–138.

RIETZLER, A.C., ROCHA, O. e ESPINDOLA, E.L.G., 2004. *Produção secundária de espécies do zooplâncton da represa de Salto Grande, Estado de São Paulo*. In: ESPINDOLA, E. L.G. et al.; (Org.). *Reservatório de Salto Grande (Americana-SP): caracterização, impactos e propostas de manejo*. 1ª ed. São Carlos: RiMa, vol. 1, p. 199-219.

ROCHA, O., SENDACZ, S. and MATSUMURA-TUNDISI, T., 1995. *Composition, biomass and productivity of zooplankton in natural lakes and reservoirs of Brazil*. In *Limnology in Brazil* (J.B. Tundisi, C.E. Bicudo & T. Matsumura-Tundisi, eds.). ABC/SLB, Rio de Janeiro, p. 151-165.

ROSSA, D. C., LANSAC-TÔHA, F. A., BONECKER, C. C. and VELHO, L. F. M., 2001. Abundance of cladocerans in the littoral regions of two environments of the Upper Paraná

river floodplain, Mato Grosso do Sul, Brazil. *Rev. Bras. Biol. Brazilian Journal of Biology*, vol. 61, p. 45-53.

SEGERS, H, NWADIARO, C. S. and DUMONT, H.J., 1993. Rotifera of some lakes in the floodplain of the river Niger (Imo State, Nigeria). II. Faunal composition and diversity. *Hydrobiologia*, vol. 250, p. 63–71.

SHARMA, B. K. and SHARMA, S., 2012. Diversity of zooplankton in a tropical floodplain lake of the Brahmaputra river basin, Assam (Northeast India). *Opuscula Zoologica (Budapest)*, vol. 43, no. 2, p. 187–195.

SNELL, T.W. and KING, C. E., 1977. Lifespan and fecundity patterns in rotifers: the cost of reproduction. *Evolution*, vol. 31, p. 882-890.

SORANNO, L. A., CARPENTER, S. R. and HE, X., 1993. *Zooplankton biomass and body size*. In: CARPENTER, S. R. E KITCHCLL J. E. (eds.), *The trophic cascade in lakes*. Cambridge, Univ. Press. p. 172-188.

STEELE, J. H. and FROST, B. W., 1977. The structure of plankton communities. *Philosophical transactions of the Royal Society of London. Series B, Biological sciences*, vol. 280, p. 485-534.

STEMBERGER, R. S. and GILBERT, J. J., 1985. Body size, food concentration, and population growth in planktonic rotifers. *Ecology*, vol.66, p. 1151-1159.

SETZLER-HAMILTON, E., JONES, P., MARTIN, F., RIPPLE, K., MIHURSKY, J., DREWRY, G. and BEAVEN, M., 1981. Comparative feeding habits of white perch and striped bass larvae in the Potomac estuary. *Proceedings American Fisheries Society 5th Annual Meeting*, p. 139– 157.

STOECKER, D. K. and EGLOFF, D. A., 1987. Predation by *Acartia tonsa* Dana on planktonic ciliates and rotifers. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, vol. 110, p. 53–68.

TELESH, I. V., 1993. The effect of fish on planktonic rotifers. *Hydrobiologia*, vol. 255/256, p. 289–296.

TUNDISI, J. G., BICUDO, C. E. M. and MATSUMURA-TUNDISI, T., 1995. *Limnology in Brazil*. Rio de Janeiro: ABC/SBL, 384 p.

WILLIAMSON, C. E., 1983. Invertebrate predation on planktonic rotifers. *Hydrobiologia*, vol. 104, p. 385–396.

Capítulo 3: Taxas de filtração e ingestão da microalga clorofícea *Raphidocelis subcapitata* pelo rotífero *Philodina roseola*

Resumo

Informações sobre a alimentação das espécies zooplanctônicas são relevantes para o entendimento das interações tróficas entre as comunidades fito e zooplanctônicas e melhor entendimento sobre a dinâmica das populações. O objetivo do presente estudo foi quantificar em laboratório as taxas de filtração e ingestão do rotífero *Philodina roseola* Ehrenberg, 1830 (Bdelloidea), alimentado com *Raphidocelis subcapitata* em diferentes concentrações. O experimento consistiu na exposição de 10 adultos de *P. roseola* por tratamento nas seguintes concentrações nominais de *R. subcapitata*: 1×10^4 ; $0,5 \times 10^5$; 1×10^5 ; $0,5 \times 10^6$; 1×10^6 ; $0,5 \times 10^7$ e 1×10^7 células mL⁻¹ e sob condições controladas de temperatura (25 ± 1 °C). Os experimentos tiveram a duração de 1 hora e as concentrações iniciais e finais da suspensão algal foram quantificadas por contagem numérica das células em câmara de Neubauer. Não foram encontradas diferenças significativas entre as concentrações iniciais e finais de células nos controles indicando não ter ocorrido crescimento algal detectável durante o período experimental de 1 hora. As taxas de filtração de *P. roseola* variaram entre 2,715 e 6,615 mL ind⁻¹d⁻¹. Estes valores médios são elevados em comparação aos de outras espécies de rotíferos e microcrustáceos. Diferenças nas taxas de filtração ocorrem devido a fatores intrínsecos das espécies, mas principalmente devido à qualidade e concentração do alimento e à temperatura experimental. Considerando-se que os rotíferos possuem importante papel nos ciclos biogeoquímicos e na produtividade orgânica dos ecossistemas de água doce em decorrência de suas elevadas taxas metabólicas, as informações sobre a filtração, seu principal processo de aquisição de energia, são relevantes e necessitam ser ampliadas para outros tipos de alimento e combinações de condições experimentais.

Palavras-chave: Rotifera, interações tróficas, taxas de alimentação, fitoplâncton, zooplâncton.

1. Introdução

As interações entre as espécies das comunidades zooplancônicas e fitoplancônicas são um ponto central na ecologia do plâncton (Lampert e Taylor, 1985). Por causa de suas mútuas influências, essas interações são relevantes tanto na questão da dinâmica trófica quanto na estrutura dessas comunidades (Lehman, 1984). O zooplâncton tem pelo menos dois efeitos contrastantes sobre o fitoplâncton: a herbivoria, que reduz potencialmente a biomassa das algas palatáveis e, a excreção de nutrientes, que pode estimular o crescimento das algas pela disponibilização de nutrientes limitantes (Bergquist e Carpenter, 1986).

Segundo Brooks e Dodson (1965), as dietas dos animais filtradores varia de acordo com o tamanho, abundância, digestibilidade, bem como com a facilidade de encontrar os itens alimentares. Um grau de especificidade de espécies que ocorre entre os herbívoros pode levar à uma vantagem competitiva. Além do mais, alimentos com maior valor nutricional são melhores aproveitados, como as algas, que são mais assimiladas do que os detritos (Wetzel, 1975). Desta maneira, estudos sobre o comportamento filtrador são importantes porque podem levar ao estabelecimento de hipóteses sobre relações entre recursos alimentares e a dinâmica da comunidade zooplancônica (DeMott, 1985). A maioria dos trabalhos de filtração (Lampert, 1974; DeMott, 1982; Vanderploeg et al., 1984; Lampert e Brendelberger, 1996; Jeppesen et al., 2002) são realizados em baixas temperaturas, por isso torna-se importante estudos com organismos submetidos a altas temperaturas, que são encontradas nos países tropicais.

Os rotíferos ocupam posição relevante na cadeia alimentar de corpos d'água, participando ativamente no movimento de energia entre diferentes níveis tróficos (Armengol, 1980; Park e Marshall, 2000; Wetzel, 2001). São integrantes ativos da alça microbiana ao consumirem diretamente pequenas partículas orgânicas em suspensão (Pourriot, 1965) ou indiretamente, ao assimilarem substâncias orgânicas dissolvidas, e consumirem bactérias e protozoários (Arndt, 1993). Os rotíferos também são importantes organismos como itens alimentares na dieta dos estágios larvais iniciais de muitas espécies de peixes de água doce e de espécies estuarinas de camarão (Das et al., 2012). O alto valor nutricional dos rotíferos é de grande importância para a sobrevivência e crescimento das larvas de peixes. Dependendo da sua fonte de alimento, os rotíferos são constituídos por cerca de 52 a 59% de proteínas, por até 13 % de gorduras e por cerca de 3,1 % de n- 3 HUFA (Awais, 1992; Oie e Olsen, 1997). Os

ácidos graxos altamente insaturados (HUFA) são essenciais para a sobrevivência e crescimento das larvas de peixes (Whyte e Nagata, 1990).

Os rotíferos da Subclasse Bdelloidea alimentam-se por filtração ou raspagem de pequenos itens alimentares, como bactérias, algas unicelulares, leveduras ou matéria orgânica particulada (Ricci, 1984). Habitam as águas de ambientes lóticos e lênticos, bem como na fina película de água circundante de partículas do solo, além de musgos e líquens (Ricci et al., 2001). Os seus requisitos físicos e químicos não são bem conhecidos e os padrões de distribuição espacial e temporal de bdelloides são muitas vezes irregulares e, provavelmente, dependem diretamente das fontes alimentares (Ricci e Balsamo, 2000).

A microalga clorofícea *Raphidocelis subcapitata* (anteriormente denominada *Pseudokirchneriella subcapitata*, de acordo com Krienitz e Bock, 2011), foi a espécie selecionada como alimento para a realização dos bioensaios de filtração e ingestão no presente trabalho, por várias razões. É uma espécie facilmente disponível (a partir de coleções de culturas monoespecíficas e axênicas e mantida em laboratório sob condições de cultura facilmente reprodutíveis (Nalewajko e Olaveson, 1998). Essencialmente, *R. subcapitata* é uma das espécies de alga mais amplamente utilizadas e recomendadas para testes de toxicidade com organismos de água doce, para os quais já foram estabelecidas diretrizes padrão (OECD, 1984; Environment Canada, 1992; USEPA, 1994) atualmente aprovadas para fins de regulamentação (Lewis, 1990; Weyers et al., 2000). Além disso, um grande banco de dados sobre as respostas de *R. subcapitata* a uma variedade de contaminantes e sua sensibilidade relativa em comparação com outros organismos-teste estão disponíveis (Radix et al., 2000; Weyers et al., 2000).

Desta maneira, o presente estudo teve como objetivo determinar as taxas de filtração e de ingestão do rotífero *Philodina roseola*. Assim, foram testadas como dieta alimentar sete diferentes concentrações da clorofícea nanofitoplanctônica *Raphidocelis subcapitata*, em experimentos sob temperatura controlada de 25 ± 1 °C.

2. Materiais e métodos

2.1. Manutenção de cultivo-estoque do Rotifera Philodina roseola

Philodina roseola foi coletada em tanques experimentais de fibra de vidro, com 10.000 L de capacidade, localizados na Estação de Aquicultura da Universidade Federal de São

Carlos, São Carlos, São Paulo – Brasil (21°98'-31°25'S e 47°87'- 81°21'W). Os indivíduos de *P. roseola* foram coletados por meio de arrastos verticais com uma rede de plâncton de 68 µm de abertura de malha. O material foi armazenado em frascos de polietileno, e no laboratório foram triados e identificados com base nas descrições de Koste e Terlutter (2001), para a separação de indivíduos desta espécie.

Como meio para o cultivo foi utilizada a água reconstituída preparada de acordo com os procedimentos recomendados pela Sociedade Americana de Testes e Materiais (ASTM, 2001). A água reconstituída foi preparada com 0,03 g L⁻¹ CaSO₄.2H₂O , 0,061 g de L⁻¹ de MgSO₄ .7H₂O , 0,048 g de L⁻¹ de NaHCO₃, e 0,002 g L⁻¹ de KCl dissolvidos em 1 L de água destilada e tinha, de acordo com as recomendações da ABNT (2005), as seguintes características: pH entre 7,0 e 7,8; dureza entre 40 e 48 mg CaCO₃ L⁻¹ e condutividade elétrica de 160 µS cm⁻¹.

Os cultivos-estoque, com grande densidade deste rotífero (valor médio de 116 ind. mL⁻¹) foram mantidos em béqueres de 50 a 250 mL. Os cultivos de *P. roseola* foram mantidos em incubadora com temperatura controlada a 25 ± 1°C, com fotoperíodo de 16h claro: 8h escuro. Para evitar a evaporação do meio de cultura, os béqueres foram lacrados com filme de plástico e a manutenção das culturas foi realizada de acordo com os procedimentos propostos por Hagen et al. (2009), a cada 76 horas, quando eram renovados a água e o alimento. Os indivíduos de *P. roseola* foram alimentados com suspensão algácea de *Raphidocelis subcapitata*, cultivada em meio CHU-12 (Müller, 1972), na concentração de 1 x 10⁵ células mL⁻¹.

2.2. Delineamento experimental

Para se testar a capacidade de filtração do rotífero *Philodina roseola* em diferentes concentrações alimentares, o experimento consistiu na exposição de 10 organismos adultos por réplica, expostos a diferentes concentrações da suspensão algácea de *Raphidocelis subcapitata*, sendo as concentrações de exposição dos organismos referidas ao longo do trabalho como os valores nominais de: 1 x 10⁴; 0,5 x 10⁵; 1 x 10⁵; 0,5 x 10⁶; 1 x 10⁶; 0,5 x 10⁷ e 1 x 10⁷ células mL⁻¹. No entanto, as concentrações reais, determinadas após o preparo das suspensões, corresponderam respectivamente a: 4,721x10⁴; 4,977x10⁵; 4,127x10⁵; 1,067x10⁶; 1,444x10⁶; 0,588x10⁷; 0,767x10⁷ células mL⁻¹. Os valores reais correspondem ao valor médio

da concentração de células mL^{-1} determinado após a contagem do número de células em 3 réplicas amostrais para cada concentração, em câmara de Neubauer.

Foram estabelecidos 3 controles contendo apenas água reconstituída e a alga para cada concentração, sendo que os controles iniciais e finais foram fixados no início e final do experimento, com formaldeído a 4 %, para posterior contagem do número de células algais em câmara de Neubauer, com o objetivo de se verificar a ocorrência ou não de crescimento algal.

Os experimentos tiveram a duração de 1 hora. Os rotíferos adultos utilizados nos experimentos foram obtidos a partir dos cultivos-estoque. O isolamento dos indivíduos foi realizado sob microscópio estereoscópico e estes foram manuseados cuidadosamente com pipetas Pasteur. Foram realizadas 3 repetições para cada tratamento (concentração) testada, sendo que em cada réplica foram adicionados 3 mL de determinada concentração de suspensão algácea.

Os organismos foram mantidos em vidros de relógio (90 mm de diâmetro) e estes dentro de placas de Petri (110x15mm) tapadas para evitar a evaporação do meio. Os experimentos foram mantidos sob a mesma temperatura dos cultivos-estoque ($25 \pm 1^\circ \text{C}$). No início dos testes foram realizadas medidas das variáveis pH, condutividade elétrica, temperatura, dureza da água e concentração de oxigênio dissolvido com a finalidade de se verificar a qualidade da água reconstituída utilizada para as diluições.

O ciclo de vida de um rotífero do gênero *Philodina* é de aproximadamente 20 dias, na temperatura de 22°C (Ricci e Fascio, 1995). Há uma clara distinção de tamanho entre rotíferos adultos e juvenis, ainda que apenas por um período limitado de tempo. Assim, os rotíferos maiores (em comparação com os juvenis) foram coletados e utilizados no experimento. De acordo com Wetzel (1975), os indivíduos selecionados para o experimento devem ter aproximadamente o mesmo comprimento, pois as taxas de filtração são afetadas também pelo sexo e estágio no ciclo de vida.

Antes de cada experimento, os animais permaneceram pelo menos 30 minutos sem receber qualquer alimento. As suspensões algais iniciais foram fixadas com solução de formaldeído 4% no início do experimento a fim de serem quantificadas as concentrações por meio de contagem do número de células em câmara de Neubauer sob um microscópio Zeiss sob aumento de 40x.

Burns (1969) verificou que a sedimentação das partículas alimentares influenciou nos resultados obtidos para as taxas de filtração de algumas espécies de cladóceros. No presente estudo os vidros de relógio foram cuidadosamente agitados manualmente no decorrer do experimento (4 vezes) para impedir que as partículas alimentares fossem sedimentando.

Os experimentos tiveram um período curto de duração para que outros fatores como as taxas de excreção do zooplâncton não levassem à subestimação dos valores das taxas de filtração. Após o período de 1 hora, os organismos foram removidos com uma micropipeta de vidro (microcapilar). Em seguida 1 mL da suspensão de cada concentração testada, assim como suas respectivas réplicas foram recolhidas para que fossem realizadas as avaliações quantitativas do fitoplâncton. A esse volume, que foi transferido para ependorfes, foram adicionados 2 mL de formaldeído 4% para fixação das células. A densidade celular nas suspensões algais foram determinadas em câmara de Neubauer sob aumento de 40x.

A análise estatística dos dados obtidos no experimento foi feita por meio da aplicação do Teste “t” em nível de 5 % de significância. Os cálculos foram feitos utilizando-se o programa PAST (Hammer et al., 2001), versão 1.37.

2.3. Taxas de filtração do rotífero *Philodina roseola*

A taxa de filtração dos rotíferos foi calculada pelo método de contagem de células algais. Este método consiste em contar o número de células do alimento em um meio antes e após um período durante o qual os animais experimentais foram submetidos. A taxa de filtração é calculada supondo-se que a taxa de nutrição do zooplâncton seja proporcional à concentração de alimento. Conseqüentemente, a concentração de células de alimento diminui exponencialmente com o tempo. Assim, a mudança na concentração de alimento pode ser considerada como uma medida da quantidade de alimento filtrado, podendo ser calculada de acordo com a equação dada por Peters (1984). No presente trabalho não foram introduzidos fatores de correção, pois não houve crescimento significativo da população de algas. Desta maneira, a seguinte equação foi utilizada:

$$G = V (\ln C_0 - \ln C_t) / (tN), \text{ onde:}$$

G = taxa de filtração (mL indivíduo⁻¹ hora⁻¹), V = volume da amostra no frasco; N = número de indivíduos no frasco; t = duração do experimento em horas; C₀ = concentração inicial da alga e C_t = concentração final da alga nos frascos experimentais.

Os cálculos da taxa de filtração foram realizados para cada unidade experimental, sendo em seguida obtidos os valores médios para cada tratamento ou concentração e multiplicados por 24 horas para expressá-la em dia.

As taxas de ingestão foram calculadas de acordo com Paffenhöfer (1971) e expressas como o número médio de células de algas (cels ind⁻¹ dia⁻¹) ingeridas pelos rotíferos no período de 24 horas e também para o período de duração do experimento.

3. Resultados

Na Tabela 1 podem ser observados os valores de temperatura (°C), pH, condutividade (μS.cm⁻¹) e concentração de oxigênio dissolvido (mg.L⁻¹) na água usada nos experimentos.

Tabela 1. Caracterização física e química inicial da água reconstituída utilizada para a preparação das suspensões algais no experimento para medida das taxas de filtração e ingestão do Rotifera *Philodina roseola*.

Variáveis analisadas	Água reconstituída
Temperatura (°C)	24,2
pH	7,2
Condutividade (μS.cm ⁻¹)	159,3
Oxigênio (mg O ₂ .L ⁻¹)	6,9

Não foram encontradas diferenças significativas entre as concentrações de células, iniciais e finais, nas suspensões algais mantidas como controle por meio da aplicação do teste “t”, com nível de significância de 5%, sendo os valores de p para as concentrações iniciais e finais iguais à: 1x10⁴ (p = 0,47), 0,5x10⁵ (p = 0,49791), 1x10⁵ (p = 0,91657), 0,5x10⁶ (p = 0,26237), 1x10⁶ (p = 0,81792), 0,5x10⁷ (p = 0,32459) e 1x10⁷ (p = 0,51842).

As taxas de filtração de *Philodina roseola* variaram entre 2,715 - 6,615 mL ind⁻¹ dia⁻¹ nas concentrações testadas para as suspensões algais de *R. subcapitata* (Figura 1).

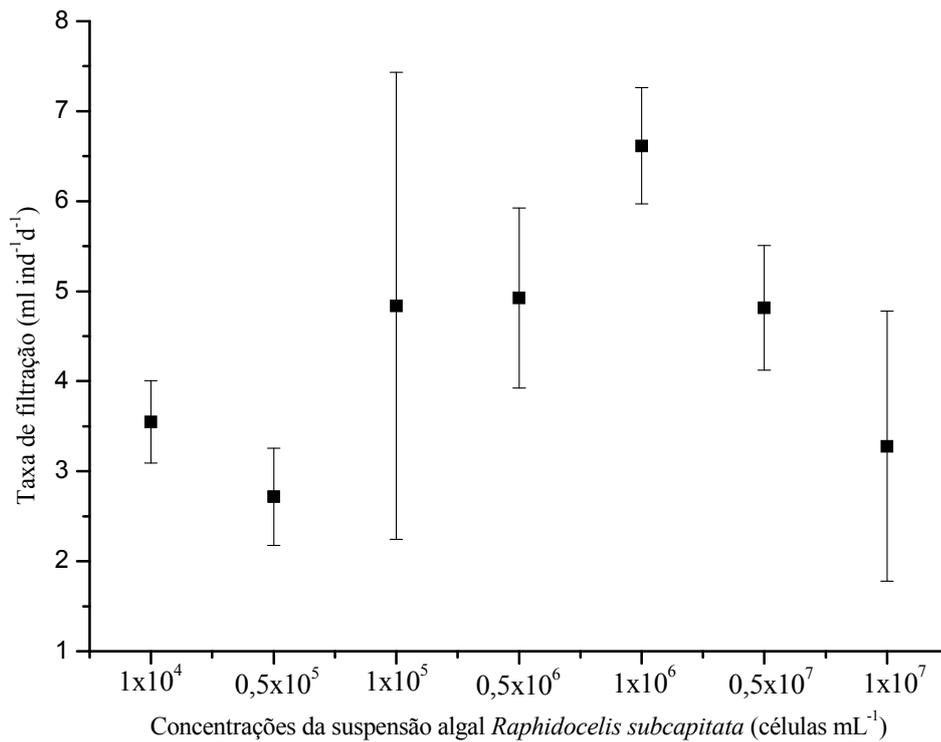


Figura 1: Taxas de filtração de *Philodina roseola* alimentados com suspensão da microclorófito *Raphidocelis subcapitata* (mL ind⁻¹ dia⁻¹).

Os valores médios e desvios-padrão das taxas de consumo de *Philodina roseola* calculadas para uma hora de experimento são apresentadas na Figura 2. Houve diferença significativa entre as concentrações iniciais e finais para todas as concentrações testadas, como evidenciam os valores de p obtidos: 1x10⁴ (p = 0,12); 0,5x10⁵ (p = 0,13); 1x10⁵ (p = 0,09); 0,5x10⁶ (p = 0,001); 1x10⁶ (p = 0,0001); 0,5x10⁷ (p = 0,0003); 1x10⁷ (p = 0,008), segundo o teste “t”.

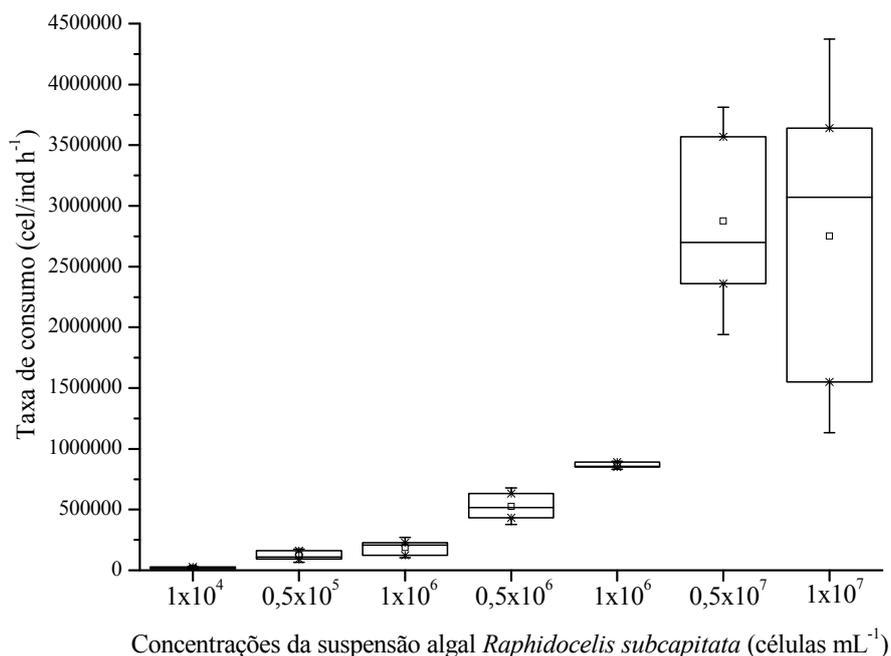


Figura 2: Valores médios e desvios-padrão das taxas de ingestão de *Philodina roseola* (mL ind⁻¹ hora⁻¹) alimentados com suspensões da microclorófito *Raphidocelis subcapitata* em concentrações crescentes. Três repetições foram estabelecidas para cada tratamento e para o controle.

Os valores das taxas de ingestão (cels. ind⁻¹.dia⁻¹) de *Philodina roseola* alimentados com diferentes concentrações de *Raphidocelis subcapitata*, à temperatura de 25 ± 1 ° C estão apresentados na Tabela 2. Os valores obtidos evidenciam que a taxa de ingestão máxima ocorreu quando os organismos foram expostos até à concentração de 1x10⁶, após isso, os valores diminuíram e permaneceram aproximadamente constantes.

Tabela 2. Valores médios e desvios-padrão das taxas de ingestão de *Philodina roseola* alimentada com diferentes concentrações de *Raphidocelis subcapitata*, à temperatura de 25 ± 1 ° C.

Concentração de <i>Raphidocelis subcapitata</i> (cel.mL ⁻¹)	Taxas de ingestão
	(cels.ind ⁻¹ .dia ⁻¹)
1x10 ⁴	45,320 ±18,037x10 ⁴
0,5x10 ⁵	29,016 ±8,654x10 ⁵
1x10 ⁵	44,800 ±13,367x10 ⁵
05x10 ⁶	12,656 ±2,421x10 ⁶
1x10 ⁶	20,760 ±0,523x10 ⁶
0,5x10 ⁷	6,904 ±1,497x10 ⁷
1x10 ⁷	6,608 ±2,593x10 ⁷

4. Discussão

Os rotíferos da espécie *Philodina roseola* tiveram aumento contínuo na taxa de filtração com o aumento da densidade celular da alga fornecida como alimento disponível, até atingir a concentração incipiente limitante, que foi representada pela concentração de 1×10^6 , após esse valor a taxa de filtração decresceu. As taxas de filtração médias variaram de 2,715 - 6,615 mL ind⁻¹dia⁻¹. Burns e Rigler (1967) verificaram o efeito da concentração de alimento sobre as taxas de filtração de uma espécie de dafnídeo e verificaram que acima de $2,5 \times 10^5$ céls.mL⁻¹ as taxas de filtração diminuíram gradualmente com o aumento da concentração. Os resultados obtidos pelos autores indicaram que abaixo de uma concentração de $0,25 \times 10^5$ céls.mL⁻¹, as taxas de filtração de *Daphnia rosea* foram muito altas, variando entre 36 e 48 mLind.⁻¹ dia⁻¹.

Porter et al. (1982) encontraram uma concentração incipiente limitante de 0,2 mg CL⁻¹ ($1,0 \times 10^4$ céls.cm⁻³) para *Daphnia magna* alimentada com a alga *Chlamydomonas reinhardi*, sendo que as maiores variações nas taxas de filtração ocorreram entre 0,2 e 2,0 mgCL⁻¹ (10^4 a 10^5 céls.mL⁻¹). Rigler (1961); Mullin (1963); Richman (1966); Hotos (2003) e muitos outros autores demonstraram que, acima de uma concentração limite, denominado o "incipiente nível limitante (Rigler, 1961), a taxa de filtração é uma função negativa da concentração de alimentos. Lampert (1977) observou que existe uma quantidade de alimento mínima necessária para a manutenção de uma população e considerou uma concentração de alimento baixa em torno de 0,1 mg C.L⁻¹, portanto menor que $1,0 \times 10^4$ céls.cm⁻³.

Segundo Peters (1984), a faixa de concentração de alimento disponível afeta também as taxas de ingestão dos animais. De acordo com o autor, acima de uma concentração incipiente limitante, as taxas de filtração diminuem e as taxas de ingestão permanecem constantes, como foi observado no presente trabalho, pelo menos para as duas concentrações testadas após a concentração incipiente limitante de 1×10^6 células mL⁻¹. Uma vez que o alimento foi ingerido pelo zooplâncton, somente uma fração dele será assimilada, sendo parte da energia canalizada para a respiração e parte à síntese de biomassa, resultando também em crescimento somático e posterior produção reprodutiva, sendo o restante eliminada. As taxas de assimilação e rejeição influenciarão não só na produção secundária *in situ*, mas também nas taxas de ciclagem de nutrientes. Os nutrientes associados com o material excretado são

imediatamente disponibilizados para o meio aquático ou são subsequentemente mineralizados por organismos decompositores (Lehman, 1984).

Há evidências em trabalhos anteriores de que várias espécies de rotíferos respondem de forma diferente a preparações alimentares semelhantes. As experiências realizadas por Erman's (1956) com o bdelloide *Philodina roseola* demonstraram dependência quase completa da densidade e ingestão ao longo de uma ampla faixa de concentrações, enquanto que medições paralelas realizadas para *Brachionus urceolaris* e *Brachionus rubens* indicaram considerável independência entre a densidade algal e a atividade alimentar. Esta diferença foi refletida nas taxas de consumo (*clearance rates*) das duas espécies, que para *P. roseola* era constante ao longo do gradiente de densidade, enquanto que para *B. rubens* variaram substancialmente. Assim, espécies se comportam de maneira diferente, dependendo da natureza das partículas do alimento disponível, em suspensão. King (1967) mediu as taxas de alimentação da espécie litorânea *Euchlanis dilatata* cultivada em três tipos de partículas alimentares. Este autor demonstrou que as taxas estimadas e padrões relacionados com a densidade do alimento para esta espécie diferem ligeiramente entre os tipos de alimentos. Resultado semelhante foi encontrado por Devetter (2009) ao estudar as taxas de filtração da espécie *Habrotrocha thienemanni*, um rotífero da Subclasse Bdelloidea.

Existem uma variedade de mecanismos propostos para explicar a progressiva diminuição nas taxas de filtração com o aumento da densidade de alimentos para os organismos zooplânctônicos (Gentleman e Neuheimer, 2008). Erman (1956) observou que *B. rubens* em densidades elevadas de alimento desacelerou sua velocidade de natação. Halbach e Halbach - Keup (1974) propôs que a diminuição da taxa de filtração em *Brachionus calyciflorus* foi resultante da interferência de altas densidades de algas sobre o aparelho filtrador, reduzindo a assimilação devido à rápida passagem de alimentos no intestino. Estes autores sugerem que as estimativas das taxas de ingestão e de filtração podem ser afetadas por alterações na frequência ou quantidade de alimento rejeitado, na intermitência do esforço de alimentação ou pela variabilidade na eficiência de coleta com as alterações no tipo e quantidade de alimento. Gilbert e Starkweather (1977), também apontam que mecanismos regulatórios podem influenciar as taxas de ingestão de *Brachionus calyciflorus*.

As taxas de filtração tendem a aumentar com o aumento do comprimento do corpo. A relação entre tamanho do corpo e tamanho máximo de partículas que poderiam ser ingeridas foi estudada por Burns (1968, 1969) em seis espécies de *Daphnia* e em *Bosmina*

longirostris. Os resultados apontaram uma forte correlação positiva entre o aumento do tamanho do corpo e o tamanho da partícula ingerida pelas espécies avaliadas. Lüring et al. (1997) realizaram experimentos de herbivoria de curta duração e observaram uma diminuição nas taxas de filtração de *Daphnia* à medida que diminuía o comprimento da espécie. Bogdan (1980) constatou o mesmo comportamento para o rotífero *Keratella cochlearis*, onde maiores taxas de filtração eram realizadas por organismos de maiores tamanhos.

A variação nos valores de taxa de filtração encontrados na literatura (Tabela 3) pode ocorrer em virtude de vários fatores, desde diferentes condições experimentais, como o método utilizado, período e duração dos experimentos, tipo de alimento, diferentes linhagens e espécies utilizadas no estudo. Além das diferenças de tamanho dos animais e quantidade destes utilizados nos experimentos.

Tabela 3. Dados comparativos dos valores médios das taxas de filtração de *Philodina roseola* obtidos no presente estudo com os valores disponíveis na literatura para organismos zooplancônicos pertencentes a espécies dos grupos Rotifera, Cladocera e Copepoda, alimentados com diferentes suspensões algais.

Espécie	Local	Alimento	Taxa de filtração média (ml ind ⁻¹ d ⁻¹)	Referências
Rotifera				
<i>Brachionus calyciflorus</i>	Laboratório	<i>Nannochlonis oculata</i> (5x10 ⁵ cell/ml)	0,134	Ferrando et. al.,1991
<i>Brachionus calyciflorus</i>	Laboratório	<i>Diogenes rotunda</i> (5x10 ⁶ cell/ml)	0,012	Pennington,1941
<i>Brachionus calyciflorus</i>	Laboratório	<i>Chlorella pyrenoidosa</i> (5x10 ⁶ cell/ml)	0,081	Halbach,1974
<i>Brachionus rubens</i>	Laboratório	<i>Chlorella vulgaris</i>	0,271	Pilarska,1977
<i>Brachionus plicatilis</i>	Laboratório	<i>Asteromonas gracilis</i> (300-400 x 10 ³ cellsmL ⁻¹)	0,504	Hotos,2003
<i>Brachionus plicatilis</i>	Laboratório	<i>Chlorella</i> sp. (4-8 x 10 ⁶ cellsmL ⁻¹)	0,316	Hotos,2003
<i>Polyarthra dolichoptera</i>	<i>In situ</i>	<i>Chlamydomonas reinhardtii</i> 10 cells µl ⁻¹	0,04	Bogdan,1980
<i>Keratella cochlearis</i> (pequena)	<i>In situ</i>	<i>Chlamydomonas reinhardtii</i> 10 cells µl ⁻¹	0,021	Bogdan,1980
<i>Keratella cochlearis</i> (grande)	<i>In situ</i>	<i>Chlamydomonas reinhardtii</i> 10 cells µl ⁻¹	0,153	Bogdan,1980
<i>Keratella quadrata</i>	<i>In situ</i>	<i>Chlamydomonas</i> sp.	0,048 - 1,344	Lair,1990
<i>Kellicottia longispina</i>	<i>In situ</i>	<i>Chlamydomonas</i> sp.	0,072 - 1,248	Lair,1990
<i>Kellicottia bostoniensis</i>	<i>In situ</i>	<i>Chlamydomonas reinhardtii</i> 6 cells µl ⁻¹	0,02	Bogdan,1980
<i>Polyarthra euryptera</i>	<i>In situ</i>	<i>Chlamydomonas reinhardtii</i> 6 cells µl ⁻¹	0,006	Bogdan,1980
<i>Conochilus dossuarius</i>	<i>In situ</i>	<i>Chlamydomonas reinhardtii</i> 6 cells µl ⁻¹	0,141	Bogdan,1980
<i>Philodina roseola</i>	Laboratório	<i>Raphidocelis subcapitata</i>	2,715 – 6,615	Presente estudo
Cladocera				
<i>Daphnia longispina</i>	Laboratório	<i>Scenedesmus</i>	5,41	Infante,1973
<i>Bosmina</i> sp.	<i>In situ</i>	Fitoplâncton	0,1 - 1,0	Nauwerck,1963
<i>Daphnia rosea</i>	Laboratório	<i>Rhodotorula</i>	7,4 - 40,8	Burns e Rigler,1967
<i>Daphnia longispina</i>	<i>In situ</i>	<i>Chlamydomonas</i> sp.	0,696 - 22,488	Lair,1991
<i>Chydorus sphaericus</i>	<i>In situ</i>	<i>Chlamydomonas</i> sp.	0,336 - 51,36	Lair,1991
<i>Ceriodaphnia quadrangular</i>	<i>In situ</i>	<i>Chlamydomonas</i> sp.	0,504 - 41,4	Lair,1991
<i>Bosmina longirostris</i>	<i>In situ</i>	<i>Chlamydomonas</i> sp.	0,36 - 16,968	Lair,1991
<i>Daphnia pulex</i>	Laboratório	<i>Scenedesmus</i>	15,52	Infante,1973
<i>Daphnia pulex</i>	<i>In situ</i>	<i>Scenedesmus</i>	1,5 - 2,0	Geller,1975
<i>Daphnia hyalina</i>	<i>In situ</i>	<i>Scenedesmus</i>	3,1 - 82,0	Pinto-Coelho,1991
<i>Daphnia galeata</i>	<i>In situ</i>	<i>Scenedesmus</i>	2,1 - 61,5	Pinto-Coelho,1991
<i>Daphnia laevis</i>	Laboratório	<i>Ankistrodesmus</i>	0,7 - 11,4	Macedo e Pinto-Coelho,2000
<i>Daphnia laevis</i>	Laboratório	<i>Scenedesmus</i>	1,0 - 6,4	Macedo e Pinto-Coelho,2000
<i>Moina micrura</i>	Laboratório	<i>Ankistrodesmus</i>	1,4 - 9,9	Macedo e Pinto-Coelho,2000
<i>Moina micrura</i>	Laboratório	<i>Scenedesmus</i>	0,39 - 7,4	Macedo e Pinto-Coelho,2000
Copepoda				
<i>Argyrodiaptomus furcatus</i>	<i>In situ</i>	Fitoplâncton	2,3 - 10,8	Sipaúba-Tavares e Matsumura- Tundisi,1984
<i>Calanus finmarchicus</i>	Laboratório	Fitoplâncton	Estágio V - 20,6 Fêmea - 70,1	Mullin,1963
<i>Calanus glacialis</i>	Laboratório	Fitoplâncton	Estágio V - 34,1 Fêmea - 188,2	Mullin,1963
<i>Calanus hyperboreus</i>	Laboratório	Fitoplâncton	Estágio V - 151,2 Fêmea - 224,5	Mullin,1963

Quando comparadas as taxas de filtração de *P. roseola* à de outros Rotifera e também outros grupos do zooplâncton (Cladocera e Copepoda), os valores médios da taxa de filtração desta espécie foram maiores do que os registrados para as espécies de rotíferos e para algumas espécies de cladóceros, como pode ser observado na Tabela apresentada. Maiores informações sobre as condições experimentais seriam necessárias para a correta interpretação destes valores. É, no entanto provável que a diferença de temperatura (25 °C no nosso experimento e 20 °C na maioria dos valores apresentados para os rotíferos) já justifiquem a diferença observada. É amplamente reconhecido que a temperatura é um dos principais fatores que alteram as taxas metabólicas dos organismos zooplanctônicos, e que o volume de água e partículas filtradas depende da temperatura (Gophen, 1976).

Vários autores reportaram que a alimentação dos rotíferos em pequenas lagoas ou microcosmos artificiais podem reduzir drasticamente a densidade das espécies do nanoplâncton dominante em alguns dias (Diffenbach e Sachse, 1911; Pennington, 1941; Ito, 1955; Ito e Iwai, 1957, Boon e Shiel, 1990). Mialet et al. (2013) em um experimento *in situ* com rotíferos bentônicos da subclasse Bdelloidea, mostraram que os rotíferos ingeriram seletivamente cianobactérias filamentosas e ao fazer isso, removeram diariamente uma parte substancial (até 28%) da biomassa de cianobactérias do corpo d'água estudado. Os rotíferos assumem importante papel na ciclagem de nutrientes em consequência da sua alta taxa metabólica intrínseca, tanto em sistemas de águas continentais, Bogdan e Gilbert (1982), como em sistemas oceânicos (Heinbokal e Beers, 1979).

Recentemente, Gabaldón et al. (2013) objetivaram encontrar os mecanismos que podem explicar a coexistência de espécies crípticas, desafiando a visão convencional de convivência baseada na diferenciação de nicho. Para isso esses autores estudaram o complexo de espécies crípticas dos rotíferos *Brachionus plicatilis* e *B. manjavacas*, concentrando-se em três características ecológicas fundamentais: (1) resposta funcional, expressa pelas taxas de filtração, (2) tolerância à fome, medido pelo crescimento e reprodução, e (3) a vulnerabilidade à predação. Os autores concluíram que não havia grandes diferenças entre *B. plicatilis* e *B. manjavacas* em relação a estas características, demonstrando assim, a existência de substancial sobreposição de nicho entre essas duas espécies.

Pode-se concluir que os valores médios da taxa de filtração de *P.roseola* são elevados em comparação aos de outras espécies de rotíferos e microcrustáceos, demonstrando assim, suas elevadas taxas metabólicas. Consideramos que o conhecimento sobre sua taxa de

consumo (seu principal processo de aquisição de energia) e de demais rotíferos, abrange questões importantes relacionadas à dinâmica trófica dos ecossistemas aquáticos, especialmente envolvendo os microorganismos. Consideramos ainda que as informações disponíveis são ainda insuficientes para um entendimento das interações bióticas nas comunidades planctônicas ou bentônicas, necessitando assim, serem ampliadas para outros tipos de alimento e combinações de condições experimentais. Esperamos que este trabalho contribua para isso e estimule novas investigações sobre o comportamento alimentar de rotíferos em relação ao nanoplâncton.

Referências

ABNT - Associação Brasileira de Normas Técnicas, 2005. *Ecotoxicologia aquática - Toxicidade crônica – Método de ensaio com Ceriodaphnia spp. (Crustacea, Cladocera)*. NBR 13373. Rio de Janeiro, 15 p.

ARNDT, H., 1993. Rotifers as predators on components of the microbial web (bacteria, heterotrophic flagellates, ciliates): A review. *Hydrobiologia*, vol. 255/256, p. 231-246.

ARMENGOL, J., 1980. Colonización de los embalses españoles por crustáceos planctónicos y evolución de la estructura de sus comunidades. *Oecologia Aquatica*, vol. 4, p. 45-70.

ASTM - American Society for Testing and Materials, 2001. *Standard guide for conducting acute toxicity testing on test materials with fishes, macroinvertebrates, and amphibians*. E729–E796. West Conshohocken, PA.

AWAIS, A., KESTEMON, P. and MICHA, J. C., 1992. Nutritional suitability of the rotifer, *Brachionus calyciflorus* for rearing freshwater fish larvae. *Journal of Applied Ichthyology*, vol. 8, p. 263–270.

BERGQUIST, A. M. and CARPENTER, S. R., 1986. Limnetic herbivory: effects on phytoplankton populations and primary production. *Ecology*, vol. 67, no. 5, p.1351- 1360.

BOGDAN, K.G., GILBERT, J.J and STARKWEATHER, P.L., 1980. In situ clearance rates of planktonic rotifers. *Hydrobiologia*, vol, 73, p. 73-77.

BOGDAN, K.G and GILBERT, J.J., 1982. Seasonal patterns of feeding by natural populations of *Keratella*, *Polyarthm*, and *Bosmincc* Clearance rates, selectivities, and contributions to community grazing. *Limnology and Oceanography*, vol. 27, no.5, p. 918-934.

BOON, P.I. and SHIEL, R.J., 1990. Grazing on bacteria by zooplankton in Australian Billabongs. *Aust J Mar Freshw Res*, vol. 41, p. 247–257.

BROOKS, J. L. and DODSON, S. I., 1965. Predation, body size, and composition of plankton. *Science*, vol. 50, p. 28-35.

- BURNS, C. W. and RIGLER, F. H., 1967. Comparison of filtering rates of *Daphnia rosea* in lake water and in suspensions of yeast. *Limnology and Oceanography*, vol.12, p. 492- 502.
- BURNS, C. W., 1969. Particle size and sedimentation in the feeding behavior of two species of *Daphnia*. *Limnology and Oceanography*, vol. 14, p. 392-402.
- DAS, P., MANDAL, S.C., BHAGABATI, K., AKHTAR, M.S. and SINGH, S.K., 2012. Important live food organisms and their role in aquaculture. *Frontiers in Aquaculture*, p. 69–86.
- DEMOTT, W. R., 1982. Feeding selectivities and relative ingestion rates of *Daphnia* and *Bosmina*. *Limnology and Oceanography*, vol. 27, no. 3, p. 518-527.
- DEMOTT, W. R., 1985. Relations between filter mesh-size, feeding mode, and capture efficiency for cladocerans feeding on ultrafine particles. *Archiv für Hydrobiologie–Beiheft/Ergebnisse der Limnologie*, vol. 21, p. 125-134.
- DEVETTER, M., 2009. Clearance rates of the bdelloid rotifer, *Habrotrocha thienemanni*, a tree-hole inhabitant. *Aquatic Ecol*, vol. 43, p. 85–89.
- DIFFENBACH, H., and SACHSE, R., 1911. Biologische Untersuchungen an Ridertieren in Teichgcwässern. *Internationale Revue der Gesamten Hydrobiologie und Hydrographie Biol. Suppl.*, vol. 3, p. 1-93.
- ENVIRONMENT CANADA, 1992. *Biological Test method: Growth Inhibition Test Using the Freshwater Alga *Selenastrum capricornutum**. Report EPS 1/RM/25, Environment Canada, Ottawa, ON, Canada.
- ERMAN, L. A., 1956. On the quantitative aspects of the feeding of rotifers (Rotifera Phylum) [in Russian]. *Zoologicheskij Zhurnal*, vol. 35, p. 965-71.
- FERRANDO, M. D., JANSSEN, C. R and PERSOONE, G., 1993. Ecotoxicological Studies with the freshwater rotifer *Brachionus calyciflorus*. III. The effects of chemicals on the feeding behavior. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, vol. 26, p. 1-9.
- GABALDÓN, C., MONTERO-PAU, J., SERRA, M. and CARMONA, M. J., 2013. Morphological similarity and ecological overlap in two rotifer species. *Plos One*, vol. 8, no. 2, e57087.
- GENTLEMAN, W. C. and NEUHEIMER, A. B., 2008. Functional responses and ecosystem dynamics: how clearance rates explain the influence of satiation, food-limitation and acclimation. *Journal of Plankton Research*, vol 30, no. 11, p. 1215–1231.
- GILBERT, J. J. and STARKWEATHER, P. L., 1977. Feeding in the rotifer *Brachionus calyciflorus*. I. Regulatory mechanisms. *Oecologia (Berlin)*, vol. 28, p. 125 131.
- GOPHEN, M., 1976. Temperature Dependence of Food Intake, Ammonia Excretion and Respiration in *Ceriodaphnia reticulata* (Jurine) (Lake Kinneret, Isreal). *Freshwater Biology*, vol. 6, no. 5, p. 451-455.

- HAGEN, T., ALLINSON, G., WIGHTWICK, A. and NUGEGODA, D., 2009. Assessing the performance of a bdelloid rotifer *Philodina acuticornis odiosa* acute toxicity assay. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*, vol. 82, p. 285–9.
- HALBACH, U. and HALBACH-KEUP, G., 1974. Quantitative Beziehungen zwischen Phytoplankton und der Populationsdynamik des Rotators *Brachionus calyciflorus* Pallas. Befunde aus Laboratoriumsexperimenten und Freilanduntersuchungen. *Archiv fuer Hydrobiologie*, vol. 73, p. 272-309.
- HAMMER, O., HARPER, D. A. T. and RIAN, P. D., 2001. *Past*: Palaeontological statistics software package for education and data analysis. Version. 1.37. Disponível em: <http://palaeo-electronica.org/2001_1/past/issue1_01.htm>. Acessado em 23 de dezembro de 2013.
- HEINBOKEL, J. F., and BEERS, J. R., 1979. Studies on the functional role of tintinnids in the Southern California Bight. 3. Grazing impact of natural assemblages. *Marine Biology*, vol. 52, p. 23-32.
- HIRAYAMA, K. and OGAWA, S., 1972. Fundamental studies on physiology of rotifer for its mass culture. I. Filter feeding of rotifer. *Bulletin of the Japanese Society of Scientific Fisheries*, vol. 38, no. 11, p. 1208-1214.
- HOTOS, G. H., 2003. Growth, filtration and ingestion rate of the rotifer *Brachionus plicatilis* fed with large (*Asteromonas gracilis*) and small (*Chlorella* sp.) celled algal species. *Aquaculture Research*, vol. 34, p. 793-802.
- ITO, T., 1955. Studies on the “Mizukawari” in eelculture ponds. 1. The feeding activity of *Brachionus plicatilis* on phytonannoplankton (as a cause of “Mizukawari”). [In Japanese, English summary]. *Rep. Fat. Fish. Prefect. Univ. Mie* vol. 2, p. 161-167.
- ITO, T. and T. IWAI., 1957. Studies on the “Mizukawari” in eel-culture ponds. 7. The relations between the feeding habit of *Brachionus plicatilis* and size of phytoplankters [In Japanese, English summary]. *Rep. Fat. Fish. Prefect. Univ. Mie* vol. 2, p. 509-516.
- JACOBSON, J. 1974. Quantitative measurement.
- JEPPESEN, E., SONDERGAARD, M., CHRISTOFFERSEN, K., THEIL-NIELSEN, J. and JURGENS, K., 2002. Cascading trophic interactions in the littoral zone: an enclosure experiment in shallow Lake Stigsholm, Denmark. *Arch Hydrobiol*, vol. 153, p. 533–555.
- KING, C. E., 1967. Food, age, and the dynamics of a laboratory population of rotifers. *Ecology*, vol. 48, p. 111-128.
- KOSTE, W. and TERLUTTER. H., 2001. Die Rotatorienfauna einiger Gewässer des Naturschutzgebietes “Heiliges Meer” im Kreis Steinfurt, *Osnabrücker Naturwissenschaftliche Mitteilungen Band*, vol. 27, p. 113-117.
- KRIENITZ L. and BOCK, C., 2011. SSU rRNA Gene Phylogeny of morphospecies affiliated to the bioassay alga “*Selenastrum capricornutum*” recovered the polyphyletic origin of crescent-shaped Chlorophyta. *Journal of Phycology*, vol. 47, p. 880–893.

- LAIR, N. and OULAD ALI. H., 1990. Grazing and assimilation rates of natural populations of planktonic rotifers *Keratella cochlearis*, *Keratella quadrata* and *Kellicottia longispina* in a eutrophic lake (Aydat, France). *Hydrobiologia*, vol. 194, p. 119-131.
- LAIR, N., 1991. Grazing and assimilation rates of natural populations of planktonic cladocerans in a eutrophic lake. *Hydrobiologia*, vol. 215, p. 51-61.
- LAMPERT, W., 1974. A method for determining food selection by zooplankton. *Limnology and Oceanography*, vol.19, n. 6, p. 995-998.
- LAMPERT, W. and TAYLOR, B. E., 1985. Zooplankton grazing in a eutrophic lake: implications of diel vertical migration. *Ecology*, v. 66, n. 1, p. 68-82.
- LAMPERT, W. and BRENDELBERGER, H., 1996. Strategies of phenotypic low-food adaptation in *Daphnia*: filter screens, mesh sizes, and appendage beat rates. *Limnology and Oceanography*, vol. 41, no. 2, p. 216-223.
- LAMPERT, W., 1997. Studies on the carbon balance of *Daphnia pulex* de Geer as related to environmental conditions. II. The dependence of carbon assimilation on animal size, temperature, food concentration and diet species. *Archiv für Hydrobiologie Supplement*, vol. 48, p. 310-335.
- LEHMAN, J. T., 1984. Grazing, nutrient release, and their impacts on the structure of phytoplankton communities. In: MEYERS, D. G., STRICKLER, J. R. (Ed.). *Trophic interactions within aquatic ecosystems*: Selected Symposium AAAS, p. 49-72.
- LEWIS, M. A., 1990. Are laboratory-derived toxicity data for freshwater algae worth the effort? *Environmental Toxicology and Chemistry*, vol. 9, p. 1279–1284.
- MIALET, B., MAJDI N., TACKX, M., AZÉMAR, F. and BUFFAN-DUBAU, E., 2013. Selective Feeding of Bdelloid Rotifers in River Biofilms. *Plos One*, vol. 8, no. 9, e75352.
- MÜLLER, H., 1972. Wachstum and phosphatbedarf von *Nitzschia actinastroides* (Lemn.) v. Goor in statischer und homokontiuierlicher Kultur unter Phosphatlimitierung. *Archiv für Hydrobiologie Supplement*, vol. 38, p. 399–484.
- MULLIN, M. M., 1963. Some factors affecting the feeding of Marine copepods of the genus *Calanus*. *Limnology and Oceanography*, vol. 8, p. 239-250.
- NALEWAJKO, C. and OLAVESON, M. M., 1998. *Ecophysiological considerations in microalgal toxicity tests*. In: Wells, P.G., Lee, K., Blaise, C. (Eds.), *Microscale Aquatic Toxicology, Advances, Techniques and Practice*. Lewis, Boca Raton, FL, p. 289–309.
- OECD (Organisation for Economic Cooperation and Development), 1984. *Algal growth inhibition test*. OECD Guidelines for Testing of Chemicals, vol. 201, OECD, Paris.
- OIE, G. and OLSEN, Y., 1997. Protein and lipid content of the rotifer *Brachionus plicatilis* during variable growth and feeding conditions. *Hydrobiologia*, vol. 358, p. 251-258.

- PAFFENHÖFFER, G. A., 1971. Grazing and ingestion rates of nauplii, copepedites and adults of the marine copepod *Calanus helgolandicus*. *Marine Biology*, vol.11, p.286-298.
- PARK, G. S. and MARSHALL H. G., 2000. The trophic contributions of rotifers in tidal freshwater and estuarine habitats. *Estuarine, Coastal and Shelf Science*, vol. 51, p. 729-742.
- PENNINGTON, W., 1941. The control of the number of freshwater phytoplankton by small animals. *Journal of Ecology*, vol. 29, p. 204-211.
- PETERS, R. H., 1984. Methods for the study of feeding, grazing and assimilation by zooplankton. In: DOWNING, J. A., RIGLER, F. H. (Ed.). *A manual on methods for the assessment of secondary productivity in fresh waters*. 2.ed. Oxford: Blackwell Sci. Publ., p. 336-412.
- PILARSKA, J., 1977. Ecophysiological studies on *Bachionus rubens*. 1. Food selectivity and feeding rate. *Polskie Archiwum Hydrobiologii*, vol. 24, no. 3, p. 319 - 328.
- PORTER, K. G., GERRITSEN, J. and ORCUTT, J. D., 1982. The effect of food concentration on swimming patterns, feeding behavior, ingestion, assimilation, and respiration by *Daphnia*. *Limnology and Oceanography*, vol. 25, no. 5, p. 935-949.
- POURRIOT, R., 1965. Recherches sur l'écologie des Rotiferes. *Vie et Milieu* (Suppl.), vol. 21, p. 1-224.
- RADIX, P., LÉONARD, M., PAPANTONIOU, C., ROMAN, G., SAOUTER, E., GALLOTTI-SCHMITT, S., THIE'BAUD, H. and VASSEUR, P., 2000. Comparison of four chronic toxicity tests using algae, bacteria, and invertebrates assessed with sixteen chemicals. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, vol. 47, p. 186-194.
- RAYMONT, J. E. G., 1983. *Plankton and productivity in the oceans - Zooplankton*. 2.ed. New York: Pergamon Press, vol. 2, 824 p.
- RICCI, C., 1984. Culturing of some bdelloid rotifers. *Hydrobiologia*, vol. 112, p. 45-51.
- RICCI, C. and FASCIO, U., 1995. Life-history consequences of resource allocation of two bdelloid rotifer species. *Hydrobiologia*, vol. 299, p. 231-239.
- RICCI, C. and BALSAMO, M., 2000. *The biology and ecology of lotic rotifers and gastrotrichs*. *Freshwater Biology*, vol. 44, p. 15-28.
- RICCI, C., MELONE, G. and WALSH, E.J., 2001. A carnivorous bdelloid rotifer, *Abrochtha carnivore n.sp.* *Invertebrate Biology*, vol. 120, p. 136-141.
- RICHMAN, S., 1966. *The effect of phytoplankton concentrations on the feeding rate of Diaptomus oregonensis*. *Verhandlungen des Internationalen Verein Limnologie*, vol. 16, p. 392-398.
- RIGLER, F.H., 1961. The relation between concentration of food and feeding rate of *Daphnia magna* Straus. *Canadian Journal of Zoology*, vol. 39, p. 857-868.

SIPAÚBA-TAVARES, L. H. and MATSUMURA-TUNDISI, T., 1984. Feeding in adult females of *Argyrodiaptomus furcatus* (Sars, 1901), Copepoda-Calanoidea, of Lobo Reservoir (Broa), São Carlos, S. P., Brazil. *Hydrobiologia*, vol. 113, p. 15- 23.

THRELKELD, S. T. and CHOINSKI, E. M., 1987. Rotifers cladocerans and planktivorous fish: What are the major interactions? *Hydrobiologia*, vol. 147, p. 239-243.

USEPA (United States Environmental Protection Agency), 1994. *Short-term methods for estimating the chronic toxicity of effluents and receiving waters to freshwater organisms*, EPA 600/7-91-002, Washington, DC.

VANDERPLOEG, H. A., SCAVIA, D. and LIEBIG, J. R., 1984. Feeding rate of *Diaptomus sicilis* and its relation to selectivity and effective food concentration in algal mixtures and in Lake Michigan. *Journal of Plankton Research*, vol. 6, p. 919-941.

WATANABE, T., KITAJIMA, C. and FUJITA, S., 1983. Nutritional values of live organisms used in Japan for mass propagation of fish: A review. *Aquaculture*, vol.34, p.115-143.

WATANABE, T. and KIRON, V., 1994. Prospects in larval fish dietetics. *Aquaculture*, vol. 124, p. 223-251.

WEYERS, A., SOKULL-KLU" TTGEN, B., BARAIBAR-FENTANES, J. and VOLLMER, G., 2000. Acute toxicity data: a comprehensive comparison of results of fish, *Daphnia*, and algae tests with new substances notified in the European Union. *Environmental Toxicology and Chemistry*, vol. 19, p. 1931–1933.

WETZEL, R. G., 1975. *Limnology*. EUA: W. B., Saunders Company, 743 p.

WETZEL, R. G., 2001. *Limnology: Lake and River Ecosystems*. 3rd ed. Academic Press. 1006 p.

WHYTE, J. M. C. and NAGATA, W. D., 1990. Carbohydrate and fatty acid composition of rotifer, *Brachionus plicatilis*, fed monospecific diets of yeast or phytoplankton. *Aquaculture*, vol. 89, p. 263–272.

Capítulo 4: Uma revisão sobre o uso recente de rotíferos como organismo-teste na avaliação da toxicidade de pesticidas em água doce

Resumo

Nos últimos anos o aumento do consumo de agrotóxicos em todo o mundo tem gerado grandes preocupações para as agências nacionais e internacionais de proteção ao meio ambiente em decorrência dos diversos impactos ambientais e de algumas sérias implicações para a saúde humana. A utilização de testes ecotoxicológicos para a análise dos efeitos tóxicos das substâncias químicas presentes nos agrotóxicos, em diferentes níveis de organização dos ecossistemas, tem sido uma ferramenta cada vez mais importante nas avaliações de impacto ambiental. Invertebrados desempenham um papel crescente na avaliação dos impactos de contaminantes ambientais em ecossistemas aquáticos, dentre eles destacando-se algumas espécies do Filo Rotifera. Os rotíferos tem uma série de características que os tornam importantes organismos-teste. Eles são pequenos, simples em sua organização, geneticamente homozigotos e relativamente fáceis de cultivar. São ainda amplamente distribuídos e ecologicamente importantes em águas doces e salobras e desempenham papéis relevantes na ciclagem de nutrientes e no transporte de poluentes aquáticos através da cadeia alimentar. Nas últimas décadas, tem havido um aumento substancial de informações sobre rotíferos, particularmente em áreas de sua ecologia, distribuição geográfica, genômica e ecotoxicológica. O objetivo desta revisão é reunir e sintetizar o conhecimento existente sobre a utilização de rotíferos como organismos-teste para a avaliação da toxicidade de pesticidas em ecossistemas de água doce, nas últimas décadas (1981 a 2013). Esta avaliação não teve a pretensão de encontrar razões para exaltar o uso de rotíferos em estudos ecotoxicológicos, mas justificar o aumento constante de pesquisas ecotoxicológicas utilizando rotíferos e demonstrar que estudos ecotoxicológicos com esses organismos merecem ainda maiores esforços. Concluímos que, os rotíferos têm desempenhado um papel crescente na Ecotoxicologia, especialmente por duas razões: o acúmulo de conhecimento sobre este grupo ao longo dos últimos anos e suas características biológicas que prontamente os recomendam como organismos-teste.

Palavras-chave: Rotifera, Ecotoxicologia, toxicidade, bioensaios, agrotóxicos

1. Introdução

Por razões práticas e de reprodutibilidade, espécies utilizadas em avaliações de toxicidade ambiental devem ser abundantes, amplamente distribuídas, ecologicamente relevantes no ambiente e experimentalmente controláveis no laboratório (Breitholtz et al., 2006). O potencial uso de rotíferos como organismos-teste em Ecotoxicologia foi potencialmente reconhecido já há um tempo (Snell e Janssen, 1995). Rotifera é um Filo com cerca de 2030 espécies atualmente conhecidas (Segers, 2007) e classificadas em três grupos principais: Seisonidae, Bdelloidea e Monogononta. São pequenos metazoários pseudocelomados, não segmentados, de simetria bilateral e comprimento geralmente entre 100 e 1000 μm , embora algumas espécies possam atingir até 3000 μm (Edmondson, 1959; Oliveira Neto e Moreno, 1999). Apesar de serem pequenos, eles podem contribuir substancialmente para a produção secundária em sistemas aquáticos, por causa do grande tamanho de suas populações (Wallace, 2002) acoplado ao seu rápido crescimento, curto ciclo de vida e às vezes a reprodução partenogenética (Snell e Janssen, 1995).

Como organismos generalistas, os rotíferos consomem uma variedade de itens alimentares em seus habitats naturais, principalmente detritos, bactérias e algas, podendo ainda ser predadores (Barnes e Calow, 1995). Eles têm um papel fundamental no fluxo energético e na ciclagem de nutrientes nos ecossistemas aquáticos por atuarem na conversão de grande parte da produção primária de algas e bactérias em energia acessível aos consumidores secundários (larvas de insetos e peixes, por exemplo), com notável eficiência (Donner, 1966; Nogrady et al., 1993, 1995).

Devido à sua grande disponibilidade e facilidade de cultivo, os rotíferos vem também se tornando organismos modelo úteis para estudos em Ecologia Aquática (Gomez, 2005), voltados para análises de especiação (Gomez et al., 2002), Ecologia Evolutiva (Snell et al., 2006), dinâmica de populações (Yoshinaga et al., 2003) e Ecotoxicologia (Kaneko et al., 2005).

Existem outras características que tornam os rotíferos apropriados como organismos-teste em Ecotoxicologia Aquática e como bioindicadores sensíveis às alterações de qualidade da água (Kotani et al., 2005). Estas incluem: sensibilidade a um vasto número de substâncias tóxicas (Snell e Joaquim-Justo, 2007); representantes em diferentes nichos espaciais em ecossistemas aquáticos, ou seja, planctônicos, perifíticos e bentônicos, sendo qualificados assim, como adequados para uma abordagem integrativa, ou seja, ocupam os vários

compartimentos aquáticos. Devido às suas estratégias reprodutivas e ampla capacidade de dispersão sob a forma de ovos de resistência, ou por transporte zoocórico, os rotíferos tem grande sucesso ecológico (Barnes e Ruppert, 1996).

Várias espécies de rotíferos foram cultivadas com sucesso em laboratório (Snell e Joaquim-Justo, 2007). A capacidade de estabelecer culturas em larga escala no laboratório é um pré-requisito necessário para qualquer organismo a ser adotado como modelo em bioensaios (Dahms e Hellio, 2009). Assim, os rotíferos cumprem também essa condição. Uma revisão recente da Organização para a Cooperação Econômica e Desenvolvimento Europeu (OCDE, 2006) sobre o uso de invertebrados em testes de toxicidade de produtos químicos ambientais, identificou os rotíferos como um dos táxons mais promissores.

As substâncias tóxicas mais comumente testadas com rotíferos são as toxinas naturais, os pesticidas e metais pesados (Marcial et al., 2005). Metais e poluentes orgânicos como agentes anti-incrustantes, pesticidas, policíclicos hidrocarbonetos aromáticos (PAH) e bifenilos policlorados (PCB), evidenciaram que as respostas biológicas são reprodutíveis quando testadas em rotíferos (Suga et al., 2007).

O objetivo desta revisão é avaliar o potencial da utilização de rotíferos como organismos-teste na avaliação da toxicidade de pesticidas em ecossistemas de água doce, com base nos estudos realizados e reportados no período de 1981 até o ano de 2013.

2. Pesticidas e sua relação com os ambientes aquáticos

A agricultura moderna, que busca a constante elevação da produtividade e a maximização dos lucros emprega uma carga expressiva de agroquímicos, dentre os quais se encontram os agrotóxicos constituídos principalmente por herbicidas, inseticidas e fungicidas, que podem causar poluição ambiental e desequilíbrio dos ecossistemas terrestres e aquáticos (Grützmacher et al., 2008).

Um dos maiores problemas relacionados ao uso de agrotóxicos é que a maior parte dos compostos utilizados não atingem os organismos-alvo (Pimentel e Levitam, 1991), sendo carregados pelas águas das chuvas, percolando no solo ou volatilizando-se, desta forma representando uma ameaça à biota e ao funcionamento dos ecossistemas como um todo, especialmente os aquáticos, que são os receptores finais da maioria destes poluentes (Aguilar-Alberola e Mesquita-Joanes, 2012).

A concentração, transporte, transformação e disposição final de um contaminante introduzido no ambiente aquático dependem, principalmente, das propriedades do ambiente e das características do contaminante. Uma vez no ambiente, os contaminantes podem estar sujeitos a uma combinação de processos que podem afetar o seu destino e comportamento. Destas interações, pode resultar inclusive maior tempo de exposição dos organismos aquáticos aos compostos tóxicos (Silva e Santos, 2007).

Uma vez no ambiente aquático, os agrotóxicos podem sofrer uma série de interações, porém as mais importantes envolvem a matéria em suspensão e o sedimento. A natureza destas interações dependerá da solubilidade do pesticida em água e das características do sedimento (matéria orgânica, teor de argila e pH). O agrotóxico associado ao material particulado em suspensão eventualmente se depositará no sedimento. Uma vez no sedimento, o pesticida pode ser novamente liberado na água e ser absorvido por organismos, ser alterado ou degradado por microorganismos ou ficar imobilizado (Dores e De-Lamonica, 1999; Silva e Santos, 2007). Além destas interações, os agrotóxicos podem fazer parte de processos de volatilização, hidrólise, fotólise e biodegradação. Esses processos são importantes porque condicionam a persistência dos contaminantes no ambiente aquático (Buratini e Brandelli, 2006).

Os fatores ambientais relacionados às características bióticas também podem interferir na toxicidade de compostos químicos no ambiente aquático. Os fatores bióticos incluem os grupos de organismos (alga, inseto, peixe, etc.), estágio de desenvolvimento (larva, juvenil, adulto), tamanho, estado nutricional e de saúde, alterações sazonais no estado fisiológico, dentre outros, sendo que estas variáveis influenciam as respostas dos organismos ao poluente, de diferentes maneiras (Sprague, 1985).

O contato com os agrotóxicos pode provocar efeitos adversos em organismos-não alvo, como o processo de bioacumulação, onde os contaminantes são assimilados e retidos pelos organismos acarretando na ampliação da concentração do contaminante no organismo, aumentando assim a probabilidade de que este cause efeitos deletérios. Esse processo também pode acarretar a biomagnificação, com concentrações crescentes à medida que há a transferência para um nível trófico mais elevado (Buratini e Brandelli, 2006). Além disso, a presença de agrotóxicos no ambiente pode provocar impactos diversificados, exercendo por exemplo uma pressão seletiva nos organismos, alterando a dinâmica bioquímica e provocando alterações nas características do ecossistema como um todo (Embrapa, 2004).

O grau de comprometimento em organismos vivos é bastante complexo e dependerá de vários fatores, tais como o tempo de exposição do organismo ao agente tóxico, as taxas de acumulação (que variam entre as espécies) e as condições ambientais, que interferem na dinâmica dos agrotóxicos. De maneira geral, essas substâncias alteram os ciclos naturais de matéria e energia, podendo provocar irreversivelmente a desestabilização dos ecossistemas aquáticos (Hanazato, 2001; Gravilescu, 2005).

3. A utilização de rotíferos como organismos-teste para a avaliação de toxicidade de pesticidas em ecossistemas aquáticos de água doce.

Na presente revisão, observamos que muitos trabalhos utilizaram os rotíferos como organismos-teste quando os agentes tóxicos testados são os pesticidas. Ainda que o número de trabalhos publicados até a data analisada não tenham sido muito expressivos, houve um crescimento no interesse em avaliar os efeitos dos agrotóxicos para espécies não-alvo, dentre elas, os rotíferos.

Atualmente somente um protocolo de testes de toxicidade aguda é padronizado para ensaios com rotíferos (ASTM, 2002). De acordo com este protocolo a concentração letal média a 50% dos organismos-teste expostos (CL_{50}) é geralmente utilizada. Quando a concentração de substâncias tóxicas é muito baixa para causar mortalidade da população-teste dentro de um prazo razoável, é necessário em seguida concentrar esforços em testes de toxicidade crônica (Snell and Janssen, 1995; Standard Methods, 1998). Tem havido um número crescente de estudos para diferentes espécies de rotíferos, visando avaliar o seu ciclo de vida e taxas intrínsecas de crescimento populacional, assim como a mortalidade, reprodução, desenvolvimento tardio e malformações (Marcial et al., 2002; Tanaka et al., 2009).

Com relação aos estudos realizados percebemos que há uma necessidade de harmonizar e padronizar as metodologias de teste, utilizando e comparando várias espécies de rotíferos. Atualmente, *Brachionus calyciflorus* é a espécie com a maior parte dos dados de estudos realizados com diferentes agentes tóxicos. Isso também pode ser observado no caso específico dos pesticidas, pois a frequência é também muito maior na utilização desse rotífero como organismo-teste (Figura 1). Devido a isso, vemos a necessidade e importância de que mais estudos sejam realizados visando comparar as diferenças intra e inter-espécies de

rotíferos em relação às suas sensibilidades para os poluentes ambientais. Também devem ser mais amplamente comparadas as grandezas de variações na sensibilidade das espécies, e incluído testes para calibração inter-laboratoriais (USEPA, 2001).

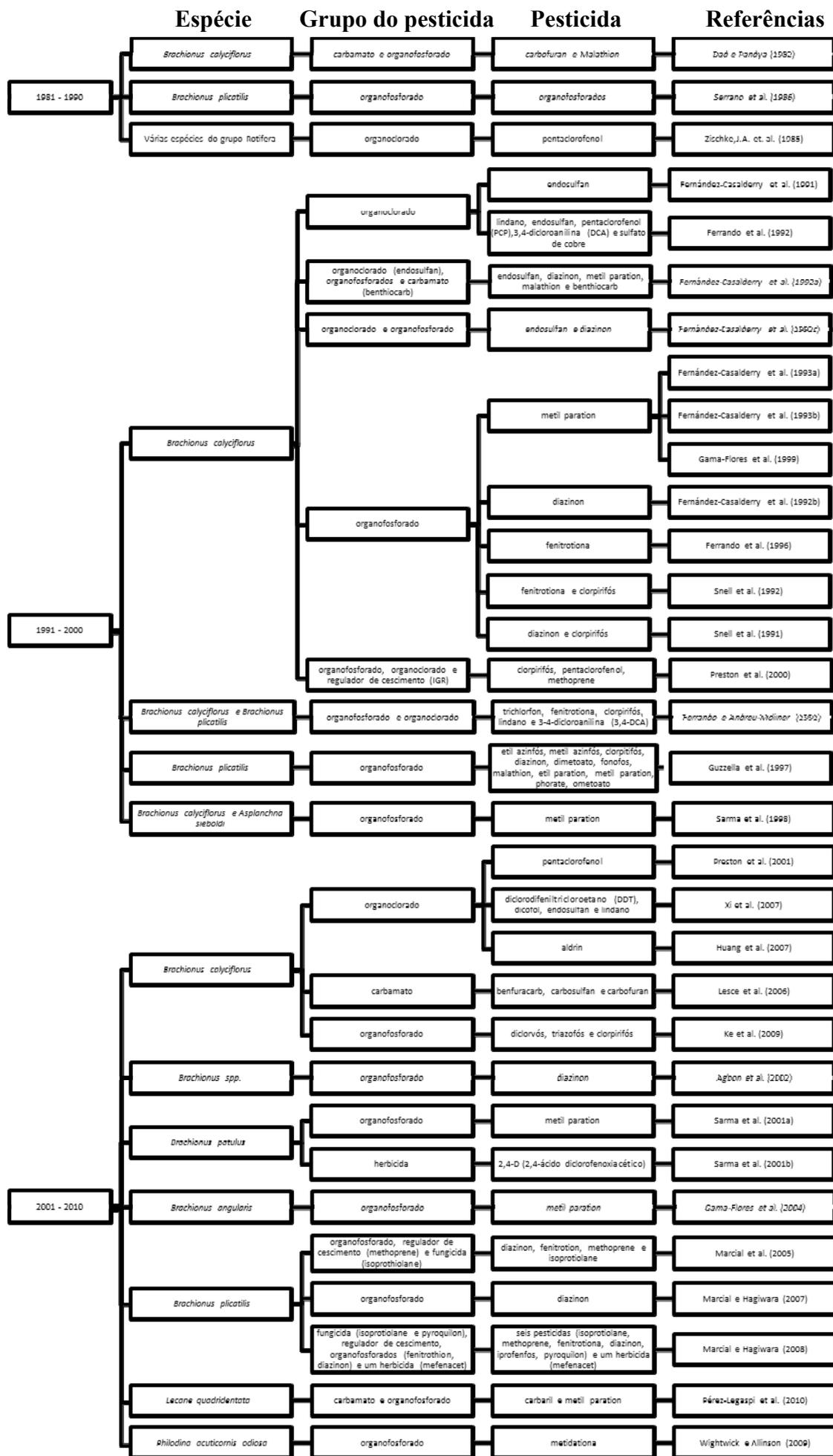


Figura 1: Trabalhos reportados na literatura nas últimas três décadas, utilizando rotíferos como organismos-teste na avaliação da toxicidade de pesticidas.

A Figura 1 também evidencia que, a maioria dos trabalhos foram realizados com o intuito de avaliar a toxicidade de inseticidas, especialmente os pertencentes aos grupos organofosforados, carbamatos, organoclorados e piretróides, provavelmente devido ao interesse dos pesquisadores em seu modo de ação às espécies não-alvo, como os rotíferos. Além disso, embora os herbicidas sejam mais utilizados no campo, a toxicidade deste grupo de substâncias, em geral, aos organismos não-alvo diretamente afetados, é geralmente inferior à dos inseticidas (Who, 1990).

No período entre os anos de 2011 a 2013, somente quatro trabalhos foram encontrados: Lu et al. (2012) que avaliaram os efeitos do herbicida atrazina ao rotífero *B. calyciflorus* e Guo et al. (2012), também para a espécie *B. calyciflorus*, testando a toxicidade de pesticidas organofosforados; Huang et al. (2013a), que avaliaram os efeitos de vários agrotóxicos (azadiractina, tiofanato-metilo e fenitrotiona) em doses subletais à espécie *Brachionus plicatilis* e Huang et al. (2013b) que testaram quatro tipos de pesticidas organoclorados avaliando os efeitos crônicos destes para a espécie *B. calyciflorus*. Nestes dois últimos estudos ocorreu o fenômeno de hormesis, pelo menos para algum dos agrotóxicos testados. Este fenômeno caracterizado pelo fato de pequenas quantidades de um agente tóxico produzirem efeito estimulador, qualitativamente diferente do efeito produzido com dosagens maiores (Towsend e Luckey, 1960).

Percebemos ainda a necessidade de se encontrar espécies indicadoras para estudos ecotoxicológicos em águas doces tropicais, visto que a proteção e conservação da biodiversidade é um dos principais objetivos da humanidade, como reconhecido na Convenção Rio-1992. É também um paradoxo que relativamente poucas pesquisas ecotoxicológicas tenham sido realizadas utilizando espécies autóctones de rotíferos como organismos-teste. Existe ainda o risco de que espécies não-nativas possam ser acidentalmente introduzidas nos ambientes aquáticos e que muitos critérios de qualidade da água em regiões tropicais sejam baseadas em testes ecotoxicológicos com espécies não-nativas. Isso pode levar a erros no estabelecimento de níveis máximos permitidos de produtos químicos em corpos d'água. Assim, reiteramos aqui a idéia de utilizar espécies nativas e/ou cosmopolitas em avaliações ecotoxicológicas.

Reiteramos ainda a importância da utilização de espécies representativas para o ambiente litorâneo dos corpos d'água, já que as espécies mais estudadas, *Brachionus plicatilis*, *Brachionus rotundiformis* e *Brachionus calyciflorus* são planctônicas. Espécies litorâneas estão associadas a sedimentos e matéria orgânica, que são conhecidos por

acumularem / absorverem contaminantes e sua utilização permitiria analisar os efeitos tóxicos dos habitats mais propensos a contaminantes.

Contudo podemos concluir que, os rotíferos tem desempenhado um papel crescente na Ecotoxicologia. Eles tem se tornado cada vez mais importantes por várias razões: o acúmulo de conhecimento sobre este grupo ao longo dos últimos anos, também no que diz respeito ao seu genoma (Denekamp et al., 2009) e pelo fato de que possuem características biológicas que prontamente os recomendam como organismos-teste (Snell e Janssen, 1995; Dahms et al., 2011): tamanho pequeno, reprodução sexuada e assexuada, partenogênese para alguns indivíduos, alta fecundidade e ciclo de vida curto. Existe a possibilidade de se obter um grande número de indivíduos para bioensaios com o mínimo de problemas e com redução do tempo e despesas. Por clonagem é possível obter milhares de animais geneticamente uniformes em um curto período de tempo. Por fim, o contínuo e crescente interesse em questões de poluição aquática de um público em geral, onde visando a facilidade e relevância ecológica por meio de testes ecotoxicológicos, farão com que sua utilização em conjunto com outros invertebrados sejam úteis e necessárias para a avaliação de risco.

Referências

- AGBON, A. O., OFOJEKWU, P. C., EZENWAKA, I. S. and ALEGBELEYE, W. O., 2002. Acute toxicity of diazoxon to rotifers, cyclops, mosquito larvae and fish. *Journal of Applied Science and Environmental Management*, vol. 6, no. 1, p. 18-21.
- AGUILAR-ALBEROLA, J.A. and MESQUITA-JOANES, F., 2012. Acute Toxicity Tests with Cadmium, Lead, Sodium Dodecyl Sulfate, and *Bacillus thuringiensis* on a Temporary Pond Ostracod. *Internat Rev Hydrobiologia*, vol. 97, no. 4, p. 375–388.
- ASTM - American Society for Testing and Materials, 2004. *Standard guide for acute toxicity test with the rotifer Brachionus*. E1440-91. United States.
- BARNES, R. S. K., CALOW, P. e OLIVE, P. J. W., 1995. *Os invertebrados: uma nova síntese*. Atheneu, São Paulo.
- BARNES, R. S. K. e RUPPERT, E. E., 1996. *Zoologia de invertebrados*. 6 Ed. São Paulo: Roca, p. 301-311.
- BREITHOLTZ, M., RUDEN, C., HANSSON, C. O. and BENGTTSSON, B. E., 2006. Ten challenges for improved ecotoxicological testing in environmental risk assessment. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, vol. 63, p. 324–335.
- BURATINI, S. V. e BRANDELLI, A., 2006. Bioacumulação. In: ZAGATTO, P. A.; BERTOLETTI, E. *Ecotoxicologia aquática*. São Carlos: Rima, p. 55-87.

DAHMS, H.-U. and HELLIO, C., 2009. Chapter 12: laboratory based assays for antifouling compounds. In: Yebra, S., Hellio, C. (Eds.), *Advances in Antifouling Coatings and Technologies*. Woodhead Publishers, Oxford, Cambridge, New Delhi, p. 275–307.

DAD, N. K. and PANDYA, K., 1982. Acute toxicity of two insecticides to rotifer *Brachionus calyciflorus*. *International Journal of Environmental Studies*, vol. 18, p. 245–246.

DAHMS, HANS-U., HAGIWARAC, A., LEE. and JAE-SEONG., 2011. Ecotoxicology, ecophysiology, and mechanistic studies with rotifers. *Aquatic Toxicology*, vol. 101, p. 1–12.

DENEKAMP, N. Y., THORNE, M. A., CLARK, M. S., KUBE, M., REINHARDT, R. and LUBZENS, E., 2009. Discovering genes associated with dormancy in the monogonont rotifer *Brachionus plicatilis*. *BMC Genomics*, vol. 10, 108 p.

DONNER, J., 1965. *Ordnung Bdelloidea (Rotifera, Rädertiere)*. Akademie Verlag, Berlin. 297 p. (in German).

EDMONDSON, W.T., 1959. *Freshwater Biology*. 2 ed. New York John Wiley & Sons Inc. 1248 p.

EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA (EMBRAPA), 2004. *Monitoramento do risco ambiental de agrotóxico: princípios e recomendações*. Jaguariúna: Embrapa meio ambiente, 29 p.

FERNÁNDEZ-CASALDERREY, A., FERRANDO, M. D., GAMON, M. and ANDREU-MOLINER, E., 1991. Acute Toxicity and Bioaccumulation of Endosulfan in Rotifer (*Brachionus calyciflorus*). *Comparative Biochemistry and Physiology. C. Pharmacology, Toxicology and Endocrinology*, vol. 100, no. 1-2, p. 61-63.

FERNANDEZ-CASALDERREY, A., FERRANDO, M. D. and ANDREAU-MOLINER, E., 1992a. Acute toxicity of several pesticides to Rotifer (*Brachionus calyciflorus*). *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*, vol. 48, p. 14-17.

FERNÁNDEZ-CASALDERREY, A., FERRANDO, M. D. and ANDREU-MOLINER, E., 1992b. Effect of Sublethal Diazinon Concentrations on the Demographic Parameters of *Brachionus calyciflorus* Pallas (Rotifera). *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*, vol. 48, p. 202-208.

FERNÁNDEZ-CASALDERREY, A., FERRANDO, M. D. and ANDREU-MOLINER, E., 1992c. Endosulfan and Diazinon Toxicity to the Freshwater Rotifer *Brachionus calyciflorus*. *Journal of Environmental Science and Health. Part B. Pesticides Food Contaminants and Agricultural Wastes*, vol. 27, no. 2, p. 155-64.

FERNÁNDEZ-CASALDERREY, A., FERRANDO, M. D. and ANDREU-MOLINER, E., 1993a. Effect of the insecticide methylparathion on filtration and ingestion rates of *Brachionus calyciflorus* and *Daphnia magna*. *Science of The Total Environment*, vol. 134, p. 867-876.

FERNÁNDEZ-CASALDERREY, A., FERRANDO, M. D. and ANDREU-MOLINER, E., 1993b. Chronic Toxicity of Methylparathion to the Rotifer *Brachionus calyciflorus* fed on *Nannochloris oculata* and *Chlorella pyrenoidosa*. *Hydrobiology*, vol. 83, p. 41-49.

FERRANDO, M. D. and ANDREU-MOLINER, E., 1991. Changes in selected biochemical parameters in the brain of the fish *Anguilla anguilla* (L), exposed to lindane. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*, vol. 47, p. 459-464.

FERRANDO, M. D., ANDREU-MOLINER, E. and FERNÁNDEZ-CASALDERREY, A., 1992. Relative sensitivity of *Daphnia magna* and *Brachionus calyciflorus* to five pesticides. *Journal of Environmental Science and Health. Part B. Pesticides Food Contaminants and Agricultural Wastes*, vol. 27, no. 5, p. 511-22.

FERRANDO, M. D., SANCHO, E. and ANDREU-MOLINER, E., 1996. Chronic toxicity of fenitrothion to an algae (*Nannochloris oculata*), a rotifer (*Brachionus calyciflorus*), and the cladoceran (*Daphnia magna*). *Ecotoxicology and Environmental Safety*, vol. 35, p. 112-120.

GAMA-FLORES, J. L., SARMA, S. S. S. and ARAZIA, M. A. F., 1999. Combined effects of *Chlorella* density and methyl parathion concentration on the population growth of *Brachionus calyciflorus* (Rotifera). *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*, vol. 62, p. 769-755.

GAMA-FLORES, J. L., SARMA, S. S. S. and ARAZIA, M. A. F., 2004. Acute and chronic toxicity of the pesticide methyl parathion to the rotifer *Brachionus angularis* (Rotifera) at different algal (*Chlorella vulgaris*) food densities. *Aquatic Ecology*, vol. 38, p. 27-36.

GOMEZ, A., 2005. Molecular ecology of rotifers: from population differentiation to speciation. *Hydrobiologia*, vol. 546, p. 83-99.

GOMEZ, A., SERRA, M., CARVALHO, G. R. and LUNT, D. H., 2002. Speciation in ancient cryptic species complexes: evidence from the molecular phylogeny of *Brachionus plicatilis* (Rotifera). *Evolution*, vol. 56, p. 1431-1444.

GRAVILESCU, M., 2005. Fate of pesticide in the environment and its bioremediation. *Engineering in Life Sciences*, vol. 5, no. 6, p. 497-526.

GRÜTZMACHER, D. D., GRÜTZMACHER, A. D., AGOSTINETTO, D., LOECK, A. E., ROMAN, R., PEIXOTO, S. C. e ZANELLA, R., 2008. Monitoramento de agrotóxicos em dois mananciais hídricos no sul do Brasil. *Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental*, vol. 12, no. 6, p. 632-637.

GUO, R., REN. and X., REN, H., 2012. A new method for analysis of the toxicity of organophosphorus pesticide, dimethoate on rotifer based on response surface methodology. *Journal of Hazardous Materials*, vol. 237-238, p. 270-276.

GUZZELLA, L., GRONDA, A. and COLOMBO, L., 1997. Acute Toxicity of Organophosphorus Insecticides to Marine Invertebrates. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*, vol. 59, no. 2, p. 313-320.

- HANAZATO, T., 2001. Pesticides effects on freshwater zooplankton: an ecological perspective. *Environmental Pollution*, vol. 112, p. 1-10.
- HUANG, L., XI, Y., ZHA, C. and ZHAO, L. L., 2007. Effect of Aldrin on Life History Characteristics of Rotifer *Brachionus calyciflorus* Pallas. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*, vol. 79, no. 5, p. 524-528.
- HUANG, L., LIU, C. L., WEI, C. and LI, J., 2011. Acute toxicity of two pyrethroids insecticides on *Brachionus calyciflorus*. *Plant Diseases and Pests*, vol. 2, no. 3, p. 62-64.
- HUANG, Y., LI, L., LIU, J. and LIN, W., 2013a. Botanical pesticides as potential rotifer-control agents in microalgal mass culture. *Algal Research* xxx (2013) xxx–xxx in press
- HUANG, L., XI, Y., ZHA, C. and WEN, X., 2013b. Responses in the population growth and reproduction of freshwater rotifer *Brachionus calyciflorus* to four organochlorine pesticides. *Annales de Limnologie-International Journal of Limnology*, vol. 49, p. 79–85.
- IESCE, M. R., DELLA GRECA, M., CERMOLA, F., RUBINO, M., ISIDORI, M. and PASCARELLA, L., 2006. Transformation and ecotoxicity of carbamic pesticides in water. *Environmental Science and Pollution Research*, vol. 13, no. 2, p. 105-109.
- KANEKO, G., YOSHINAGA, T., YANAGAWA, Y., KINOSHITA, S., TSUKAMOTO, K. and WATABE, S., 2005. Molecular characterization of Mn-superoxide dismutase and gene expression studies in dietary restricted *Brachionus plicatilis* rotifers. *Hydrobiologia*, vol. 546, p. 117–123.
- KE, L. X., XI, Y. L.; ZHA, C. W. and DONG, L. L., 2009. Effects of Three Organophosphorus Pesticides on Population Growth and Sexual Reproduction of Rotifer *Brachionus calyciflorus* Pallas. *Acta Ecologica Sinica*, vol. 29, no. 3, p.182–185.
- KOTANI, T., HAGIWARA, A., SNELL, T. W. and SERRA, M., 2005. Euryhaline *Brachionus* strains (Rotifera) from tropical habitats: morphology and allozyme patterns. *Hydrobiologia*, vol. 546, p. 161–167.
- LU, Z., ZHAO, B., YANG, J., TERRY, W. and SNELL, T. W., 2012. Effects of atrazine and carbaryl on growth and reproduction of the rotifer *Brachionus calyciflorus* Pallas. *Journal of Freshwater Ecology*, vol. 27, no. 4, p. 527-537.
- MARCIAL, H. S., HAGIWARA, A. and SNELL, T. W., 2002. Effect of known and suspected endocrine disrupting chemicals on the demographic parameters of the copepod *Tigriopus japonicus*. *Fisheries Science*, vol. 68, p. 863–866.
- MARCIAL, H. S., HAGIWARA, A. and SNELL, T. W., 2005. Effect of some pesticides on reproduction of rotifer *Brachionus plicatilis* Müller. *Hydrobiologia*, vol. 546, p. 569–575.
- MARCIAL, H. S. and HAGIWARA, A., 2007. Effect of diazinon on life stages and resting egg hatchability of rotifer *Brachionus plicatilis*. *Hydrobiologia*, vol. 593, no.1, p. 219-225.

MARCIAL, H. S. and HAGIWARA, A., 2008. Acute toxic concentrations of endocrine disrupting compounds on the copepod, the cladoceran, and the rotifer. *Bulletin of the Faculty of Fisheries*, vol. 89, p. 37-44.

NOGRADY, T., WALLACE, R. L. and SNELL, T. W., 1993. *Rotifera: biology, ecology and systematic*. In: DUMONT, H.J.F. (Coord.). Guides to the identification of the microinvertebrates of the continental waters of the world. Netherlands: SPB Academic Publishing, vol. 1, 142 p.

NOGRADY, T., POURRIOT, R. and SEGERS, H. 1995. *Rotifera: the Notommatidae and the Scardiidae*. In: DUMONT, H.J.F. (Coord.). Guides to the identification of the microinvertebrates of the continental waters of the world. Netherlands: SPB Academic Publishing, vol. 3, 248 p.

OECD - Organization for Economic Cooperation, Development, 2006. *Detailed review paper on aquatic arthropods in life-cycle toxicity tests with an emphasis on developmental, reproductive and endocrine disruptive effects*. Paris, 125 p.

OLIVEIRA-NETO, A. L. e MORENO, I. H., 1999. *Rotíferos*. In Biodiversidade do Estado de São Paulo, Brasil: síntese do conhecimento ao final do século XX. Invertebrados de água doce (C.A. Joly & C.E.M. Bicudo, coord.). FAPESP, São Paulo, vol. 4.

PÉREZ-LEGASPI, I. A., QUINTANAR, J. L. and RICO-MARTÍNEZ, R., 2010. Comparing toxicity endpoints on *Lecane quadridentata* (Rotifera: Monogononta) exposed to two anticholinesterases pesticides. *Environmental Toxicology*, vol. 27, no. 9, p. 518-525.

PIMENTEL, D. and LEVITAN, L., 1986. Pesticide: amounts applied and amounts reaching plants. *Bioscience*, vol. 36, p. 86-91.

PRESTON, B. L., SNELL, T. W., ROBINSON, T. L. and DINGMANN, B. J., 2000. Use of the freshwater rotifer *Brachionus calyciflorus* in a screening assay for potential endocrine disruptors. *Environmental Toxicology and Chemistry*, vol. 19, p. 2923–2928.

PRESTON, B. L., SNELL, T. W., FIELDS, D. M. and WEISSBURG, M. J., 2001. The effects of fluid motion on toxicant sensitivity of the rotifer *Brachionus calyciflorus*. *Aquatic Toxicology*, vol. 52, p. 117–131.

SARMA, S. S. S., NANDINIB, S. and FERNÁNDEZ ARAIZA, M. A., 1998. Effect of Methyl Parathion-Treated Prey (*Brachionus calyciflorus*) on the Population Growth of the Predator *Asplanchna sieboldi* (Rotifera). *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*, vol. 61, no. 1, p. 135-142.

SARMA, S. S. S., NANDINIB, S. and FLORESA, J. L. G., 2001a. Effect of Methyl Parathion on the Population Growth of the Rotifer *Brachionus patulus* (O. F. Müller) under Different Algal Food (*Chlorella vulgaris*) Densities. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, vol. 48, no. 2, p. 190-195.

SARMA, S. S. S., RAMÍEZ-PÉREZ, T., NANDINIB, S. and PEÑALOSA-CASTRO, L., 2001b. Combined Effects of Food Concentration and the Herbicide 2,4-

Dichlorophenoxyacetic Acid on the Population Dynamics of *Brachionus patulus* (Rotifera). *Ecotoxicology*, vol. 10, no. 2, p. 91-99.

SEGERS, H., 2007. Annotated checklist of the rotifers (Phylum Rotifera), with notes on nomenclature, taxonomy and distribution. *Zootaxa*, 1564. Magnolia Press Auckland, New Zealand, 144 p.

SERRANO, L., MIRACLE, M. R. and SERRA, M., 1986. Differential response of *Brachionus plicatilis* (Rotifera) ecotypes to various insecticides. *Journal of Environmental Biology*, vol. 7, p. 259-276.

SILVA, J. M. e SANTOS, J. R., 2007. Toxicologia de agrotóxicos em ambientes aquáticos. *Oecologia Brasiliensis*, vol. 11, no. 4, p. 565-573.

SNELL, T. W., MOFFAT, B. D., JANSSEN, C. and PERSOONE, G., 1991. Acute Toxicity Tests Using Rotifers IV. Effects of Cyst Age, Temperature, and Salinity on the Sensitivity of *Brachionus calyciflorus*. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, vol. 21, no. 3, p. 308-317.

SNELL, T. W. and MOFFAT, B. D., 1992. A 2-d Life cycle test with the rotifer *Brachionus calyciflorus*. *Environmental Toxicology and Chemistry*, vol. 11, no. 9, p.1249-1257.

SNELL, T. W. and JANSSEN, C., 1995. Rotifers in ecotoxicology: a review. *Hydrobiologia*, vol. 313/314, p. 231–247.

SNELL, T. W., KUBANEK, J. M., CARTER, W. E., PAYNE, A. B., KIM, J., HICKS, M. and STELZER, C. P., 2006. A protein signal triggers sexual reproduction in *Brachionus plicatilis* (Rotifera). *Marine Biology*, vol. 149, p. 763–773.

SNELL, T. W., and JOAQUIM-JUSTO, C., 2007. Workshop on rotifers in ecotoxicology. *Hydrobiol*, vol. 593, p. 227–232.

SPRAGUE, J. B., 1985. Factors that modify toxicity. In: RAND, G.M; PETROCELLI, S.R. *Fundamentals of aquatic toxicology: methods and applications*. New York: Hemisphere, p.124-163.

STANDARD METHODS, 1998. *Estimating Chronic Toxicity Using Rotifers. Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater*, vol. 20, no. 8420, p. 8-62–8-65.

SUGA, K., WELCH, D. M., TANAKA, Y., SAKAKURA, Y. and HAGIWARA, A., 2007. Analysis of expressed sequence tags of the cyclically parthenogenetic rotifer *Brachionus plicatilis*. *Plos one*, vol. 8, p. 1–7.

TANAKA, C., HASHIMOTO, Y., NAKAO, S. and YOSHINAGA, T., 2009. Effect of juglone on the survival time of two *Brachionus* species (Rotifera): species-specific tolerance against oxidative stress. *Fisheries Science*, vol. 75, p. 191–194.

TOWNSEND, J. F. and LUCKEY, T. D., 1960. Hormoligosis in pharmacology. *The Journal of the American Medical Association*, vol. 173, p. 44-48.

USEPA, 2001. *Final report: inter-laboratory variability study of EPA short-term chronic and acute whole effluent toxicity test methods*. Office of water Washington, USA. EPA 821-B 01-004.

WALLACE, R. L., 2002. Rotifers: exquisite metazoans. *Integrative and Comparative Biology*, vol. 42, p. 660–667.

WIGHTWICK, A. and ALLINSON, G., 2009. Effect of Increasing Salinity on the Toxicity of Methidathion to Freshwater Rotifers (*Philodina acuticornis odiosa*). *Australasian Journal of Ecotoxicology*, vol. 15, p. 11-15.

WHO - WORLD HEALTH ORGANIZATION, 1990. *Public health impact of pesticides used in agriculture*. Geneva: World Health Organization.

XI, Y. L., CHU, Z. and XU, X., 2007. Effect of four organochlorine pesticides on the reproduction of freshwater rotifer *Brachionus calyciflorus* Pallas. *Environmental Toxicology and Chemistry*, vol. 26, no. 8, p. 1695–1699.

YOSHINAGA, T., KANEKO, G., KINOSHITA, S., TSUKAMOTO, K. and WATABE, S., 2003. The molecular mechanisms of life history alterations in a rotifer: a novel approach in population dynamics. *Comparative Biochemistry and Physiology Part B: Biochemistry and Molecular Biology*, vol. 136, p. 715–722.

ZISCHKE, J.A. et al., 1985. Effects of pentachlorophenol on invertebrates and fish in outdoor experimental channels. *Aquatic Toxicology*, vol. 7, p. 37-58.

Capítulo 5: A toxicidade do pesticida carbofurano à biota de água doce: Rotíferos como organismos-teste

Resumo

No presente estudo foram avaliados os efeitos da exposição de *Philodina roseola* ao agrotóxico carbofurano. Para isso foi estabelecida a faixa de sensibilidade desta espécie ao dicromato de potássio. Em seguida foram determinadas as CE₅₀ 48-h do carbofurano e do seu produto comercial, o Furadan[®] 350 SC. A toxicidade crônica foi determinada avaliando-se os efeitos do Furadan[®] 350 SC sobre a sobrevivência e a fecundidade dos organismos-teste. A faixa de sensibilidade de *P. roseola* ao dicromato de potássio compreendeu de 29,52 a 64,67 mg L⁻¹, com um valor médio de 47,10 mg L⁻¹. Os valores de CE₅₀ 48-h obtidos para o ingrediente ativo e para o produto formulado foram 13,36 ± 2,63 mg L⁻¹ e 89,32 ± 6,52 mg L⁻¹, respectivamente. Os resultados dos testes de toxicidade crônica com o produto comercial evidenciaram que a sobrevivência das fêmeas não foi afetada nas concentrações testadas e que, nas concentrações de 1,56 e 3,12 mg L⁻¹, a fecundidade foi aumentada, caracterizando o fenômeno de hormesis. A distribuição da sensibilidade das espécies ao carbofurano evidenciou que *P.roseola* é mais sensível a este agrotóxico do que o peixe *Clarias batrachus*, a bactéria *Vibrio fischeri* e o protozoário *Paramecium caudatum* e que para este organismo-teste a toxicidade aguda do agrotóxico Furadan[®] 350 SC é menor do que a do seu ingrediente ativo. Pode-se também inferir que devido ao atual uso exacerbado de pesticidas e com a contínua e acelerada expansão agrícola *P.roseola*, espécie não-alvo e outras espécies da biota aquática encontram-se sujeitas aos efeitos adversos desse agrotóxico.

Palavras-chave: Furadan[®] 350 SC, dicromato de potássio, distribuição da sensibilidade das espécies (SSD), toxicidade crônica, hormesis.

1. Introdução

Os ecossistemas aquáticos tropicais constituem grandes reservatórios de biodiversidade, mas encontram-se atualmente sujeitos a várias ameaças por serem também receptores temporários ou finais de grande quantidade e variedade de poluentes, sejam eles lançados ao ar, ao solo, ou diretamente nos corpos d' água (Aguilar-Alberola e Mesquita-Joanes, 2012). Quando atingem os ambientes aquáticos, os poluentes podem ter vários destinos, que dependem das propriedades físicas do composto, das características químicas,

físicas e biológicas do ecossistema atingido, bem como da taxa de entrada do composto no ambiente (Rand, 1995). Tendo em vista isso, especialmente quando há grande proximidade entre um agroecossistema e ambientes aquáticos, os riscos de contaminação são eminentes (Abhilash e Singh, 2009).

A expansão agrícola tem sido considerada uma das principais ameaças à conservação da biodiversidade em águas continentais em todo o mundo (Lacher e Goldstein, 1997). Além dos inúmeros problemas relacionados à destruição da vegetação natural, a intensificação da agricultura tem levado a um crescimento exponencial na utilização de pesticidas, compostos geralmente com elevada toxicidade ambiental (Henriques et al., 1997; Carvalho, 2006).

Os carbamatos, dentre eles o carbofurano, tem tido uso crescente em plantações de arroz, algodão, café, cana-de-açúcar, feijão e milho (Ehler, 2004). Um dos problemas, no entanto, é o fato de que a maioria dos produtos químicos não é ecologicamente seletiva podendo constituir elevado perigo para a sobrevivência de espécies não-alvo. No caso específico do carbofurano é conhecido que este se liga de forma reversível à enzima acetilcolinesterase, inibindo a ação desta sobre a acetilcolina (Trotter et al., 1991; Gupta, 1994; Heath et al., 1997). É um composto considerado altamente tóxico para as aves, abelhas, além de peixes e outros animais aquáticos (Collective SPA, 2002).

Uma avaliação mais aprofundada das consequências do carbofurano sobre a biota aquática requer, no entanto, avaliações mais aprofundadas, envolvendo diferentes organismos-teste. Em uma revisão, Breitholtz et al. (2006) listaram critérios desafiadores para a validação de testes ecotoxicológicos na avaliação de riscos ambientais. Estes autores observaram que a adequação de um teste de ecotoxicidade utilizando organismo modelo deverá ser avaliada com base no custo, relevância ecológica, confiabilidade (reprodutibilidade) e sensibilidade, assim como já anteriormente recomendado por Rand et al. (1995).

Os invertebrados do Filo Rotifera estão presentes na ampla maioria dos ecossistemas aquáticos, mas tem sido pouco utilizados como organismos-teste, apesar de reunirem diversos atributos biológicos que permitem a sua proposição como tal: tamanho pequeno, organização simples, reprodução partenogenética, alta fecundidade, ciclo de vida curto, reprodução sexuada e assexuada (Snell e Janssen, 1995). A representatividade ecológica e taxonômica, ampla distribuição, alta densidade na natureza e facilidade de cultivo justificam a utilização de várias espécies de rotíferos em estudos laboratoriais.

Embora na natureza todas as espécies sejam ecologicamente relevantes, a posição dos rotíferos nas cadeias alimentares em águas doces ou salobras, é crucial. Eles são

importantes consumidores primários, se alimentam de pequenos micro-organismos tais como as micro-algas, bactérias, leveduras e protozoários (Hyman, 1951; Miller e Harley, 2002) e usualmente atingem grande densidade populacional e extraordinárias taxas de produção (Starkweather, 1987; Walz, 1997; Wallace, 2002, Wallace e Snell, 2010). Ainda, os rotíferos ocupam posição relevante na cadeia alimentar de corpos d'água, participando ativamente no movimento de energia entre diferentes níveis tróficos (Armengol, 1980; Park e Marshall, 2000; Wetzel, 2001). São integrantes ativos do microbial loop ao consumirem diretamente partículas orgânicas em suspensão (Pourriot, 1965) ou indiretamente ao assimilarem substâncias orgânicas dissolvidas, quando consomem bactérias e protozoários (Arndt, 1993).

O objetivo do presente estudo foi avaliar os efeitos da toxicidade aguda e crônica do pesticida carbofurano, utilizando como organismo- teste a espécie *Philodina roseola* Ehrenberg, 1830 (Rotifera, Bdelloidea). Três questões específicas foram investigadas: (I) A faixa de sensibilidade deste rotífero a uma substância de referência visando o seu uso rotineiro em testes laboratoriais. (II) Os valores das CE₅₀ 48-h do agrotóxico comercial Furadan[®] 350 SC (FMC, Brasil; 350g i.a / L) e de seu ingrediente ativo (carbofurano). (III) Os efeitos de exposição prolongados (4 dias) do produto formulado aos parâmetros sobrevivência e fecundidade (produção de ovos).

2. Materiais e métodos

2.1. Manutenção e cultivo da espécie de Rotifera

Philodina roseola Ehrenberg, 1830 (Rotifera, Bdelloidea) foi coletada em tanques experimentais de 10.000 L de capacidade, localizados na Estação de Aquicultura do Departamento de Hidrobiologia da Universidade Federal de São Carlos, São Carlos, SP, Brasil (21°98'-31°25'S e 47°87'- 81°21'W) (Figura 1 – Apêndice A). Os indivíduos de *P. roseola* foram coletados com rede de plâncton de 68 µm de abertura de malha. A amostra foi armazenada em frascos de polietileno, os rotíferos foram identificados com base nas descrições de Koste e Terlutter (2001) e os indivíduos desta espécie foram isolados.

Como meio de cultivo foi utilizada água reconstituída preparada de acordo com os procedimentos recomendados pela Sociedade Americana de Testes e Materiais (ASTM, 2001) e de acordo com as recomendações da ABNT (2005), com as seguintes características: pH entre 7,0 e 7,8; dureza entre 40 e 48 mg CaCO₃ L⁻¹ e condutividade elétrica de 160 µS cm⁻¹ (Figura 2a – Apêndice A).

Os cultivos-estoque, com elevada densidade de *P. roseola* (em média 116 ind. mL⁻¹) foram mantidos em béqueres de 50 a 250 mL, em incubadora com temperatura controlada a 25 ± 1°C, com fotoperíodo de 16h claro: 8h escuro (Figura 3 – Apêndice A). Para evitar a evaporação do meio de cultura, os béqueres foram lacrados com filme de plástico e a manutenção das culturas foi realizada de acordo com os procedimentos propostos por Hagen et al. (2009), a cada 76 horas, quando eram então renovadas a água e o alimento.

Os indivíduos foram alimentados com suspensão algácea de *Raphidocelis subcapitata*, cultivada em meio CHU-12 (Müller, 1972), na concentração de 1 x 10⁵ células mL⁻¹ (Figura 2b – Apêndice A). A faixa de sensibilidade dos organismos-teste foi determinada por meio da realização de testes de toxicidade aguda com o dicromato de potássio.

Os rotíferos juvenis utilizados nos experimentos foram obtidos a partir dos cultivos-estoque. As observações dos organismos, assim como a separação dos juvenis foram realizadas sob microscópio estereoscópico e estes foram manuseados cuidadosamente com pipetas Pasteur. O ciclo de vida de um rotífero do gênero *Philodina* é de aproximadamente 20 dias, na temperatura de 22 °C (Ricci e Fascio, 1995). A fase juvenil, ou até antes da produção da primeira ninhada de ovos desses rotíferos é inferior a 3 dias de idade. Há uma clara distinção de tamanho entre rotíferos adultos e juvenis, ainda que apenas por um período limitado de tempo. Assim, os menores rotíferos (em comparação com os adultos ovíferos) foram coletados e utilizados nos testes, em conformidade com a recomendação de que os organismos-teste devem ter a menor idade possível (ASTM, 1996).

2.2. Produtos químicos e soluções-teste

Os três produtos químicos utilizados nos ensaios de toxicidade aguda foram: dicromato de potássio (K₂Cr₂O₇) (Labsynth, Brasil) (Ficha 1 – Apêndice B), carbofurano (2,3-dihidro-2,2-dimetil-7-benzofuranol N-Metilcarbamato) (Sigma-Aldrich) (Ficha 2 – Apêndice B) e Furadan[®] 350 SC (FMC, Brasil) (Ficha 3 – Apêndice B).

O primeiro composto é mundialmente utilizado como substância de referência sendo de uso rotineiro em testes de sensibilidade (Canadá Ambiente, 1990). O agrotóxico carbofurano foi selecionado por ser um poluente comumente encontrado como contaminante em águas subterrâneas e superficiais, em solos, ar, alimentos e animais (Richards et al., 1987; Waite et al., 1992; Fisher et al., 1999; Silva et al., 2009; Chelinho et al., 2012). Estes três produtos dicromato de potássio, carbofurano e Furadan[®] 350 SC, tinham respectivamente

graus de pureza de 99 %, 98% e 35%, sendo que para este último os outros 65% da composição correspondem aos ingredientes inertes adicionados na formulação do produto. A concentração da solução estoque de $K_2Cr_2O_7$ foi de 500 mg L^{-1} e, tanto para o carbofurano como para o Furadan[®] 350 SC, a concentração da solução estoque foi de 100 mg L^{-1} . Todos estes compostos tem alta solubilidade em água. As concentrações-teste de cada composto foram obtidas pela diluição da solução estoque em água reconstituída e estas foram protegidas da luz natural para evitar fotodegradação.

2.3. Testes de toxicidade aguda

Os testes de toxicidade incorporaram modificações das diretrizes padrão para testes de toxicidade aguda com base nos métodos disponíveis para rotíferos (ASTM, 2004), consistindo na exposição de 10 juvenis por réplica às seguintes concentrações nominais de dicromato de potássio: 21,22; 29,71; 41,59; 58,23; 81,52 e 114,13 mg L^{-1} ; de carbofurano: 0,78; 1,56; 3,12; 6,25; 12,5; 25 e 50 mg L^{-1} e de Furadan[®] 350 SC: 48,22; 57,86; 69,43; 83,52 e 100 mg L^{-1} . A faixa de concentrações testadas foi estabelecida de acordo com testes preliminares previamente realizados.

Para o dicromato de potássio os testes de toxicidade aguda foram repetidos 20 vezes, em intervalos variando entre 35 e 60 dias, para o estabelecimento da faixa de sensibilidade (ou carta-controle) de *Philodina roseola* a este composto. Para o carborurano e o Furadan[®] 350 SC, os testes foram repetidos 5 vezes, para se determinar a toxicidade aguda destes a esta espécie de rotífero.

Os testes de toxicidade aguda tiveram a duração de 48 horas e foram realizados em câmaras-teste que consistiram de vidros de relógio de 100 mm de diâmetro e estes mantidos individualmente dentro de placas de Petri (110 mm de diâmetro). Dez indivíduos juvenis de *P. roseola* foram transferidos a partir da cultura estoque para cada recipiente-teste utilizando uma micropipeta de vidro (microcapilar) sob microscópio estereoscópico da marca Leica[®] modelo MZ6, com aumento de 50 vezes. A água de cultivo eventualmente transferida com os rotíferos, e que poderia causar diluição das soluções-teste foi drenada em cada vidro de relógio com a utilização de micropipeta de vidro e, em seguida, as soluções-teste foram adicionadas aos recipientes.

Como controle utilizou-se apenas água reconstituída. Foram realizadas 4 repetições tanto para o controle como para cada concentração de composto testado, sendo que em cada réplica foram adicionados 2 mL de solução-teste e 10 rotíferos. Os experimentos foram

mantidos sob a mesma temperatura dos cultivos-estoque ($25 \pm 1^\circ\text{C}$), sem alimento e iluminação (Figura 4a – Apêndice A). No início dos testes foram realizadas medidas das variáveis pH, condutividade elétrica, temperatura, dureza da água e oxigênio dissolvido sendo que todas estas variáveis foram também medidas no final do teste. Para serem realizadas estas medições um volume de 100 mL de cada solução-teste, e da solução-controle foram inicialmente preparados. Após a adição de 2 mL em cada recipiente teste, o volume restante foi suficiente para a medição destas variáveis, sendo o recipiente com o volume restante mantido na mesma incubadora onde os experimentos seriam realizados.

Após o período de exposição de 48 horas, o número de organismos imóveis nas 4 repetições foi observado sob microscópio estereoscópico. Neste estudo, o critério para determinar a imobilidade dos indivíduos foi a observação da ausência de movimento interno ou externo visível quando os organismos eram expostos à luz brilhante. Este critério foi escolhido porque um animal imóvel (mesmo que não morto) é removido funcionalmente da comunidade, porque já não se alimenta nem se reproduz.

2.4. Testes de toxicidade crônica

Os testes de toxicidade crônica incorporaram as seguintes modificações das diretrizes da Organização para a Cooperação e Desenvolvimento (Norma nº. 211, teste de reprodução para *Daphnia magna*) (OECD, 2008): os juvenis usados nos ensaios crônicos foram expostos individualmente em vidros de relógio (100 mm de diâmetro) e estes mantidos em placas de Petri (110 mm de diâmetro) contendo 2 mL de água reconstituída tanto para o controle como para as soluções-teste, sendo 1 organismo por réplica, num total de 10 réplicas para cada tratamento.

Os ensaios foram realizados com as seguintes concentrações nominais: 0,04; 0,09; 0,19; 0,39; 0,78; 1,56 e 3,12 mg L⁻¹ de Furadan® 350 SC. Estas concentrações foram escolhidas com base nos resultados dos testes preliminares de toxicidade aguda para o produto comercial. As maiores concentrações testadas nos ensaios agudos, em que ocorreu 100 % de sobrevivência dos organismos, foram tomadas como as mais elevadas concentrações a serem testadas nos ensaios crônicos. A partir destas concentrações 6 diluições foram preparadas, totalizando sete concentrações de ensaio crônico. Os testes foram realizados em condições semi-estáticas, sendo as soluções-teste e controle renovadas a cada 2 dias. A duração dos testes foi de 4 dias, e os organismos foram alimentados e cultivados como anteriormente descrito (Figura 4b – Apêndice A).

Durante os experimentos, as variáveis pH, temperatura, condutividade elétrica, oxigênio dissolvido e dureza total foram medidas quando as soluções-teste foram renovadas, para se verificar se estas poderiam afetar as respostas biológicas, sendo realizadas as medições como já descrito para os testes de toxicidade aguda. As possíveis alterações na reprodução foram avaliadas por meio dos parâmetros da fecundidade (número total de ovos produzidos por fêmea) durante o teste. Os recém-nascidos e ovos foram contados e removidos utilizando-se uma micropipeta de vidro sob microscópio estereoscópico. Também foi avaliada a sobrevivência de cada organismo-teste ao longo dos testes crônicos.

2.5. Tratamento de Dados e Análise Estatística

Para os testes de toxicidade aguda, após o período de exposição de 48 horas procedeu-se à contagem dos organismos imóveis. Se a porcentagem de indivíduos imóveis no controle excedesse 10%, o teste era considerado inválido, o que não ocorreu nos experimentos realizados. Os resultados foram expressos em CE_{50} – concentração efetiva mediana que causa efeito agudo a 50% dos organismos no tempo de exposição (ABNT, 2004), com intervalo de confiança de 95%, utilizando-se o programa estatístico Trimmed Spearman- Karber (Hamilton et al., 1977).

A faixa de sensibilidade de *P. roseola* ao dicromato de potássio, foi estabelecida por meio de um modelo desenvolvido pela U.S.EPA (1985). O gráfico foi plotado com base nos valores de CE_{50} 48-h obtidos em cada um dos 20 ensaios. O limite superior e inferior do intervalo é traçado por duas linhas que correspondem a mais ou menos dois desvios padrão do valor médio entre os vinte valores de CE_{50} 48-h obtidos.

Os dados dos testes crônicos foram analisados com o programa TOXSTAT 3.3 (Gulley et al., 1991). Dados de sobrevivência materna foram analisados pelo teste exato de Fisher, enquanto os dados de reprodução foram verificados primeiro para normalidade (com o teste do qui-quadrado) e homogeneidade (com o teste de Bartlett) da sua distribuição. Os dados de reprodução normal foram analisados por meio da análise unidirecional de variância (ANOVA) seguida pelo teste de Tukey para comparar as diferenças entre os tratamentos e o controle (Zar, 1996). A significância das diferenças na reprodução obtidas nos testes foi analisada para todos os dados e, quando aplicável, as diferenças significativas foram indicadas. Em todos os testes, a diferença foi aceita quando $P \leq 0,05$.

Os dados sobre a toxicidade do pesticida estudado para outras espécies foram tomados a partir da base de dados de ecotoxicidade disponível (<http://cfpub.epa.gov/ecotox/>).

tendo sido selecionados valores de CL_{50}/CE_{50} ($mg L^{-1}$) para bactéria, alga, protozoário, anfípoda, cladóceros, rotífero, decapoda, inseto e peixe. No caso em que a substância-teste foi um produto comercial, foram adotados os valores de toxicidade da concentração correspondente ao ingrediente ativo. A curva de distribuição da sensibilidade de espécies (SSD) foi construída utilizando o ETX software, versão 2.0 (Van Vlaardingen et al., 2004). O ETX inclui também o teste de Anderson -Darling para o ajuste de log-normalidade.

3. Resultados

3.1. Variáveis abióticas: validade dos testes

Durante os testes de toxicidade aguda para *Philodina roseola*, o pH médio medido nas soluções teste estiveram dentro do intervalo de 7,0-7,7 e não variou mais do que 1,0 unidade em qualquer ensaio de toxicidade aguda e durante os testes de toxicidade crônica, manteve-se dentro da faixa 7,2-7,6. A temperatura variou entre 24,0-25,0 °C durante todo o período em que foram realizados os testes de toxicidade aguda e toxicidade crônica. A condutividade elétrica variou entre 156,8 e 162,3 $\mu S cm^{-1}$ durante os testes de toxicidade aguda e entre 154,6 a 159,4 $\mu S cm^{-1}$ durante os testes de toxicidade crônica. A dureza da água variou entre 40 e 48 mg de $CaCO_3 L^{-1}$ durante todos os testes agudos e os testes crônicos. O teor de oxigênio dissolvido em todos os testes de toxicidade aguda, variou de 5,9-7,2 $mg L^{-1}$ e durante os testes de toxicidade crônica, variou entre 6,2-7,9 $mg L^{-1}$ (Apêndice C).

3.2. Toxicidade aguda

Os intervalos de sensibilidade de *Philodina roseola* para o dicromato de potássio estão apresentados na Figura 1. A faixa de sensibilidade de *P.roseola* à substância de referência dicromato de potássio, expressa em CE_{50} 48-h, se situou entre 29,52 e 64,67 $mg L^{-1}$, com um valor médio de 47,10 $mg L^{-1}$ (Tabela 1 – Apêndice C).

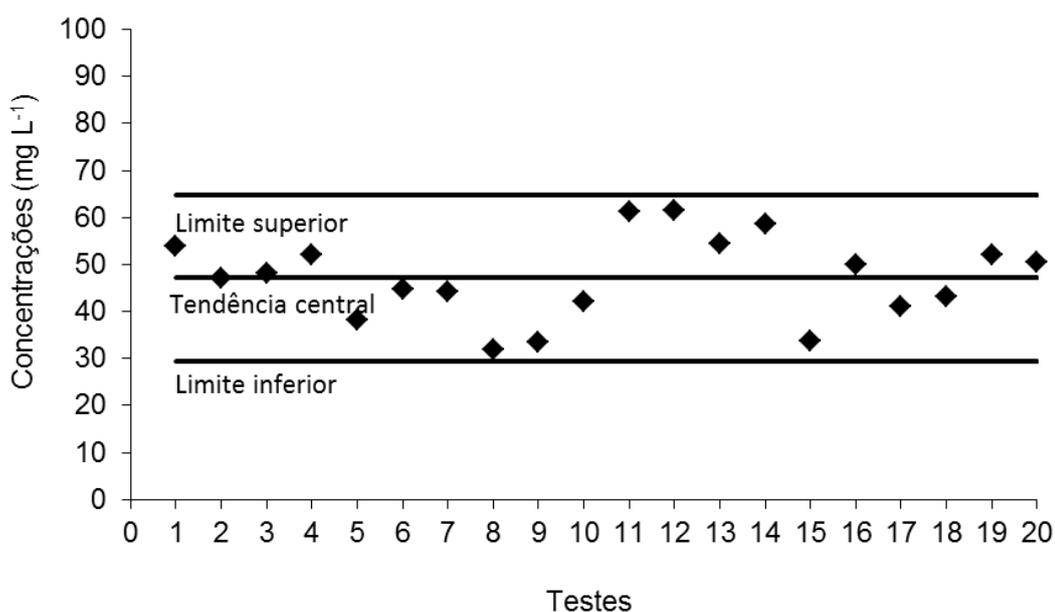


Figura 1. Faixa de sensibilidade de *Philodina roseola* ao cromo contido no dicromato de potássio, baseados em 20 testes de toxicidade aguda.

Os valores de CE₅₀ 48-h e respectivos intervalos de confiança (95%), para o agrotóxico Furadan[®] 350 SC e seu ingrediente ativo, o carbofurano, foram calculados separadamente para cada um dos 5 testes realizados. Os dados de CE₅₀, intervalos de confiança e os desvios padrão são apresentados na Tabela 1, com os resultados obtidos, pode-se observar que o ingrediente ativo, o carbofurano, foi mais tóxico do que o produto comercial Furadan[®] 350 SC (Tabela 2 e 3 – Apêndice C).

Tabela 1. Os valores estimados de CE₅₀ 48-h e respectivos intervalos de confiança (95%) de *Philodina roseola* para o ingrediente ativo carbofurano e o seu produto formulado Furadan[®] 350 SC.

Número do teste	Carbofurano (mg L ⁻¹)	Furadan [®] 350 SC (mg L ⁻¹)
1	10,05 (7,89 – 12,80)	81,96 (64,00 – 104,95)
2	16,62 (12,64 – 21,84)	92,49 (88,07 – 97,14)
3	13,67 (10,39 – 17,99)	82,72 (73,92 – 92,56)
4	11,49 (7,89 – 16,74)	96,08 (86,81 – 106,33)
5	14,96 (12,11 – 18,48)	93,37 (86,49 – 100,80)
X ± SD	13,36 ± 2,63	89,32 ± 6,52

3.3. Toxicidade crônica

A análise da sobrevivência das fêmeas cumpriu as exigências de validade de teste crônico de acordo com as orientações da OECD (2008), ou seja, a mortalidade do controle foi inferior a 20%, sendo que nos experimentos não houve nenhuma mortalidade no controle. Informações detalhadas sobre a biologia de *P. roseola* foram obtidas em um estudo paralelo (dados ainda não publicados), na qual o tempo de desenvolvimento de *P. roseola* (desde o nascimento do organismo até a produção da 3ª ninhada de filhotes) ocorre num período de 4 a 5 dias. No presente estudo isso foi observado com relação às fêmeas do controle.

Com relação à porcentagem de sobrevivência das fêmeas de *P. roseola* expostas ao Furadan® 350 SC nas concentrações testadas e no controle, nenhuma diferença significativa foi observada segundo Teste de Fisher (valor crítico de Fisher (10.10.10) ($P = 0,05$) ≤ 6 , $b = 10$) (Figura 2).

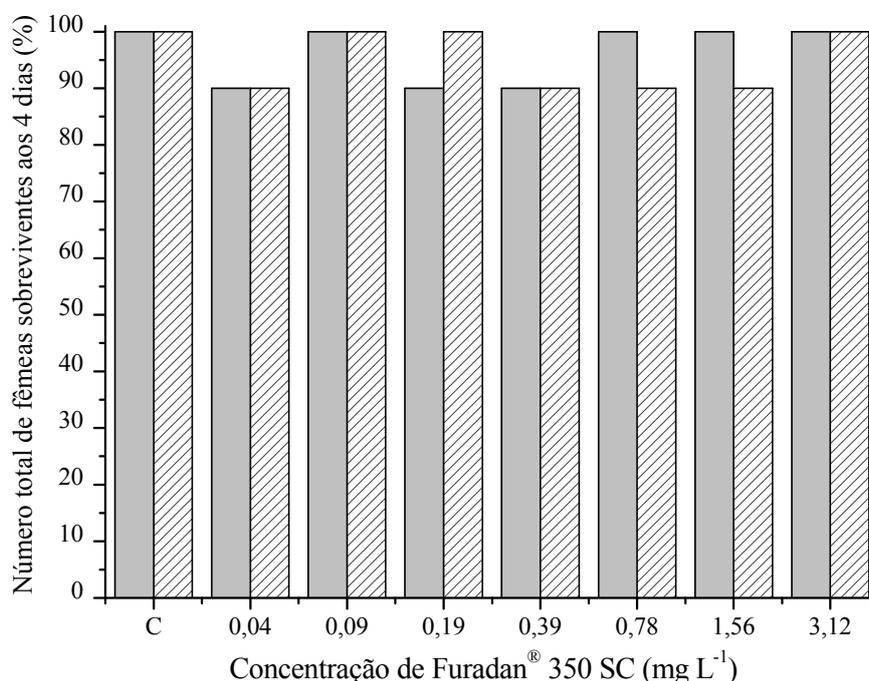


Figura 2. Porcentagem de fêmeas de *P. roseola* sobreviventes aos 4 dias de exposição ao Furadan® 350 SC, segundo Teste de Fisher (valor crítico de Fisher (10.10.10) ($P = 0,05$) ≤ 6 , $b = 10$), sendo em cinza os valores correspondentes ao teste 1 e em achuriado ao teste 2.

A Figura 3 mostra os efeitos do Furadan[®] 350 SC sobre a fecundidade após um bioensaio de 4 dias. Estímulo na fecundidade foi observado para as fêmeas expostas a 3,12 mg L⁻¹ quando comparados ao controle no primeiro teste ($F_{7,68} = 10,513$, $P < 0,05$). Observa-se que no segundo teste, as concentrações 1,56 e 3,12 mg L⁻¹, quando comparadas ao controle estimularam significativamente a, como evidenciado pelo Teste de Tukey fecundidade ($F_{7,69} = 25,363$, $P < 0,05$). A mais alta concentração sem efeito observável (CENO) calculada para a variável fecundidade teve valor de 0,78 mg L⁻¹ para ambos os testes e o menor valor de concentração de efeito observado (CEO) calculado para fecundidade foi de 3,12 mg L⁻¹ e 1,56 mg L⁻¹, para o primeiro e segundo teste respectivamente.

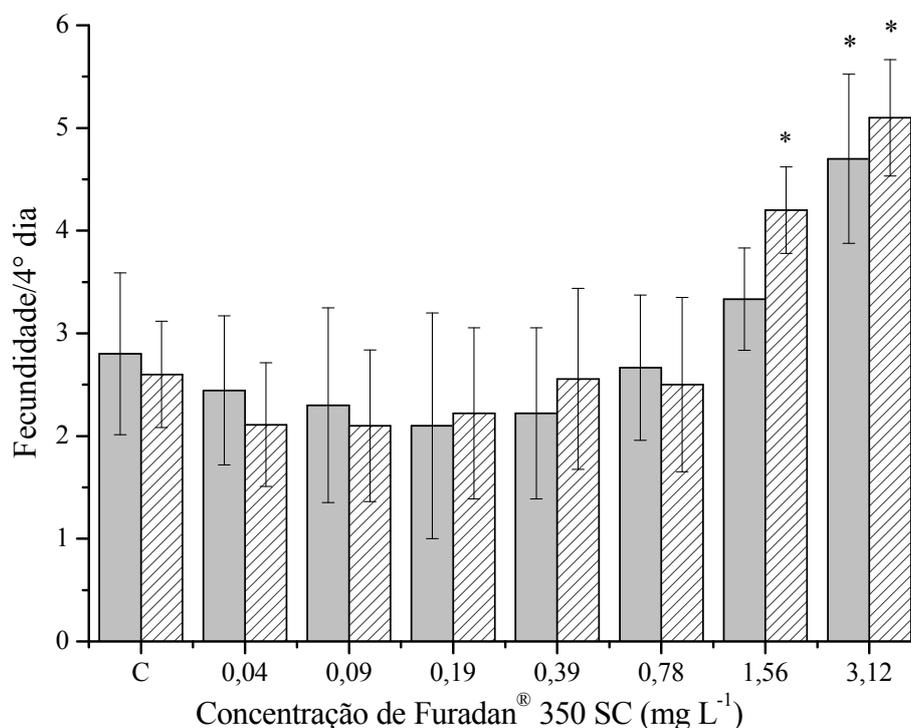


Figura 3. Fecundidade (número de ovos) (média ± DP) de *P. roseola* após 4 dias de exposição ao Furadan[®] 350 SC. * Indica diferença significativa em relação ao controle, pelo Teste de Tukey ($P \leq 0,05$), sendo em cinza os valores correspondentes ao teste 1 e em achuriado ao teste 2.

4. Discussão

A comparação da sensibilidade de *Philodina roseola*, o organismo-teste do presente estudo com espécies de diferentes grupos taxonômicos avaliadas em outros estudos revelou

que este rotífero tem menor sensibilidade ao cromo, sendo apenas mais sensível que o rotífero *Brachionus plicatilis* e os peixes *Danio rerio* e *Poecilia reticulata*, como pode ser observado na Tabela 2. As diferenças de sensibilidade observadas para este mesmo metal podem ter sido decorrentes de pequenas diferenças nas condições dos testes, mas mais provavelmente são devidas às características intrínsecas das espécies.

Tabela 2. Valores de toxicidade aguda (CL₅₀ ou CE₅₀) obtidos a partir da literatura para diferentes espécies expostas ao dicromato de potássio.

Organismo Teste	Parâmetro	CL ₅₀ /CE ₅₀ (mg L ⁻¹)	Referência
Rotifera			
<i>Philodina roseola</i>	Imobilização - 48h	47,1	Presente estudo
<i>Philodina acuticumis</i>	Mortalidade - 48h	29,0	Cairns Jr. et al.,1978
<i>Brachionus calyciflorus</i>	Mortalidade - 24h	5,2	Crisinel et al.,1994
<i>Brachionus plicatilis</i>	Mortalidade - 48h	53,9	Fileenko e Samoylova,2008
<i>Brachionus plicatilis</i>	Mortalidade - 24h	146,0	Persoone et al.,1989
Outros grupos taxonômicos			
<i>Raphidocelis subcapitata</i>	Inibição de crescimento - 72h	0,59	Halling-Sorensen,2000
<i>Paramecium caudatum</i>	Mortalidade - 24h	2,567	Madoni et al.,1994
<i>Tetrahymena pyriformis</i>	Inibição de crescimento - 9h	5,6	Bogaerts et al.,2001
<i>Pseudosida ramosa</i>	Mortalidade - 48h	0,029	Freitas e Rocha,2011
<i>Daphnia pulex</i>	Mortalidade - 48h	0,180	Wu et al.,2007
<i>Daphnia similis</i>	Mortalidade - 48h	0.025 - 0.042	Coelho e Rocha,2010
<i>Daphnia carinata</i>	Mortalidade - 48h	0,140	Wu et al.,2007
<i>Daphnia magna</i>	Mortalidade - 48h	0,290	Diamantino et al.,2000
	Mortalidade - 48h	0,154	Martínez-Jerónimo et al.,2008
<i>Simocephalus vetulus</i>	Mortalidade - 48h	0,270	Wu et al.,2007
<i>Acartia tonsa</i>	Mortalidade - 48h	10,0	Andersen et al.,2001
<i>Gammarus aequicauda</i>	Imobilização - 48h	9,520	Cesar et al.,2002
<i>Hyalella curvispina</i>	Mortalidade - 96h	0,550	Peluso et al.,2011
<i>Chironomus tentans</i>	Mortalidade - 48h	11,8	Khangerot e Ray,1989
<i>Cyprinodon variegatus</i>	Mortalidade - 96h	31,6	Hutchinson et al.,1994
<i>Danio rerio</i>	Mortalidade - 96h	89,1	Oliveira-Filho e Paumgarten,1997
<i>Poecilia reticulata</i>	Mortalidade - 96h	114,6	Oliveira-Filho e Paumgarten,1997

O cromo contido em dicromato de potássio é um metal amplamente utilizado para avaliar a sensibilidade de invertebrados criados em laboratório e empregados em estudos ecotoxicológicos (Canadá Ambiental, 1990; U.S.EPA, 2002). A saúde do animal no início de

um teste é a principal preocupação e é fortemente influenciada pelas condições de cultura, como a temperatura, o pH, a dureza, a densidade, o tipo e quantidade de alimentos dos cultivos-estoque utilizados em bioensaios.

Alguns estudos ecotoxicológicos com pesticidas tem demonstrado que o produto formulado (comercial) frequentemente apresenta maior toxicidade para organismos não-alvo do que os ingredientes ativos (Pereira et al., 2000; Cedergreen e Streibig, 2005; Pereira et al., 2009). Os pesticidas comercializados são geralmente uma mistura de um ingrediente ativo e de uma série de outros produtos químicos (geralmente chamados ingredientes inertes) que auxiliam na sua mistura, diluição, aplicação e estabilidade (Cox e Sorgan, 2006). Vários autores (Oakes e Pollak, 2000; Krogh et al., 2003; Solomon e Thompson, 2003) já questionaram a utilização de dados ecotoxicológicos obtidos utilizando-se apenas o ingrediente ativo dos pesticidas. Estes autores demonstraram que os chamados ingredientes inertes podem contribuir para grande parte da toxicidade da formulação, quer por exercer atividade tóxica por si próprios, ou por interação com o ingrediente ativo. Nossos resultados sobre a toxicidade do Furadan[®] 350 SC e seu respectivo ingrediente ativo, o carbofurano, para a espécie *Philodina roseola* não seguiu a tendência frequentemente observada de que o produto comercial acarreta maior toxicidade para os organismos não-alvo do que os ingredientes ativos. A faixa de sensibilidade de *P. roseola* ao carbofurano foi 6 vezes menor do que aquela obtida para o produto comercial Furadan[®] 350 SC, podendo-se portanto hipotetizar que essa menor toxicidade do produto comercial resultou de efeitos antagônicos dos ingredientes inertes adicionados ao ingrediente ativo, o carbofurano.

Comparando os dados de sensibilidade de *Philodina roseola* ao carbofurano, obtidos no presente estudo, aos de diferentes espécies, disponíveis na literatura também para a toxicidade aguda do carbofurano, por meio da curva SSD (Figura 4) observa-se que *Philodina roseola* é mais sensível do que o peixe *Clarias batrachus*, a bactéria *Vibrio fischeri* e o protozoário *Paramecium caudatum*, ao agrotóxico avaliado. Os Rotifera apresentam várias características especiais que os tipificam como oportunistas, típicos r-estrategista e de elevada adaptabilidade aos ambientes instáveis. Tais características incluem, por exemplo, uma alimentação menos especializada, elevada fecundidade e reprodução partenogenética frequente (Allan, 1976; Matsumura-Tundisi et al., 1990). Diversos trabalhos realizados em campo sobre o efeito dos agrotóxicos na comunidade zooplancônica evidenciaram a menor sensibilidade de efeito tóxico em rotíferos (Havens e Hanazato, 1993; Peither et al., 1996; Friberg-Jensen et al., 2003; Chang et al., 2005; Golombieski et al., 2008; López-Mancisidor et al., 2008).

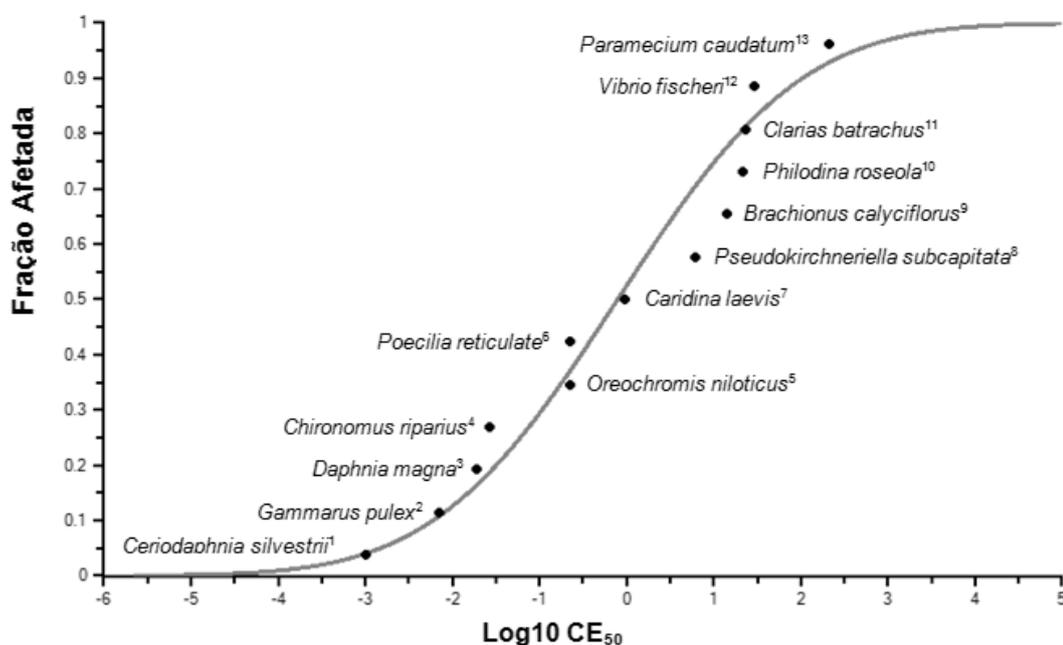


Figura 4. Distribuições de sensibilidade de espécies (SSD) pertencentes a diferentes grupos taxonômicos de acordo com os valores de CL₅₀ ou CE₅₀ (mg L⁻¹) para o pesticida carbofurano.

Nota (1) Mansano et al. (2013), (2) Ashauer et al. (2010), (3) Dobšíková (2003), (4) Ibrahim et al. (1998), (5) Pessoa et al. (2011), (6) Dobšíková (2003), (7) Sucahyo et al. (2008), (8) Ma et al. (2006), (9) Iesce et al. (2006), (10) Presente estudo, (11) Begum (2008), (12) Fernández-Alba et al. (2002), (13) Hussain et al. (2008).

Nossos resultados similarmente indicam que o rotífero *Philodina roseola*, embora menos sensível ao carbofurano do que outros organismos aquáticos, não é imune ao seu efeito tóxico e que com a contínua e acelerada expansão agrícola no país esta espécie não-alvo encontra-se sujeita aos efeitos adversos deste agrotóxico. Embora *P. roseola* não tenha sido a espécie mais sensível ao agrotóxico testado, o grupo dos rotíferos é um dos principais grupos componentes do zooplâncton na maioria dos ecossistemas aquáticos de água doce (Segers et al., 1993; Rocha et al., 1995; Bozelli, 2000; Sharma e Sharma, 2012) além do fato já comprovado de que uma dada espécie pode ser menos sensível a alguns compostos, mas extremamente sensível a outros. Desta forma *P.roseola* deverá ser, em estudos futuros, submetida a testes de toxicidade com inúmeros outros agentes tóxicos.

A sobrevivência de *P. roseola* exposta às concentrações subletais do Furadan[®] 350 SC, em 4 dias, não foi afetada em nenhuma das concentrações testadas, no entanto, nas duas maiores concentrações utilizadas, a fecundidade (número de ovos) foi estimulada significativamente. Alguns estudos que avaliaram os efeitos de agentes tóxicos durante o ciclo

de vida de rotíferos tem evidenciado o efeito dos mesmos como desreguladores endócrinos (Snell e Carmona, 1995; Preston et al., 2000; Preston e Snell, 2001; Radix et al., 2002; Xi et al., 2007) demonstrando que a reprodução sexual e a produção de ovos são os parâmetros mais sensíveis.

Nossos resultados exibem as características de hormesis, ação que ocorre quando pequenas quantidades de um agente tóxico produz um efeito estimulador que é qualitativamente diferente do efeito produzido sobre maiores dosagens (Towsend e Luckey, 1960). A prevalência do fenômeno hormesis para a dose-resposta a contaminantes ambientais foi abordado de forma abrangente por Calabrese e Blain (2005). Este fenômeno já foi reportado para muitas espécies do zooplâncton (Calabrese e Baldwin, 2003; Gama -Flores et al., 2007 ; Guo et al., 2012; Rumengan e Ohji, 2012) e também para outras espécies de rotíferos. Huang et al. (2013a) ao testarem o agrotóxico azadiractina em doses subletais, observaram um aumento na densidade da população de *B. plictilis*, nas menores concentrações destes pesticidas.

Porém, para *P.roseola* no nosso estudo, diferentemente do tipo de hormesis usualmente observado por referidos autores este tipo de resposta só ocorreu para as concentrações mais elevadas do Furadan[®] 350 SC. Este fato também foi recentemente registrado por Huang et al. (2013b) para uma das concentrações mais elevadas do pesticida aldrin na qual a fecundidade de *B. calyciflorus* foi mais elevada do que nas concentrações menores.

As causas subjacentes para estes tipos de hormesis permanecem pouco compreendidas, e sua relevância ecológica ainda é controversa (Forbes, 2000). No entanto, podemos inferir que a maior fecundidade nas maiores concentrações de agrotóxico nos testes de toxicidade crônica terá provavelmente reflexos adversos para seu desempenho reprodutivo futuro e também na sobrevivência materna, como consequência da alocação energética em reprodução sob o estresse do pesticida. Snell e King (1977) em um estudo em que foi estudada a sobrevivência específica da idade e a fecundidade do rotífero *Asplanchna brightwelli* observaram que existe uma barganha (trade-off) entre a longevidade e o desempenho reprodutivo destes rotíferos. A aqueles que tem uma alta fecundidade tendem a não viver tanto quanto aqueles que se reproduzem a uma taxa menor. A reprodução em qualquer idade diminui marcadamente a sobrevivência da classe etária seguinte. Nestes rotíferos a reprodução é claramente deletéria à sobrevivência e, portanto ao futuro sucesso reprodutivo. Longe de serem estáticos, os balanços energéticos mudam com as condições ambientais mas tem efeitos diversos no ciclo de vida das espécies.

As razões para a resposta diferenciada de *P. roseola* ao carbofurano incluindo o efeito de hormesis necessita de investigação mais aprofundada, levando-se em conta que, na natureza, os organismos têm mecanismos compensatórios e também que é difícil simular em laboratório a complexidade multifatorial do ambiente natural. Estudos em mesocosmos (cenários mais complexos e mais realistas) podem ser úteis para uma compreensão mais profunda dos efeitos deste agrotóxico e de suas interações com outros fatores ambientais nos ambientes aquáticos.

Pode-se concluir que o rotífero *Philodina roseola* é menos sensível ao dicromato de potássio e ao carbofurano do que outras espécies aquáticas e que o produto comercial do agrotóxico Furadan[®] 350 SC é menos tóxico do que o seu ingrediente ativo, o carbofurano. Podemos concluir ainda que a dose-resposta de *P. roseola* a este agrotóxico, em exposição crônica, envolveu a ocorrência de um tipo diferente de hormesis cujo modo de ação necessita ser mais investigado.

Referências

ABHILASH, P.C. and SINGH, N., 2009. Pesticide use and application: An Indian scenario. *Journal of Hazardous Materials*, vol. 165, p. 1-12.

ABNT - Associação Brasileira de Normas Técnicas, 2004. *Ecotoxicologia aquática – toxicidade aguda – Método de ensaio com Daphnia ssp. (Cladocera, Crustacea)*. NBR 12713. Rio de Janeiro.

ABNT - Associação Brasileira de Normas Técnicas, 2005. *Ecotoxicologia aquática - Toxicidade crônica – Método de ensaio com Ceriodaphnia spp. (Crustacea, Cladocera)*. NBR 13373. Rio de Janeiro, 15 p.

AGUILAR-ALBEROLA, J.A. and MESQUITA-JOANES, F., 2012. Acute Toxicity Tests with Cadmium, Lead, Sodium Dodecyl Sulfate, and *Bacillus thuringiensis* on a Temporary Pond Ostracod. *International Review of Hydrobiology*, vol. 97, no. 4, p. 375-388.

ALLAN, J.D., 1976. Life history patterns in zooplankton. *The American Naturalist*, vol. 110, p. 65-176.

ALLINSON, G., HAGEN, T., SALZMAN, S., WIGHTWICK, A. and NUGEGODA, D., 2011. Effect of increasing salinity on the acute toxicity of a commercial endosulfan formulation to the bdelloid rotifer *Philodina acuticornis odiosa*. *Environmental Toxicology and Chemistry*, vol. 93, no. 4, p. 722-728.

ANDERSEN, H.R., WOLLENBERGER, L., HALLING-SORENSEN, B. and KUSK, K.O., 2001. Development of Copepod Nauplii to Copepodites - a Parameter for Chronic Toxicity Including Endocrine Disruption. *Environmental Toxicology and Chemistry*, vol. 20, no. 12, p. 2821-2829.

ASHAUER, R., CARAVATTI, I., HINTERMEISTER, A. and ESCHER B.I., 2010. Bioaccumulation Kinetics of Organic Xenobiotic Pollutants in the Freshwater Invertebrate *Gammarus pulex* Modeled with Prediction Intervals. *Environmental Toxicology and Chemistry*, vol. 29, no. 7, p. 1625-1636.

ASTM - American Society for Testing and Materials, 1996. *Standard guide for acute toxicity tests on test materials with fishes, macroinvertebrates, and amphibians*. E729:218–238. United States.

ASTM - American Society for Testing and Materials, 2001. *Standard guide for conducting acute toxicity testing on test materials with fishes, macroinvertebrates, and amphibians*. E729–E796. West Conshohocken, PA.

ASTM - American Society for Testing and Materials, 2004. *Standard guide for acute toxicity test with the rotifer *Brachionus**. E1440-91. United States .

ARMENGOL, J., 1980. Colonización de los embalses españoles por crustáceos planctónicos y evolución de la estructura de sus comunidades. *Oecologia Aquatica*, vol. 4, p. 45-70.

ARNDT, H., 1993. Rotifers as predators on components of the microbial web (bacteria, heterotrophic flagellates, ciliates): A review. *Hydrobiologia*, vol. 255/256, p. 231-246.

BEGUM, G., 2008. Assessment of Biochemical Markers of Carbofuran Toxicity and Recovery Response in Tissues of the Freshwater Teleost, *Clarias batrachus* (Linn). *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*, vol. 81, no. 5, p. 480-484.

BOGAERTS, P., BOHATIER, J. and BONNEMOY, F., 2001. Use of the Ciliated Protozoan *Tetrahymena pyriformis* for the Assessment of Toxicity and Quantitative Structure-Activity Relationships of Xenobiotics: Comparison with the Microtox Test. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, vol. 49, p. 293-301.

BOZELLI, R.L., 2000. Zooplâncton. In: Bozelli, R.L., Esteves, F.A. and Roland, F. (Eds.). *Lago Batata: impacto e recuperação de um ecossistema amazônico*. Rio de Janeiro: IB-UFRJ; SBL 119-138.

BREITHOLTZ, M., RUDEN, C., HANSSON, C.O. and BENGTSSON, B.E., 2006. Ten challenges for improved ecotoxicological testing in environmental risk assessment. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, vol. 63, p. 324–335.

BUIKEMA, A.L., CAIRNS, J.R.J., GAIL, W. and SULLIVAN, G.W., 1974. Evaluation of *Philodina acuticornis* (Rotifera) as a bioassay organism for heavy metals. *Water Resources Bulletin*, vol. 10, no. 4, p. 648-66.

- CAIRNS, J.J.R., BUIKEMA, A.L., HEATH, A.G. and PARKER, B.C., 1978. *Effects of temperature on aquatic organism sensitivity to selected chemicals*. Bulletin 106. Virginia: Virginia Water Resources Research Center. 88 p.
- CALABRESE, E.J. and BALDWIN, L.A., 2003. Inorganics and hormesis. *Critical Reviews in Toxicology*, vol. 33, p. 215-304.
- CALABRESE, E.J. and BLAIN, R., 2005. The occurrence of hormetic dose responses in the toxicological literature, the hormesis database: an overview. *Toxicology and Applied Pharmacology*, vol. 202, p. 289-301.
- CARVALHO, F.P., 2006. Agriculture, pesticides, food security and food safety. *Environmental Science & Policy*, vol. 9, p. 685-692.
- CASTILLO, L.E., CRUZ, E.D.L. and RUEPERT, C., 1997. Ecotoxicology and pesticides in tropical aquatic ecosystems of Central America. *Environmental Toxicology and Chemistry*, vol. 16, p. 41-51.
- CEDERGREEN, N. and STREIBIG, J.C., 2005. The toxicity of herbicides to nontarget aquatic plants and algae: assessment of predictive factors and hazard. *Pest Management Science*, vol. 61, p. 1152-1160.
- CESAR, A., MARIN-GUIRAO, L., VITA, R. and MARIN, A., 2002. Sensitivity of Mediterranean Amphipods and Sea Urchins to Reference Toxicants (Sensibilidad de Anfipodos y erizos del Mar Mediterraneo a Sustancias Toxicas de Referencia). *Ciencias Marinas*, vol. 28, p. 407-417.
- CHANG, K.H., SAKAMOTO, M. and HANAZATO, T., 2005. Impact of pesticide application on zooplankton communities with different densities of invertebrate predators: An experimental analysis using smallscale mesocosms. *Aquatic Toxicology*, vol. 72, p. 373-382.
- CHELINHO, S., LOPES, I., NATAL-DA-LUZ, T., DOMENE, X., NUNES, MET., ESPÍNDOLA, E.L.G., RIBEIRO, R. and SOUSA, J.P., 2012. Integrated ecological risk assessment of pesticides in tropical ecosystems: a case study with carbofuran in Brazil. *Environmental Toxicology and Chemistry*, vol. 31, no. 2, p. 437-445.
- COELHO, K.S. and ROCHA, O., 2010. Assessment of the potential toxicity of a linear alkylbenzene sulfonate (LAS) to freshwater animal life by means of cladoceran bioassays. *Ecotoxicology*, vol. 19, p. 812-818.
- COLLECTIVE OF AUTHORS SPA (State Phytosanitary Administration), 2002. *List of the Registered Plant Protection Products*. Agrospoj, SPA.
- COX, C. and SURGAN, M., 2006. Unidentified inert ingredients in pesticides: implications for human and environmental health. *Environmental Health Perspectives*, vol. 114, p. 1803-1806.
- CRISINEL, A., DELAUNAY, L., ROSSEL, D., TARRADELLAS, J., MEYER, H., SAIHAH, H., VOGEL, P., DELISLE, C. and BLAISE, C., 1994. Cyst-Based Ecotoxicological Tests Using Anostracans: Comparison of Two Species of *Streptocephalus*. *Environmental Toxicology and Water Quality*, vol. 9, p. 317-326.

- DIAMANTINO, T.C., GUILHERMINO, L., ALMEIDA, E. and SOARES, A.M.V.M., 2000. Toxicity of sodium molybdate and sodium dichromate to *Daphnia magna* Straus evaluated in acute, chronic and acetylcholinesterase inhibition tests. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, vol. 45, p. 235-259.
- DOBŠÍKOVÁ, R., 2003. Acute toxicity of carbofuran to selected species of aquatic and terrestrial organisms. *Plant Protection Science*, vol. 39, p. 103-108.
- EHLER, L.E., 2004. An evaluation of some natural enemies of *Spodoptera exigua* on sugarbeet in Northern California. *BioControl*, vol. 49, p. 121-135.
- ENVIRONMENTAL CANADA, 1990. *Guidance document on control of toxicity test precision using reference toxicants*. Report EPS 1/ RM/12.
- FERNÁNDEZ-ALBA, A.R., GUIL, M.D.H., LÓPEZ, G.D. and CHISTI, Y., 2002. Comparative evaluation of the effects of pesticides in acute toxicity luminescence bioassays. *Analytica Chimica Acta*, vol. 451, p. 195-202.
- FILENKO, O.F. and SAMOYLOVA, T.A., 2008. Effect of Heavy Metals on Samples and Model Population of Rotifers *Brachionus plicatilis* Muller at Different Salinity. *Moscow University Biological Sciences Bulletin*, vol. 63, no. 2, p. 80-83.
- FISHER, S.J., GALINAT, G.F. and BROWN, M.L., 1999. Acute toxicity of carbofuran to adult and juvenile flathead chubs. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*, vol. 63, p. 385-391.
- FORBES, V.E., 2000. Is hormesis an evolutionary expectation? *Functional Ecology*, vol. 14, p. 12-24.
- FREITAS, E.C. and ROCHA, O., 2011. Acute toxicity tests with the tropical cladoceran *Pseudosida ramosa*: the importance of using native species as test organisms. *Archives of Environmental Contamination and Toxicology*, vol. 60, p. 241-249.
- FRIBERG-JENSEN, U., WENDT-RASCH, L., WOIN, P. and CHRISTOFFERSEN, K., 2003. Effects of the pyrethroid insecticide, cypermethrin, on a freshwater community studied under field conditions. I. Direct and indirect effects on abundance measures of organisms at different trophic levels. *Aquatic Toxicology*, vol. 63, p. 357-371.
- GAMA-FLORES, J.L., CASTELLANOS-PAEZ, M.E., SARMA, S.S.S. and NANDINI, S., 2007. Effect of pulsed exposure to heavy metals (copper and cadmium) on some population variables of *Brachionus calyciflorus* Pallas (Rotifera: Brachionidae: Monogononta). *Hydrobiologia*, vol. 593, p. 201-208.
- GIBB, J.A., 1956. Food, feeding habits and territory of the Rock Pipit *Anthus spinoletta*. *Ibis*, vol. 98, p. 506-530.
- GOLOMBIESKI, J.I. et al., 2008. Cladocers, Copepods and Rotifers in rice-fish culture handled with metsulfuron-methyl and azimsulfuron herbicides and Carbofuran insecticide. *Ciência Rural*, vol. 38, no. 8, p. 2097-2102.

- GULLEY, D.D., BOETTER, A.M. and BERGMAN, H.L., 1991. TOXSTAT 3.3, Computer program.
- GUO, R.X., REN, X.K. and REN, H.Q., 2012. Effects of dimethoate on rotifer *Brachionus calyciflorus* using multigeneration toxicity tests. *Journal of Environmental Science and Health*, vol. 47, p. 883-890.
- GUPTA, R.C., 1994. Carbofuran toxicity. *Journal of Environmental Science and Health*, vol. 43, p. 383-418.
- HAGEN, T., ALLINSON, G., WIGHTWICK, A. and NUGEGODA, D., 2009. Assessing the performance of a bdelloid rotifer *Philodina acuticornis odiosa* acute toxicity assay. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*, vol. 82, p. 285-289.
- HAGEN, T., ALLINSON, G., WIGHTWICK, A., SALZMAN, S. and NUGEGODA, D., 2010. Utilisation of a new bdelloid rotifer (*Philodina acuticornis odiosa*) assay to evaluate the effect of salinity on the toxicity of chlorothalonil. *Environmental Toxicology and Chemistry*, vol. 92, p. 743-48.
- HALLING-SORENSEN, B., 2000. Algal Toxicity of Antibacterial Agents Used in Intensive Farming. *Chemosphere*, vol. 40, no. 7, p. 731-739.
- HAMILTON, M.A., RUSSO, R.C. and THURFTON, R.B., 1977. Trimmed Spearman-Kärber method for estimating median lethal concentration in toxicity bioassays. *Environmental Sciences and Technology*, vol. 11, no. 7, p. 714-719.
- HYMAN, L.H., 1951. *The Invertebrates: Acanthocephala. Aschelminthes and Entoprocta*. Vol. 3, McGraw-Hill, New York.
- HAVENS, K.E. and HANAZATO, T., 1993. Zooplankton community responses to chemical stressors: a comparison of results from acidification and pesticide contamination research. *Environmental Pollution*, vol. 82, no. 3, p. 277-288.
- HEATH, A.G., CECH, J.J., BRINK, L., MOBERG, P. and ZINKL, J.G., 1997. Physiological responses of fathead minnow larvae to rice pesticides. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, vol. 37, p. 280-288.
- HENRIQUES, W., JEFFERS, R.D., LACHER, Jr. TE. and KENDALL, R.J., 1997. Agrochemical use on banana plantations in Latin America: perspectives on ecological risk. *Environmental Toxicology and Chemistry*, vol. 16, p. 91-99.
- HUANG, Y., LI, L., LIU, J. and LIN, W., 2013a. Botanical pesticides as potential rotifer-control agents in microalgal mass culture. *Algal Res* xxx (2013) xxx–xxxi in press.
- HUANG, L., XI, Y., ZHA, C. and WEN, X., 2013b. Responses in the population growth and reproduction of freshwater rotifer *Brachionus calyciflorus* to four organochlorine pesticides. *Annales de Limnologie - International Journal of Limnology*, vol. 49, p. 79-85.

- HUSSAIN, M.M., AMANCHI, N.R., SOLANKI, V.R. and BHAGAVATHI, M., 2008. Low cost microbioassay test for assessing cytopathological and physiological responses of ciliate model *Paramecium caudatum* to carbofuran pesticide. *Pesticide Biochemistry and Physiology*, vol. 90, no. 1, p. 66-70.
- HUTCHINSON, T.H., WILLIAMS, T.D. and EALES, G.J., 1994. Toxicity of Cadmium, Hexavalent Chromium and Copper to Marine Fish Larvae (*Cyprinodon variegatus*) and Copepods (*Tisbe battagliai*). *Marine Environmental Research*, vol. 38, no. 4, p. 275-290.
- IBRAHIM, H., KHEIR, R., HELMI, S., LEWIS, J. and CRANE, M., 1998. Effects of organophosphorus, carbamate, pyrethroid and organochlorine pesticides, and a heavy metal on survival and cholinesterase activity of *Chironomus riparius* Meigen. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*, vol. 60, no. 3, p. 448-55.
- IESCE, M.R., DELLA GRECA, M., CERMOLA, F., RUBINO, M., ISIDORI, M. and PASCARELLA, L., 2006. Transformation and ecotoxicity of carbamic pesticides in water. *Environmental Science and Pollution Research*, vol. 13, no. 2, p. 105-109.
- ISO - International Organization for Standardization, 1982. *Water quality determination of the mortality of Daphnia magna Straus (Cladocera:Crustacea)*. ISO 6241-1982. Geneva, Switzerland.
- KHANGAROT, B.S. and RAY, P.K., 1989. Sensitivity of midge larvae of *Chironomus tentans* Fabricius (Diptera Chironomidae) to heavy metals. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*, vol. 42, p. 325-330.
- KOSTE, W. and TERLUTTER, H., 2001. Die Rotatorienfauna einiger Gewässer des Naturschutzgebietes "Heiliges Meer" im Kreis Steinfurt, *Osnabrücker Naturwissenschaftliche Mitteilungen*, vol. 27, p. 113-117.
- KROGH, K.A., HALLING-SØRENSEN, B., MORGENSEN, B.B. and VEJRUP, K.V., 2003. Environmental properties and effects of non-ionic surfactant adjuvants in pesticides: a review. *Chemosphere*, vol. 50, p.871-901.
- LACHER, T.E. e GOLDSTEIN, M.I., 1997. Tropical Ecotoxicology: Status and Needs. *Environmental Toxicology and Chemistry*, vol. 16, no. 1, p. 100-111.
- LEBEDEVA, L.I. and GERASIMOVA, T.N., 1985. Peculiarities of *Philodina roseola* (EHRBG.) (Rotatoria, Bdelloida) - Growth and Reproduction under Various Temperature Conditions. *Internationale Revue der gesamten Hydrobiologie und Hydrographie*, vol. 70, no. 4, p. 509-525.
- LÓPEZ-MANCISIDOR, P. et al., 2008. Zooplankton community responses to chlorpyrifos in mesocosms under Mediterranean conditions. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, vol. 71, p. 16-25.

- MA, J., LU, N., QIN, W., XU, R., WANG, Y. and CHEN, X., 2006. Differential responses of eight cyanobacterial and green algal species, to carbamate insecticides. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, vol. 63, no. 2, p. 268-74.
- MADONI, P., DAVOLI, D. and GORBI, G., 1994. Acute Toxicity of Lead, Chromium, and Other Heavy Metals to Ciliates from Activated Sludge Plants. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*, vol. 53, no. 3, p. 420-425.
- MANSANO, A.S., MOREIRA, R.A. and ROCHA, O., 2013. Toxicidade aguda do agrotóxico carbofurano ao cladóceros *Ceriodaphnia silvestrii* Daday, 1902. *Fórum Ambiental da Alta Paulista*, Prelo.
- MARTÍNEZ-JERÓNIMO, F., CRUZ-CISNEROS, J.L. and GARCÍA-HERNÁNDEZ, L., 2008. A comparison of the response of *Simocephalus mixtus* (Cladocera) and *Daphnia magna* to contaminated freshwater sediments. *Environmental Toxicology and Chemistry*, vol. 27, p. 26-31.
- MATSUMURA-TUNDISI, T, et al., 1990. Eutrofização da represa de Barra Bonita: estrutura e organização da comunidade de Rotifera. *Revista Brasileira de Biologia*, vol. 50, no. 4, p. 923-935.
- MILLER, A.S. and HARLEY, J.B., 2002. *Zoology*. 5th Edition. (International). Singapore: McGraw Hill.
- MÜLLER, H., 1972. Wachstum and phosphatbedarf von *Nitzschia actinastroides* (Lemn.) v. Goor in statischer und homokontiuierlicher Kultur unter Phosphatlimitierung. *Archiv für Hydrobiologie*, vol. 38, p.399-484.
- NETO, M.L.F. and SARCINELLI, P.N., 2009. Pesticides in drinking water: a risk assessment approach and contribution to the Brazilian legislation updating process. *Engenharia Sanitária e Ambiental*, vol. 14, no. 1, p. 69-78.
- NEVES, I.F. et al., 2003. Zooplankton community structure of two marginal lakes of the river Cuiabá (Mato Grosso, Brazil) with analysis of Rotifera and Cladocera diversity. *Brazilian Journal of Biology*, vol. 63, p. 329-343.
- OAKES, D.J. and POLLAK, J.K., 2000. The in vitro evaluation of the toxicities of three related herbicide formulations containing ester derivatives of 2, 4, 5-T and 2, 4-D using sub-mitochondrial particles. *Toxicology*, vol. 151, p. 1-9.
- OECD - Organization for Economic Co-operation and Development, 2004. *Guideline for testing of chemicals. Daphnia sp., acute immobilization test*. OECD 202. Paris, France.
- OECD - Organization for Economic Co-operation and Development, 2006. *Detailed review paper on aquatic arthropods in life-cycle toxicity tests with an emphasis on developmental, reproductive and endocrine disruptive effects*. Paris, France. 125 p.
- OECD - Organization for Economic Cooperation and Development, 2008. *Guidelines for testing of chemicals. Daphnia magna reproduction test*. OECD 211. Paris, France.

OLIVEIRA-FILHO, E.C. and PAUMGARTTEN, F.J.R., 1997. Comparative Study on the Acute Toxicities of alpha, beta, gamma, and delta Isomers of Hexachlorocyclohexane to Freshwater Fishes. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*, vol. 59, no. 6, p. 984-988.

PARK, G.S. and MARSHALL, H.G., 2000. The trophic contributions of rotifers in tidal freshwater and estuarine habitats. *Estuarine, Coastal and Shelf Science*, vol. 51, p. 729-742.

PEITHER, A. et al., 1996. A pond mesocosm study to determine direct and indirect effects of lindane on a natural zooplankton community. *Environmental Pollution*, vol. 93, no. 1, p. 49-56.

PELUSO, L., GIUSTO, A., BULUS ROSSINI, G.D., FERRARI, L., SALIBIAN, A. and RONCO, A.E., 2011. *Hyaella curvispina* (Amphipoda) as a Test Organism in Laboratory Toxicity Testing of Environmental Samples. *Fresenius Environmental Bulletin*, vol. 20, no. 2, p. 372-376.

PEREIRA, T., CEREJEIRA, M.J. and ESPÍRITO-SANTO, J., 2000. Use of microbiotests to compare the toxicity of water samples fortified with active ingredients and formulated pesticides. *Environmental Toxicology*, vol. 15, no. 5, p. 401-405.

PEREIRA, J.L. et al., 2009. Toxicity evaluation of three pesticides on non-target aquatic and soil organisms: commercial formulation versus active ingredient. *Ecotoxicology*, vol. 18, p. 455-463.

PERSOONE, G., VAN DE VEL, A., VAN STEERTEGEM, M. and DE NAYER, B., 1989. Predictive Value of Laboratory Tests With Aquatic Invertebrates: Influence of Experimental Conditions. *Aquatic Toxicology*, vol. 14, no. 2, p. 149-166.

PESSOA, P.C., LUCHMANN, K.H., RIBEIRO, A.B., VERA, S.M.M., CORREA, J.R.M.B., NOGUEIRA, A.J., BAINY, A.C.D. and CARVALHO, P.S.M., 2011. Cholinesterase inhibition and behavioral toxicity of carbofuran on *Oreochromis niloticus* early life stages. *Aquatic Toxicology*, vol. 105, p. 312-320.

POURRIOT, R., 1965. *Recherches sur l'ecologie des Rotiferes*. Vie et Milieux (Suppl.), vol. 21, 224 p.

PRESTON, B.L., SNELL, T.W., ROBERSTON, T.L. and DINGMANN, B.J., 2000. Use of freshwater rotifer *Brachionus calyciflorus* in screening assay for potential endocrine disruptors. *Environmental Toxicology and Chemistry*, vol. 19, p. 1097-1101.

PRESTON, B.L. and SNELL, T.W., 2001. Full life cycle toxicity assessment using rotifer resting egg production: implication for ecological risk assessment. *Environmental Pollution*, vol. 114, p. 399-406.

RADIX, P., SEVERIN, G., SCHAMM, K.W. and KETTRUP, A., 2002. Reproduction disturbances of *Brachionus calyciflorus* (rotifer) for the screening of environmental endocrine disruptors. *Chemosphere*, vol. 47, p. 1097-1101.

RAND, G.M., WELL, PG. and MCCARTHY, L.S., 1995. Introduction to aquatic toxicology. In: RAND, G. M. (ed). *Fundamentals of aquatic toxicology: effects, environmental fate, and risk assessment*. 2nd ed. Taylor and Francis.

RICCI, C. and FASCIO, U., 1995. Life-history consequences of resource allocation of two bdelloid rotifer species. *Hydrobiologia*, vol. 299, p. 231–239.

RICHARDS, R.P., KRAMER, J.W., BAKER, D.B. and KRIEGER, K.A., 1987. Pesticides in rainwater in the northeastern United States. *Nature*, vol. 327, p. 129-131.

ROCHA, O., SENDACZ, S. e MATSUMURA-TUNDISI, T., 1995. Composition, biomass and productivity of zooplankton in natural lakes and reservoirs of Brazil. In: TUNDISI, JB., BICUDO, CE. and MATSUMURA-TUNDISI, T. (eds.) *Limnology in Brazil*. Rio de Janeiro: ABC/SLB. p. 151-165.

RUMENGAN, I.F.M. and OHJI, M., 2012. Ecotoxicological risk of organotin compounds on zooplankton community. *Coastal Marine Science*, vol. 35, p. 129-135.

SEGERS, H., NWADIARO, C.S. and DUMONT, H.J., 1993. Rotifera of some lakes in the floodplain of the river Niger (Imo State, Nigeria). II. Faunal composition and diversity. *Hydrobiologia*, vol. 250, p. 63-71.

SHARMA, B.K. and SHARMA, S., 2012. Diversity of zooplankton in a tropical floodplain lake of the Brahmaputra river basin, Assam (Northeast India). *Opuscula Zoologica Budapest*, vol. 43, no. 2, p. 187-195.

SOLOMON, K.R. and THOMPSON, D.G., 2003. Ecological risk assessment for aquatic organisms from over-water uses of Glyphosate. *Journal of Toxicology Environmental Health*, vol. 6, p. 289-324.

SILVA, D.R.O., AVILA, L.A., AGOSTINETTO, D., DAL MAGROL, T., OLIVEIRA, E., ZANELLA, R. and NOLDIN, J., 2009. Pesticides monitoring in surface water of rice production areas in southern Brazil. *Ciência Rural*, vol. 39, p. 2383-2389.

SINDAG - Sindicato Nacional da Indústria de Produtos para Defesa Agrícola, 2013. *Uso de defensivos é intensificado no Brasil*. Publicada em 30 de julho de 2012. Disponível em: http://www.sindag.com.br/noticia.php?News_ID=2278 . Acessado em 14 Out. 2013.

SNELL, T.W. and CARMONA, M.J., 1995. Comparative toxicity sensitivity of sexual and asexual reproduction in the rotifer *Brachionus calyciflorus*, *Environmental Toxicology and Chemistry*, vol. 14, no. 3, p. 415-420.

SNELL, T.W. and JANSSEN, C.R., 1995. Rotifers in ecotoxicology: A review. *Hydrobiologia*, vol. 313/314, p. 231-247.

SNELL, T.W. and JOAQUIM-JUSTO, C., 2007. Workshop on rotifers in ecotoxicology. *Hydrobiologia*, vol. 593, p. 227-232.

SNELL, T.W. and KING, C.E., 1977. Lifespan and fecundity patterns in rotifers: the cost of reproduction. *Evolution*, vol. 31, p. 882-890.

- SUCAHYO, D., VAN STRAALLEN, N.M., KRAVE, A. and VAN GESTEL, C.A.M., 2008. Acute Toxicity of Pesticides to the Tropical Freshwater Shrimp *Caridina laevis*. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, vol. 69, p. 421-427.
- STARKWEATHER, P.L., 1987. Rotifera. In: PANDIAN, T.J. and VERNBERG, F.J. (eds.), *Animal energetics*. Vol 1: *Protozoa through Insecta*, Orlando: Academic Press. p. 159-183.
- TOWNSEND, J.F. and LUCKEY, T.D., 1960. Hormologosis in pharmacology. *Journal of the American Medical Association*, vol. 173, p. 44.
- TROTTER, D.M., KENT, R.A. and WONG, P., 1991. Aquatic fate and effect of carbofuran. *Critical Reviews in Environmental Control*, vol. 21, p. 137-176.
- U.S.EPA - U.S. Environmental Protection Agency, 1985. *Short-term methods for estimating the chronic toxicity of effluents and receiving waters to freshwater organisms*. Washington, DC.
- U.S.EPA - U.S. Environmental Protection Agency, 2002. *Methods for measuring the acute toxicity of effluents and receiving waters to freshwater and marine organisms*. Washington, DC.
- VAN VLAARDINGEN, P., TRAAS, T.P., WINTERSEN, A.M. and ALDENBERG, T., 2004. ETX 2.0. A program 513 to calculate hazardous concentrations and fraction affected, based on normally distributed 514 toxicity data. RIVM Report No. 601501028/2004, Bilthoven, The Netherlands.
- WAITE, D.T., GROVER, R., WESCOTT, N.D., SOMMERSTAD, H. and KARR, L., 1992. Pesticides in ground water, surface water and spring runoff in a small Saskatchewan watershed. *Environmental Toxicology and Chemistry*, vol. 11, p. 741-748.
- WALLACE, R.L., 2002. Rotifers: Exquisite Metazoans. *Integrative and Comparative Biology*, vol. 42, no. 3, p. 660-667.
- WALLACE, R.L. and SNEL, T.W., 2010. Rotifera. Chapter 8. In: THORP, JH. and COVICH, AP. (eds.). *Ecology and classification of North American freshwater invertebrates*. Oxford: Elsevier. p. 173-235.
- WALZ, N., 1997. Rotifer life history strategies and evolution in freshwater plankton communities. In: STREIT, B., STÄDLER, T. and LIVELY, CM. (eds.). *Evolutionary ecology of freshwater animals*. Switzerland: Birkhäuser Verlag Basel. p.119-149.
- WETZEL, R.G., 2001. *Limnology: Lake and River Ecosystems*. 3rd ed. Academic Press. 1006 p.
- WU, Y., LIN, C. and YUAN, L., 2007. Characteristics of six cladocerans in relation to ecotoxicity testing. *Ecological Indicators*, vol. 7, p.768-775.

XI, Y.L., CHU, Z.X. and XU, X.P., 2007. Effect of four organochlorine pesticides on the reproduction of freshwater rotifer *Brachionus calyciflorus* Pallas. *Environmental Toxicology and Chemistry*, vol. 26, p. 1695-1699.

ZAR, J.H., 1996. *Biostatistical analysis*. Prentice-Hall, New Jersey.

Considerações finais

Em relação à hipótese apresentada no início da dissertação, os resultados obtidos permitem concluir que a espécie *Philodina roseola* respondeu aos efeitos deletérios de agentes tóxicos quando considerados os valores médios de CE/CL₅₀ do pesticida carbofurano. Importantes informações sobre sua biologia e sensibilidade foram obtidos, indicando que esta espécie tem função relevante nos ecossistemas, embora estudos sobre o papel da espécie nas comunidades e ecossistemas reais sejam ainda necessários. Tal afirmação se baseia nos seguintes pontos:

- Foram determinados os principais parâmetros acerca do ciclo de vida da espécie *Philodina roseola* em condições controladas de temperatura e de alimento, os quais poderão servir como base para comparações em futuros estudos ecotoxicológicos com esta mesma espécie.

- Foi quantificada a biomassa e a produção secundária das principais fases de desenvolvimento da espécie *Philodina roseola*, para indivíduos cultivados em laboratório, sob condições controladas de temperatura e quantidade de alimento, sendo esses dados importantes para uma avaliação mais realística acerca da contribuição desses pequenos componentes do plâncton para a produtividade global dos ecossistemas aquáticos.

- As taxas de filtração e de ingestão do rotífero *Philodina roseola* foram determinadas quando testada dietas alimentares em sete diferentes concentrações da clorofícea nanofitoplanctônica *Raphidocelis subcapitata*. Os valores médios da taxa de filtração de *P. roseola* são elevados em comparação aos de outras espécies de rotíferos e microcrustáceos, demonstrando assim, elevada taxa metabólica.

- A comparação com espécies de diferentes grupos revelou que *P. roseola* tem moderada sensibilidade ao cromo contido no dicromato de potássio. Por exemplo, comparando-se o valor médio de CE₅₀ 48-h para o dicromato de potássio entre diferentes espécies, *P. roseola* foi mais sensível do que o rotífero *Brachionus plicatilis* e os peixes *Danio rerio* e *Poecilia reticulata*. Foi ainda mais sensível do que o peixe *Clarias batrachus*, a bactéria *Vibrio fischeri* e o protozoário *Paramecium caudatum* ao ingrediente ativo carbofurano, o agrotóxico estudado. Quando *P. roseola* foi exposta a concentrações subletais do produto comercial verificou-se a ocorrência de hormesis, fenômeno que ocorre quando pequenas quantidades de um agente tóxico produz um efeito estimulador, que é qualitativamente diferente do efeito produzido sob maiores dosagens.

- No presente estudo foi estabelecido um protocolo para o cultivo em laboratório, assim como a carta-controle da espécie ao dicromato de potássio, substância mundialmente utilizada como substância de referência adequada para uso rotineiro em testes de sensibilidade. Com esses dados a realização de novos testes será facilitada, visto que poderão ser seguidos tais procedimentos.

- Acreditamos ainda que testes adicionais com um maior número de compostos químicos deverão ser realizados com esta espécie ou outras espécies de bdelloides. Suas características biológicas já os recomendam para tal finalidade: tamanho pequeno, organização simples, reprodução partenogenética, alta fecundidade, ciclo de vida curto, representatividade ecológica e taxonômica, ampla distribuição, elevada abundância na natureza, facilidade de cultivo, crescente conhecimento sobre sua biologia, ecotoxicologia e genoma.

Apêndice A
Fotos dos experimentos



Figura 1: Tanques experimentais de aquicultura da Universidade Federal de São Carlos, onde foram coletadas as espécies de *Philodina roseola*.

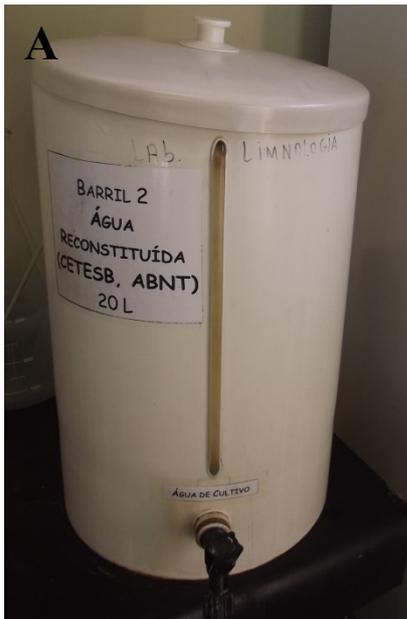


Figura 2: Alimento (*Raphidocelis subcapitata*) utilizado para alimentação dos organismos-testes e água reconstituída utilizada para a manutenção dos cultivos-estoque das espécies de *Philodina roseola*, preparada de acordo com os procedimentos recomendados pela Sociedade Americana de Testes e Materiais (ASTM, 2001) e características recomendadas pela da ABNT (2005).



Figura 3: Os cultivos-estoque, com grande densidade deste rotífero (valor médio de 116 ind/mL) foram mantidos em béqueres de 50 a 250 mL. Os cultivos de *Philodina roseola* foram mantidos em incubadoras com temperatura controlada a $25 \pm 1^\circ\text{C}$, com fotoperíodo de 16h claro: 8h escuro. Para evitar a evaporação do meio de cultura, os béqueres foram lacrados com filme de plástico.



Figura 4: Os experimentos de toxicidade aguda foram mantidos sob a mesma temperatura dos cultivos-estoque, sem alimento e iluminação e nos experimentos de toxicidade crônica, os organismos foram alimentados e cultivados com atuação de fotoperíodo pré-estabelecido, 16 horas luz/ 8 horas escuro.

Apêndice B

Ficha de informações (bula) dos produtos químicos utilizados nos testes ecotoxicológicos

FICHA DE INFORMAÇÕES DE SEGURANÇA DE PRODUTOS QUÍMICOS

Nome do Produto: DICROMATO DE POTÁSSIO
Número da FISPQ: 201
Página: 1/5
Data da última revisão: 10/10/2011

1- Identificação do produto e da empresa

- Nome do produto: DICROMATO DE POTÁSSIO
- Código interno de identificação do produto: D1005
- Nome da empresa: Labsynth Produtos para Laboratórios Ltda
- Endereço: Av. Dr. Ulysses Guimarães, 3.857 – Vila Mary – Diadema - SP
- Telefone para contato: (11) 4072-6100
- Telefone para emergências: (11) 4072-6100
- Fax: (11) 4072-6122
- E-mail: synth@synth.com.br

2- Identificação de perigos

- Perigos mais importante: Tóxico
- Efeitos do produto
 - Efeitos adversos à saúde humana: Pode causar feridas por inalação. Nocivo em contato com a pele. Tóxico por ingestão.
 - Efeitos ambientais: Muito tóxico para organismos aquáticos podendo provocar a longo prazo efeitos negativos ao meio ambiente aquático
 - Perigos físicos e químicos: Corrosivo e tóxico por inalação e contato prolongado
- Perigos específicos: Produto fortemente oxidante com possibilidade de fomentar riscos de incêndio em contato com materiais orgânicos (papel, pano, algodão, estopa, etc...).
- Principais sintomas: Em exposições prolongadas, poderão ocorrer ulcerações na pele e septo nasal. Possibilidade de lesões renais pelo cromo VI contido
- Classificação de perigo do produto químico: Tóxico
- Elementos apropriados da rotulagem: Perigo. Tóxico se ingerido. Se ingerido, procure imediatamente atendimento médico. Em caso de derramamento, absorver em estado seco, recolher o resíduo para limpeza posterior

3- Composição e informações sobre os ingrediente

- Indicar se o produto químico é substância ou mistura
- Substância:
 - Nome químico ou comum: Dicromato de Potássio
 - Fórmula: $K_2Cr_2O_7$ P.M.: 294,18
 - Sinônimo: Bicromato de Potássio
 - Número de registro CAS: 7778-50-9
 - Impurezas que contribuam para o perigo: Não disponível

4- Medidas de primeiros socorros

- Medidas de primeiros socorros
 - Inalação: Remover para local ventilado. Chamar um médico.
 - Contato com a pele: Lavar com bastante água corrente. Retirar as roupas contaminadas.

FICHA DE INFORMAÇÕES DE SEGURANÇA DE PRODUTOS QUÍMICOS

Nome do Produto: DICROMATO DE POTÁSSIO

Número da FISPQ: 201

Página: 2/5

Data da última revisão: 10/10/2011

- Contato com os olhos: Lavar com bastante água, por 15 min. Consultar um oftalmologista.
- Ingestão: Beber bastante água, provocar o vômito. Consultar um médico imediatamente

- Ações que devem ser evitadas: Nunca faça uma pessoa inconsciente vomitar ou beber líquido. Quando o vômito ocorrer com a pessoa inconsciente, gire sua cabeça para o lado para evitar aspiração.

- Proteção para o prestador de socorros: Utilizar óculos de segurança, luvas de PVC e máscara contra pó

- Notas para o médico: Produto fortemente oxidante, tóxico e corrosivo

5- Medidas de combate a incêndio

- Meios de extinção apropriados: Produto não inflamável. Em caso de incêndio, usar neblina de água.

- Meios de extinção não recomendados: Não disponível

- Perigos específicos referentes às medidas: Não disponível

- Métodos especiais de combate à incêndio: Não disponível

- Proteção das pessoas envolvidas no combate a incêndio: Em caso de incêndio, usar máscaras com respiração autônoma. Usar roupas de aproximação/proteção a temperaturas elevadas. Evitar contato com o produto.

- Perigos específicos da combustão do produto químico: Não disponível

6- Medidas de controle para derramamento ou vazamento

- Precauções pessoais: Não inalar os pós. Evitar o contato com o produto.

- Precaução ao meio ambiente: Não enviar o produto para redes de águas residuais

- Procedimento de emergência e sistema de alarme: Não aplicável

- Métodos para limpeza: Absorver em estado seco. Recolher o resíduo para limpeza posterior.

- Prevenção de perigos secundários: Não disponível

- Diferença na ação de grandes e pequenos vazamentos: Não disponível.

7- Manuseio e armazenamento

- Manuseio

- Medidas técnicas apropriadas

- Prevenção da exposição do trabalhador: Utilizar equipamentos de proteção individual (EPI) para evitar o contato com a pele e mucosas.

- Prevenção de incêndio e explosão: Não disponível

- Precauções e orientações para manuseio seguro: Manipular o produto respeitando as regras gerais de segurança

- Medidas de higiene

- Apropriadas: Atenção especial deve ser tomada quanto à comida e bebida, mantendo-as distantes de qualquer contaminação, todo o pessoal deve higienizar completamente as mãos antes das refeições

- Inapropriadas: Não disponível

- Armazenamento

- Medidas técnicas

FICHA DE INFORMAÇÕES DE SEGURANÇA DE PRODUTOS QUÍMICOS

Nome do Produto: DICROMATO DE POTÁSSIO

Número da FISPQ: 201

Página: 3/5

Data da última revisão: 10/10/2011

<ul style="list-style-type: none">- Condições adequadas: Manter as embalagens bem fechadas, local seco e limpo. Temperatura ambiente.- Condições que devem ser evitadas: Não armazenar junto com materiais incompatíveis- Materiais para embalagens<ul style="list-style-type: none">- Recomendados: Frasco de polietileno, frasco de vidro, saco de polietileno- Inadequados: Não disponível
--

<p>8- Controle de exposição e proteção individual</p> <ul style="list-style-type: none">- Parâmetros de controle específicos<ul style="list-style-type: none">- Limites de exposição ocupacional: Limite máximo de exposição (8 horas) não mais que 0,05 mg/m³ como CrO₃ no pó. Limite de exposição curto tempo (15 minutos) não mais que 0,1 mg/m³ como CrO₃ no pó.- Indicadores biológicos: Não disponível- Outros limites e valores: O dicromato de potássio contém aprox. 35% de cromo em Cr- Medidas de controle de engenharia: Manipular o produto em local com boa ventilação natural ou mecânica, de forma a manter a concentração de vapores/poeiras inferior ao limite de tolerância- Equipamento de proteção individual apropriado<ul style="list-style-type: none">- Proteção dos olhos/face: Óculos de segurança- Proteção da pele e do corpo: Avental de napa e luvas de PVC- Proteção respiratória: Máscara contra pó- Precauções especiais: Manipular o produto em local com boa ventilação natural ou mecânica. Manter chuveiros e lava-olhos de emergência nos locais onde haja manipulação do produto.

<p>9- Propriedades físico-químicas</p> <ul style="list-style-type: none">- Aspecto: Sólido, cristal, laranja- Odor: inodoro- pH: (100 g/l H₂O): 3,45- Ponto de fusão: 398°C (decomposição)- Ponto de ebulição: 610°C (decomposição)- Ponto de fulgor: Não disponível- Taxa de evaporação: Não disponível- Inflamabilidade: Não disponível- Limite inferior/superior de inflamabilidade ou explosividade: Não disponível- Pressão de vapor: Não disponível- Densidade de vapor: Não disponível- Densidade: Não disponível- Solubilidade: em água: 130 g/l- Coeficiente de partição – n-octanol/água: Não disponível

FICHA DE INFORMAÇÕES DE SEGURANÇA DE PRODUTOS QUÍMICOS

Nome do Produto: DICROMATO DE POTÁSSIO
Número da FISPQ: 201
Página: 4/5
Data da última revisão: 10/10/2011

- Temperatura de auto-ignição: Não disponível
- Temperatura de decomposição: Não disponível
- Viscosidade: Não disponível

10- Estabilidade e reatividade

- Estabilidade química: Estável
- Reatividade: Não disponível
- Possibilidade de reações perigosas: Perigo de auto-inflamação com materiais combustíveis
- Condições a serem evitadas: Forte aquecimento
- Materiais ou substâncias incompatíveis: Produtos orgânicos (como papel, pano, algodão, estopa, madeira, etc...).
- Produtos perigosos da decomposição: Não disponível

11- Informações toxicológicas

- Informações de acordo com as diferentes vias de exposição
 - Toxicidade aguda: LD50 (oral,rato): 53,75 mg/kg / LC50 (inalação, rato): 0,156 mg / l / 4hs. / LD50 (cutânea,coelho): 1170 mg/kg
 - Toxicidade crônica: Não disponível
 - Principais sintomas: Podem causar sensibilização em pessoas predispostas. No caso de inalação; perigo de formação de abscessos na mucosa do nariz.
- Efeitos específicos: Todos os compostos de cromo VI são classificados como propensos carcinógenos.
- Substâncias que podem causar
 - Interação: Não disponível
 - Aditivos: Não disponível
 - Potenciação: Não disponível
 - Sinergia: Não disponível

12- Informações ecológicas

- Efeitos ambientais, comportamentos e impactos do produtos
 - Ecotoxicidade: Efeitos biológicos: Muito tóxico para organismos aquáticos. Toxicidade nos peixes: L. macrochirus LC₅₀: 110mg / l / 96 h
 - Persistência e degradabilidade: Persistente como Cr VI, tanto na água como na terra. Não há biopotenciação no reino alimentar. Poderá ser reduzido a Cr III pela presença orgânica.
 - Potencial bioacumulativo: Não disponível
 - Mobilidade no solo: Não disponível
 - Outros efeitos adversos: Não disponível

13- Considerações sobre tratamento e disposição

- Métodos recomendados para tratamento e disposição aplicados ao:

FICHA DE INFORMAÇÕES DE SEGURANÇA DE PRODUTOS QUÍMICOS

Nome do Produto: DICROMATO DE POTÁSSIO

Número da FISPQ: 201

Página: 5/5

Data da última revisão: 10/10/2011

- Produto: Seguir as normas locais do controle do meio ambiente.
- Restos de produtos: Recolher e armazenar adequadamente o produto derramado para posterior reutilização ou disposição final.
- Embalagem usada: Devem ser eliminadas de acordo com as normas locais do controle do meio ambiente.

14- Informações sobre transporte

- Terrestre: vide informações abaixo.
- Marítimo: Código IMDG: 3288
- Aéreo: Código ICAO/IATA: 3288

Número ONU: 3288

Nome apropriado para embarque: SÓLIDO TÓXICO, INORGÂNICO, N.E.

Classe de risco: 6.1

Número de risco: 60

Grupo de embalagem: III

15- Regulamentações

- Regulamentações específicas para o produto químico

Produto controlado pela Polícia Federal e pela Secretaria da Segurança Pública

Nome apropriado para embarque: SÓLIDO TÓXICO, INORGÂNICO, N.E.

Tóxico

16- Outras informações

Merck Index, 12ª ed., Nº 7790

Os dados aqui contidos, são fornecidos com boa fé e a título orientativo, baseados em literaturas correntes e conceituadas (referidas no informativo, sempre que possível ou quando solicitadas).

Apesar de serem dignas de confiança, não podemos nos responsabilizar pela sua exatidão. Recomendamos, sejam feitas as devidas avaliações pelo usuário.

SAFETY DATA SHEET

according to Regulation (EC) No. 1907/2006

Version 5.1 Revision Date 24.09.2013

Print Date 18.02.2014

GENERIC EU MSDS - NO COUNTRY SPECIFIC DATA - NO OEL DATA

SECTION 1: Identification of the substance/mixture and of the company/undertaking

1.1 Product identifiers

Product name : Carbofuran

Product Number : 426008

Brand : Aldrich

Index-No. : 006-026-00-9

REACH No. : A registration number is not available for this substance as the substance or its uses are exempted from registration, the annual tonnage does not require a registration or the registration is envisaged for a later registration deadline.

CAS-No. : 1563-66-2

1.2 Relevant identified uses of the substance or mixture and uses advised against

Identified uses : Laboratory chemicals, Manufacture of substances

1.3 Details of the supplier of the safety data sheet

Company : Sigma-Aldrich Brasil Ltda.
Av. das Nações Unidas, 23.043
04795-100 SÃO PAULO - SP
BRAZIL

Telephone : +55 11 3732 3100

Fax : +55 11 5522 9895

E-mail address : sigmabr@sial.com

1.4 Emergency telephone number

Emergency Phone # : (11) 9687-9933

SECTION 2: Hazards identification

2.1 Classification of the substance or mixture

Classification according to Regulation (EC) No 1272/2008

Acute toxicity, Oral (Category 2), H300
Acute toxicity, Inhalation (Category 2), H330
Acute aquatic toxicity (Category 1), H400
Chronic aquatic toxicity (Category 1), H410

For the full text of the H-Statements mentioned in this Section, see Section 16.

Classification according to EU Directives 67/548/EEC or 1999/45/EC

T+	Very toxic	R26/28
N	Dangerous for the environment	R50/53

For the full text of the R-phrases mentioned in this Section, see Section 16.

2.2 Label elements

Labelling according Regulation (EC) No 1272/2008

Pictogram



Signal word

Danger

Hazard statement(s)	
H300 + H330	Fatal if swallowed or if inhaled
H410	Very toxic to aquatic life with long lasting effects.
Precautionary statement(s)	
P260	Do not breathe dust/ fume/ gas/ mist/ vapours/ spray.
P264	Wash hands thoroughly after handling.
P273	Avoid release to the environment.
P284	Wear respiratory protection.
P301 + P310	IF SWALLOWED: Immediately call a POISON CENTER or doctor/ physician.
P310	Immediately call a POISON CENTER or doctor/ physician.
Supplemental Hazard Statements	none

2.3 Other hazards

Lachrymator.

SECTION 3: Composition/information on ingredients

3.1 Substances

Chemical characterization	: Natural product
Synonyms	: 2,3-Dihydro-2,2-dimethyl-7-benzofuranol N-methylcarbamate
Formula	: C ₁₂ H ₁₅ NO ₃
Molecular Weight	: 221,25 g/mol
CAS-No.	: 1563-66-2
EC-No.	: 216-353-0
Index-No.	: 006-026-00-9

Hazardous ingredients according to Regulation (EC) No 1272/2008

Component	Classification	Concentration
Carbofuran		
CAS-No.	1563-66-2	Acute Tox. 2; Aquatic Acute 1; Aquatic Chronic 1; H300 + H330, H410
EC-No.	216-353-0	
Index-No.	006-026-00-9	

Hazardous ingredients according to Directive 1999/45/EC

Component	Classification	Concentration
Carbofuran		
CAS-No.	1563-66-2	T+, N, R26/28 - R50/53
EC-No.	216-353-0	
Index-No.	006-026-00-9	

For the full text of the H-Statements and R-Phrases mentioned in this Section, see Section 16

SECTION 4: First aid measures

4.1 Description of first aid measures

General advice

Consult a physician. Show this safety data sheet to the doctor in attendance.

If inhaled

If breathed in, move person into fresh air. If not breathing, give artificial respiration. Consult a physician.

In case of skin contact

Wash off with soap and plenty of water. Take victim immediately to hospital. Consult a physician.

In case of eye contact

Flush eyes with water as a precaution.

If swallowed

Never give anything by mouth to an unconscious person. Rinse mouth with water. Consult a physician.

4.2 Most important symptoms and effects, both acute and delayed

The most important known symptoms and effects are described in the labelling (see section 2.2) and/or in section 11

4.3 Indication of any immediate medical attention and special treatment needed

no data available

SECTION 5: Firefighting measures

5.1 Extinguishing media

Suitable extinguishing media

Use water spray, alcohol-resistant foam, dry chemical or carbon dioxide.

5.2 Special hazards arising from the substance or mixture

no data available

5.3 Advice for firefighters

Wear self contained breathing apparatus for fire fighting if necessary.

5.4 Further information

no data available

SECTION 6: Accidental release measures

6.1 Personal precautions, protective equipment and emergency procedures

Wear respiratory protection. Avoid dust formation. Avoid breathing vapours, mist or gas. Ensure adequate ventilation. Evacuate personnel to safe areas. Avoid breathing dust. For personal protection see section 8.

6.2 Environmental precautions

Prevent further leakage or spillage if safe to do so. Do not let product enter drains. Discharge into the environment must be avoided.

6.3 Methods and materials for containment and cleaning up

Pick up and arrange disposal without creating dust. Sweep up and shovel. Keep in suitable, closed containers for disposal.

6.4 Reference to other sections

For disposal see section 13.

SECTION 7: Handling and storage

7.1 Precautions for safe handling

Avoid contact with skin and eyes. Avoid formation of dust and aerosols. Provide appropriate exhaust ventilation at places where dust is formed. For precautions see section 2.2.

7.2 Conditions for safe storage, including any incompatibilities

Store in cool place. Keep container tightly closed in a dry and well-ventilated place.

7.3 Specific end use(s)

A part from the uses mentioned in section 1.2 no other specific uses are stipulated

SECTION 8: Exposure controls/personal protection

8.1 Control parameters

Components with workplace control parameters

8.2 Exposure controls

Appropriate engineering controls

Avoid contact with skin, eyes and clothing. Wash hands before breaks and immediately after handling the product.

Personal protective equipment

Eye/face protection

Face shield and safety glasses Use equipment for eye protection tested and approved under appropriate government standards such as NIOSH (US) or EN 166(EU).

Skin protection

Handle with gloves. Gloves must be inspected prior to use. Use proper glove removal technique (without touching glove's outer surface) to avoid skin contact with this product. Dispose of contaminated gloves after use in accordance with applicable laws and good laboratory practices. Wash and dry hands.

The selected protective gloves have to satisfy the specifications of EU Directive 89/686/EEC and the standard EN 374 derived from it.

Full contact

Material: Nitrile rubber

Minimum layer thickness: 0,11 mm

Break through time: 480 min

Material tested: Dermatril® (KCL 740 / Aldrich Z677272, Size M)

Splash contact

Material: Nitrile rubber

Minimum layer thickness: 0,11 mm

Break through time: 480 min

Material tested: Dermatril® (KCL 740 / Aldrich Z677272, Size M)

data source: KCL GmbH, D-36124 Eichenzell, phone +49 (0)6659 87300, e-mail sales@kcl.de, test method: EN374

If used in solution, or mixed with other substances, and under conditions which differ from EN 374, contact the supplier of the CE approved gloves. This recommendation is advisory only and must be evaluated by an industrial hygienist and safety officer familiar with the specific situation of anticipated use by our customers. It should not be construed as offering an approval for any specific use scenario.

Body Protection

Complete suit protecting against chemicals, The type of protective equipment must be selected according to the concentration and amount of the dangerous substance at the specific workplace.

Respiratory protection

Where risk assessment shows air-purifying respirators are appropriate use a full-face particle respirator type N100 (US) or type P3 (EN 143) respirator cartridges as a backup to engineering controls. If the respirator is the sole means of protection, use a full-face supplied air respirator. Use respirators and components tested and approved under appropriate government standards such as NIOSH (US) or CEN (EU).

Control of environmental exposure

Prevent further leakage or spillage if safe to do so. Do not let product enter drains. Discharge into the environment must be avoided.

SECTION 9: Physical and chemical properties

9.1 Information on basic physical and chemical properties

- | | |
|--|--|
| a) Appearance | Form: solid |
| b) Odour | no data available |
| c) Odour Threshold | no data available |
| d) pH | no data available |
| e) Melting point/freezing point | Melting point/range: 150 - 153 °C - lit. |
| f) Initial boiling point and boiling range | no data available |
| g) Flash point | no data available |

- h) Evaporation rate no data available
- i) Flammability (solid, gas) no data available
- j) Upper/lower
flammability or
explosive limits no data available
- k) Vapour pressure no data available
- l) Vapour density no data available
- m) Relative density no data available
- n) Water solubility no data available
- o) Partition coefficient: n-
octanol/water no data available
- p) Auto-ignition
temperature no data available
- q) Decomposition
temperature no data available
- r) Viscosity no data available
- s) Explosive properties no data available
- t) Oxidizing properties no data available

9.2 Other safety information
no data available

SECTION 10: Stability and reactivity

- 10.1 Reactivity**
no data available
- 10.2 Chemical stability**
Stable under recommended storage conditions.
- 10.3 Possibility of hazardous reactions**
no data available
- 10.4 Conditions to avoid**
no data available
- 10.5 Incompatible materials**
Strong oxidizing agents
- 10.6 Hazardous decomposition products**
Other decomposition products - no data available
In the event of fire: see section 5

SECTION 11: Toxicological information

- 11.1 Information on toxicological effects**
 - Acute toxicity**
LD50 Oral - rat - 5 mg/kg
 - Skin corrosion/irritation**
no data available
 - Serious eye damage/eye irritation**
no data available
 - Respiratory or skin sensitisation**
no data available
 - Germ cell mutagenicity**
no data available

Carcinogenicity

IARC: No component of this product present at levels greater than or equal to 0.1% is identified as probable, possible or confirmed human carcinogen by IARC.

Reproductive toxicity

no data available

Specific target organ toxicity - single exposure

no data available

Specific target organ toxicity - repeated exposure

no data available

Aspiration hazard

no data available

Additional Information

RTECS: Not available

May cause cyanosis., Gastrointestinal disturbance, Incoordination., Lachrymation, Convulsions

SECTION 12: Ecological information**12.1 Toxicity**

no data available

12.2 Persistence and degradability

no data available

12.3 Bioaccumulative potential

no data available

12.4 Mobility in soil

no data available

12.5 Results of PBT and vPvB assessment

PBT/vPvB assessment not available as chemical safety assessment not required/not conducted

12.6 Other adverse effects

Very toxic to aquatic life with long lasting effects.

SECTION 13: Disposal considerations**13.1 Waste treatment methods****Product**

Offer surplus and non-recyclable solutions to a licensed disposal company. Dissolve or mix the material with a combustible solvent and burn in a chemical incinerator equipped with an afterburner and scrubber.

Contaminated packaging

Dispose of as unused product.

SECTION 14: Transport information**14.1 UN number**

ADR/RID: 2811

IMDG: 2811

IATA: 2811

14.2 UN proper shipping name

ADR/RID: TOXIC SOLID, ORGANIC, N.O.S. (Carbofuran)

IMDG: TOXIC SOLID, ORGANIC, N.O.S. (Carbofuran)

IATA: Toxic solid, organic, n.o.s. (Carbofuran)

Passenger Aircraft: Not permitted for transport

14.3 Transport hazard class(es)

ADR/RID: 6.1

IMDG: 6.1

IATA: 6.1

14.4 Packaging group

ADR/RID: I

IMDG: I

IATA: I

14.5 Environmental hazards

ADR/RID: no

IMDG Marine pollutant: yes

IATA: no

14.6 Special precautions for user

no data available

SECTION 15: Regulatory information

This safety datasheet complies with the requirements of Regulation (EC) No. 1907/2006.

15.1 Safety, health and environmental regulations/legislation specific for the substance or mixture

no data available

15.2 Chemical Safety Assessment

For this product a chemical safety assessment was not carried out

SECTION 16: Other information**Full text of H-Statements referred to under sections 2 and 3.**

Acute Tox.	Acute toxicity
Aquatic Acute	Acute aquatic toxicity
Aquatic Chronic	Chronic aquatic toxicity
H300	Fatal if swallowed.
H300 + H330	Fatal if swallowed or if inhaled
H330	Fatal if inhaled.

Full text of R-phrases referred to under sections 2 and 3

N	Dangerous for the environment
T+	Very toxic
R26/28	Very toxic by inhalation and if swallowed.
R50/53	Very toxic to aquatic organisms, may cause long-term adverse effects in the aquatic environment.

Further information

Copyright 2013 Sigma-Aldrich Co. LLC. License granted to make unlimited paper copies for internal use only.

The above information is believed to be correct but does not purport to be all inclusive and shall be used only as a guide. The information in this document is based on the present state of our knowledge and is applicable to the product with regard to appropriate safety precautions. It does not represent any guarantee of the properties of the product. Sigma-Aldrich Corporation and its Affiliates shall not be held liable for any damage resulting from handling or from contact with the above product. See www.sigma-aldrich.com and/or the reverse side of invoice or packing slip for additional terms and conditions of sale.



RELATÓRIO DO PRODUTO

FURADAN 350SC

Nº Registro: 00538591

Composição	CARBOFURANO 350 g/L	
Grupo químico	METILCARBAMATO DE BENZOFURANILA	
Classe	INSETICIDA NEMATICIDA	
Modo de ação	SISTÊMICO	
Formulação	SC - SUSPENSÃO CONCENTRADA	
Classif. toxicológica	I - EXTREMAMENTE TÓXICO	
Classif. ambiental	II - PRODUTO MUITO PERIGOSO AO MEIO AMBIENTE	
Empresa	FMC	

CULTURA	PRAGA	MODO DE EMPREGO DOSE P. C. VOLUME DE CALDA	INTERV. SEG. (dias)
ALGODÃO	TRIPES Frankliniella schultzei (**)	Aplicação no sulco durante o plantio das sementes. 2-3 L p.c./ha	45 dias
(**) Este alvo está com restrição temporária no Estado do Paraná, não podendo ser recomendado/indicado seu uso.			
ALGODÃO	BROCA-DO-ALGODOEIRO Eutinobothrus brasiliensis	Aplicação no sulco durante o plantio das sementes. 2-3 L p.c./ha	45 dias
ALGODÃO	PULGÃO-DAS INFLORESCÊNCIAS Aphis gossypii	Aplicação no sulco durante o plantio das sementes. 2-3 L p.c./ha	45 dias
AMENDOIM	TRIPES-DO-AMENDOIM Enneothrips flavens, Caliothrips brasiliensis	Aplicar no sulco durante o plantio. 4-5 L p.c./ha	14 dias
ARROZ	LAGARTA-ELASMO Elasmopalpus lignosellus	Aplicar no sulco durante o plantio das sementes. 2-3 L p.c./ha	30 dias
ARROZ	BICHEIRA-DA-RAIZ-DO- ARROZ OU GORGULHO- AQUÁTICO-DO-ARROZ Oryzophagus oryzae	Aplicar o produto diluído em água através do sistema de gotejamento na entrada de água dos tabuleiros, de modo que o término da irrigação coincida com o término do processo de gotejamento. 400 ml p.c./ha	30 dias
BANANA (**)	MOLEQUE-DA- BANANEIRA Cosmopolites sordidus	Colocar as mudas tipo chifre em imersão, durante 15 minutos na calda do inseticida. 400 ml/100 L água p.c	30 dias
(**) Esta cultura está com restrição temporária no Estado do Paraná, não podendo ser recomendado/indicado seu uso.			
BATATA	LAGARTA-ROSCA Agrotis ipsilon	Aplicar 200 L de calda por hectare no sulco de plantio. 5 L/100 L água p.c.	60 dias
BATATA	TRAÇA-DA-BATATINHA Phthorimaea operculella	Aplicar 200 L de calda por hectare no sulco de plantio. 5 L/100 L água p.c.	60 dias
BATATA	LARVA-ALFINETE Diabrotica speciosa	Aplicar 200 L de calda por hectare no sulco de plantio. 5 L/100 L água p.c.	60 dias
CAFÉ	BICHO-MINEIRO DO-CAFÉ Leucoptera coffeella	Aplicar em cobertura com auxílio de pulverizador, com o jato ou bico dirigido sob a projeção da copa do pé de café, sempre que a praga atingir o nível de dano econômico. 1 ml/cova até 3 anos, 2 ml/cova mais de 3 anos p.c	90 dias
CAFÉ	CIGARRAS-DO-CAFEEIRO Fidicina monoe, Quesada gigas	Aplicar o produto diluído em água no solo (na projeção da copa). 6 ml/cova p.c.	90 dias
CANA-DE-AÇÚCAR	NEMATÓIDE-DAS- GALHAS Meloidogyne javanica	Aplicar no sulco junto aos toletes durante o plantio ou então em banda ou faixa em cana soca. 4-5 L p.c./ha	90 dias
CANA-DE-AÇÚCAR	NEMATÓIDE-DAS LESÕES Pratylenchus zeae	Aplicar no sulco junto aos toletes durante o plantio ou então em banda ou faixa em cana soca. 4-5 L p.c./ha	90 dias



RELATÓRIO DO PRODUTO

FURADAN 350SC

Nº Registro: 00538591

CULTURA	PRAGA	MODO DE EMPREGO DOSE P.C. VOLUME DE CALDA	INTERV. SEG. (dias)
CANA-DE-AÇÚCAR	NEMATÓIDES Helicotylenchus dihystra	Aplicar no sulco junto aos toletes durante o plantio ou então em banda ou faixa em cana soca. 4-5 L p.c./ha	90 dias
FEIJÃO	TRIPES-DO-FUMO Thrips tabaci	Aplicar no sulco durante o plantio das sementes. 2-3 L p.c./ha	75 dias
FEIJÃO	CIGARRINHA-VERDE Empoasca kraemeri	Aplicar no sulco durante o plantio das sementes. 2-3 L p.c./ha	75 dias
FUMO	PULGÃO-VERDE Myzus persicae	Aplicar no sulco durante o plantio. 4-5 L p.c./ha	U.N.A. = Uso não alimentar
MILHO	LAGARTA-ELASMO Elasmopalpus lignosellus	Aplicar no sulco durante o plantio das sementes. 3-4 L p.c./ha	30 dias
TOMATE	VAQUINHA-VERDE-AMARELA Diabrotica speciosa	Aplicar 200 L de calda por hectare no sulco de plantio. 5 L/100 L água p.c.	60 dias
TOMATE	NEMATÓIDE-DAS GALHAS Meloidogyne javanica	Aplicar 200 L de calda por hectare no sulco de plantio. 5 L/100 L água p.c.	60 dias
TRIGO (**)	LAGARTA-ELASMO Elasmopalpus lignosellus	Aplicar no sulco durante o plantio das sementes. 3-4 L p.c./ha	30 dias
(**) Esta cultura está com restrição temporária no Estado do Paraná, não podendo ser recomendado/indicado seu uso.			
TRIGO (**)	PULGÃO-DA-FOLHA Metopolophium dirhodum	Aplicar no sulco durante o plantio das sementes. 3-4 L p.c./ha	30 dias
(**) Esta cultura está com restrição temporária no Estado do Paraná, não podendo ser recomendado/indicado seu uso.			
TRIGO (**)	PULGÃO-DA-RAIZ Rhopalosiphum rufiabdominale	Aplicar no sulco durante o plantio das sementes. 3-4 L p.c./ha	30 dias
(**) Esta cultura está com restrição temporária no Estado do Paraná, não podendo ser recomendado/indicado seu uso.			

INSTRUÇÕES DE USO DO PRODUTO:

NÚMERO, ÉPOCA E INTERVALO DE APLICAÇÃO:

Ver quadro acima.

MODO DE APLICAÇÃO:

ALGODÃO: Aplicação no sulco durante o plantio das sementes.

AMENDOIM: Aplicar no sulco durante o plantio.

ARROZ: Aplicar no sulco durante o plantio das sementes. Aplicar o produto diluído em água através do sistema de gotejamento na entrada de água dos taboleiros, de modo que o término da irrigação coincida com o término do processo de gotejamento.

BANANA: Colocar as mudas tipo chifre em imersão, durante 15 minutos na calda do inseticida.

BATATA: Aplicar 200 L de calda por hectare no sulco de plantio.

CAFÉ: Aplicar em cobertura com auxílio de pulverizador, com o jato ou bico dirigido sob a projeção da copa do pé de café, sempre que a praga atingir o nível de dano econômico. Aplicar o produto diluído em água no solo (na projeção da copa).

CANA-DE-AÇÚCAR: Aplicar no sulco junto aos toletes durante o plantio ou então em banda ou faixa em cana soca.

FEIJÃO: Aplicar no sulco durante o plantio das sementes.

FUMO: Aplicar no sulco durante o plantio.

MILHO: Aplicar no sulco durante o plantio das sementes.

TOMATE: Aplicar 200 L de calda por hectare no sulco de plantio.

TRIGO: Aplicar no sulco durante o plantio das sementes.

EQUIPAMENTOS DE APLICAÇÃO:

Equipamentos de aplicação:

A aplicação deverá ser efetuada somente sobre o solo ou sulco de plantio da cultura, com pulverizadores tratorizados.

BICOS:

- bicos de jato plano (leque)

Pressão do pulverizador: 15 a 30 psi.

Ex: série DG, LP, ADI, TK ou TF.

- bicos de jato cônico cheio série FL - em equipamentos tratorizados para aplicações na superfície do solo. Pressão do pulverizador: 15 a 25 psi.

- bicos de jato plano uniforme: ex: 11003 E - em aplicações dirigidas no sulco de plantio. Volume de calda: 100 a 300 L/ha.

Diâmetro e densidade de gotas: são desejáveis gotas com DMV acima de 480 (micra) e um mínimo de 20 gotas/cm².

Faixa de deposição: utilizar distância entre bicos na barra de aplicação de forma que permita maior uniformidade de distribuição de gotas, sem áreas com falhas ou excessos.

Condições climáticas:

Temperatura ambiente: máxima de 30°C.

Umidade relativa do ar na área de aplicação: mínima 55%.

Velocidade do vento: 2-10 km/h.

INTERVALO DE SEGURANÇA:

ALGODÃO: 45 dias

AMENDOIM: 14 dias

ARROZ: 30 dias

BANANA: 30 dias

BATATA: 60 dias

CAFÉ: 90 dias

CANA-DE-AÇÚCAR: 90 dias

FEIJÃO: 75 dias

FUMO: Uso não alimentar.

MILHO: 30 dias

TOMATE: 60 dias

TRIGO: 30 dias

INTERVALO DE REENTRADA DE PESSOAS NAS CULTURAS E ÁREAS TRATADAS:

Não deve ocorrer a reentrada de pessoas nas culturas antes de 24 horas após aplicação, a menos que se use roupas protetoras.

LIMITAÇÕES DE USO:

Nas áreas que foram tratadas com herbicidas à base de propanil, aguardar no mínimo 7 dias para aplicar o FURADAN 350 SC. Quando este for aplicado primeiro, aguardar no mínimo 10-15 dias após a germinação para a aplicação de herbicidas à base de propanil.

INFORMAÇÕES SOBRE OS EQUIPAMENTOS DE PROTEÇÃO INDIVIDUAL A SEREM UTILIZADOS:

Durante a manipulação, preparação da calda ou aplicação, use macacão com mangas compridas, capa ou avental impermeável, chapéu impermeável de aba larga, botas, óculos protetores, luvas impermeáveis e máscara protetora especial provida de filtro adequado ao produto.

INFORMAÇÕES SOBRE MANEJO DE RESISTÊNCIA:

- Qualquer agente de controle de insetos pode ficar menos efetivo ao longo do tempo se o inseto alvo desenvolver algum mecanismo de resistência. Implementando as seguintes estratégias de manejo de resistência a inseticidas (MRI) poderíamos prolongar a vida útil dos inseticidas.
- Qualquer produto para controle de inseto da mesma classe ou modo de ação não deve ser utilizado em gerações consecutivas da mesma praga.
- Utilizar somente as doses recomendadas no rótulo/bula.
- Sempre consultar um Engenheiro Agrônomo para direcionamento sobre recomendações locais para o MRI.

INFORMAÇÕES SOBRE MANEJO INTEGRADO DE PRAGAS:

- Incluir outros métodos de controle de insetos (ex.: controle cultural, biológico, etc.) dentro do programa de Manejo Integrado de Pragas (MIP) quando disponível e apropriado.

DADOS RELATIVOS À PROTEÇÃO DA SAÚDE HUMANA:

ANTES DE USAR O PRODUTO LEIA COM ATENÇÃO AS INSTRUÇÕES.

PRECAUÇÕES GERAIS:

- Não coma, não beba e não fume durante o manuseio do produto.
- Não utilize equipamento com vazamento.
- Não desentupa bicos, orifícios e válvulas com a boca.
- Não distribua o produto com as mãos desprotegidas.

PRECAUÇÕES NA PREPARAÇÃO DA CALDA:

- Use protetor ocular.
- Se houver contato do produto com os olhos, lave-os imediatamente. Veja PRIMEIROS SOCORROS.
- Use máscaras cobrindo o nariz e a boca.
- Produto perigoso se inalado ou aspirado.
- Caso o produto seja inalado ou aspirado, procure local arejado e veja PRIMEIROS SOCORROS.
- Use luvas de borracha.
- Ao contato do produto com a pele, lave-a imediatamente e veja PRIMEIROS SOCORROS.
- Ao abrir a embalagem, faça de modo a evitar respingos.
- Use macacão com mangas compridas, chapéu de aba larga, óculos ou viseira facial, luvas, botas, avental impermeável e máscara apropriada.

PRECAUÇÕES DURANTE A APLICAÇÃO PROPRIAMENTE DITA:

- Evite o máximo possível o contato com a área de aplicação.
- O produto produz neblina, use máscara cobrindo o nariz e a boca.
- Não aplique o produto contra o vento.
- Use macacão com mangas compridas, chapéu de aba larga e botas.

PRECAUÇÕES APÓS A APLICAÇÃO:

- Não reutilize a embalagem vazia.
- Mantenha o restante do produto adequadamente fechado em local trancado, longe do alcance de crianças e animais.
- Tome banho, troque e lave as suas roupas.

PRIMEIROS SOCORROS:

- **INGESTÃO:** Provoque vômito e procure logo o médico, levando a embalagem, rótulo, bula ou receituário agrônômico do produto. Não dar nada via oral, nem induzir vômito a uma pessoa inconsciente.
- **OLHOS:** Lave com água em abundância e procure o médico levando a embalagem, rótulo, bula ou receituário agrônômico do produto.
- **PELE:** Lave com água e sabão em abundância e procure o médico, levando a embalagem, rótulo, bula ou receituário agrônômico do produto.
- **INALAÇÃO:** Procurar local arejado e ir ao médico levando a embalagem, rótulo, bula ou receituário agrônômico do produto.

ANTÍDOTO/TRATAMENTO:

ATROPINA É ANTÍDOTO DE EMERGÊNCIA EM CASO DE INTOXICAÇÃO. NUNCA ADMINISTRE ATROPINA ANTES DO APARECIMENTO DOS SINTOMAS DE INTOXICAÇÃO.

Se o acidentado parar de respirar, aplique imediatamente respiração artificial. Transporte-o imediatamente para assistência médica mais próxima.

SULFATO DE ATROPINA - Aplicar pelas vias intra-muscular ou intra-venosa (eventualmente também via oral); 1 a 6 mg cada 5 a 30 minutos, até atropinização leve.

MECANISMO DE AÇÃO, ABSORÇÃO E EXCREÇÃO PARA O SER HUMANO:

O CARBOFURANO, pertencendo ao grupo dos N-metilcarbamatos, age como inibidor da colinesterase. Esta inibição, ao contrário daquela causada pelos organofosforados, é reversível, e os efeitos do CARBOFURANO não são cumulativos, ou seja, não ocorre depressão crônica da colinesterase resultante de exposições repetitivas ao produto.

A principal via de absorção é a dérmica.

É rapidamente metabolizado e excretado principalmente pela urina. A duração do intervalo entre a exposição e o aparecimento de sinais e sintomas está relacionada com a dose. Pode variar de alguns minutos a 1 hora. A duração dos sintomas, que corresponde à metabolização do produto, também depende da dose. Em casos de intoxicação moderada, a recuperação espontânea ocorre entre 1 a 4 horas.

EFEITOS AGUDOS E CRÔNICOS:

Os efeitos agudos (sintomas de alarme) são aqueles causados pela inibição da colinesterase, ou seja, dor de cabeça, fraqueza, náuseas, tonturas e posteriormente constrição das pupilas, tremores, salivação e transpiração excessivas, cólicas abdominais, diarreia e vômitos.

Como dito anteriormente, os efeitos do CARBOFURANO não são cumulativos, pois a depressão de colinesterase é reversível (6 a 24 horas).

O CARBOFURANO não tem demonstrado nenhum potencial neurotóxico, mutagênico, teratogênico ou carcinogênico.

EFEITOS COLATERAIS:

Sintomas e sinais causados pela inibição da atividade da Colinesterase.

CONTRA-INDICAÇÕES

- oximas (contrathion), morfina, aminofilina, tranqüilizantes.

PRECAUÇÕES DE USO E ADVERTÊNCIAS QUANTO AOS CUIDADOS DE PROTEÇÃO AO MEIO AMBIENTE:

- Este produto é MUITO PERIGOSO AO MEIO AMBIENTE (CLASSE II)
- Este produto é ALTAMENTE TÓXICO para organismos aquáticos.
- Este produto é ALTAMENTE TÓXICO para aves.
- Este produto é ALTAMENTE TÓXICO para abelhas, podendo atingir outros insetos benéficos. Não aplique o produto no período de maior visitação das abelhas.
- Evite a contaminação ambiental - Preserve a Natureza.
- Não utilize equipamento com vazamentos.
- Não aplique o produto na presença de ventos fortes ou nas horas mais quentes.
- Aplique somente as doses recomendadas.
- Não lave as embalagens ou equipamento aplicador em lagos, fontes, rios e demais corpos d'água. Evite a contaminação da água.
- A destinação inadequada de embalagens ou restos de produtos ocasiona contaminação do solo, da água e do ar, prejudicando a fauna, a flora e a saúde das pessoas.

INSTRUÇÕES DE ARMAZENAMENTO DO PRODUTO, VISANDO SUA CONSERVAÇÃO E PREVENÇÃO CONTRA ACIDENTES:

- Mantenha o produto em sua embalagem original, sempre fechada.
- O local deve ser exclusivo para produtos tóxicos, devendo ser isolado de alimentos, bebidas ou outros materiais.
- A construção deve ser de alvenaria ou de material não combustível.
- O local deve ser ventilado, coberto e ter piso impermeável.
- Coloque placa de advertência com os dizeres: CUIDADO VENENO.
- Tranque o local, evitando o acesso de pessoas não autorizadas, principalmente crianças.
- Deve haver sempre embalagens adequadas disponíveis, para envolver embalagens rompidas ou para o recolhimento de produtos vazados.
- Em caso de armazéns, deverão ser seguidas as instruções constantes na NBR 9843 da Associação Brasileira de Normas Técnicas - ABNT.
- Observe as disposições constantes da legislação estadual e municipal.

INSTRUÇÕES EM CASO DE ACIDENTES:

- Isole e sinalize a área contaminada.
- Contate as autoridades locais competentes e a Empresa FMC QUÍMICA DO BRASIL LTDA.
- telefone de emergência: (34) 3319-3019 - Uberaba - MG.
- Utilize o equipamento de proteção individual - EPI (macacão impermeável, luvas e botas de PVC, óculos protetores e máscara contra eventuais vapores).
- Em caso de derrame, estanque o escoamento, não permitindo que o produto entre em bueiros, drenos ou corpos d'água. Siga as instruções abaixo:
 - Piso pavimentado - absorva o produto com serragem ou areia, recolha o material com auxílio de uma pá e coloque em recipiente lacrado e identificado devidamente. O produto derramado não deverá mais ser utilizado. Neste caso, consulte o registrante através do telefone indicado no rótulo para sua devolução e destinação final. Lave o local com grande quantidade de água.
 - Solo - retire as camadas de terra contaminada até atingir o solo não contaminado, recolha esse material e coloque em recipiente lacrado e devidamente identificado. Contate a empresa registrante conforme indicado acima.
 - Corpos d'água - interrompa imediatamente a captação para o consumo humano ou animal, contate o órgão ambiental mais próximo e o centro de emergência da empresa, visto que as medidas a serem adotadas dependem das proporções do acidente, das características do recurso hídrico em questão e da quantidade do produto envolvido.

- Em caso de incêndio, use extintores de água, CO² ou pó químico, ficando a favor do vento para evitar intoxicação.

LAVAGEM DA EMBALAGEM:

Durante o procedimento de lavagem o operador deverá estar utilizando os mesmos EPI's - Equipamentos de Proteção Individual - recomendados para o preparo da calda do produto.

TRÍPLICE LAVAGEM (LAVAGEM MANUAL):

Esta embalagem deverá ser submetida ao processo de Tríplice Lavagem, imediatamente após o seu esvaziamento, adotando-se os seguintes procedimentos:

- Esvazie completamente o conteúdo da embalagem no tanque do pulverizador, mantendo-a na posição vertical durante 30 segundos;
- Adicione água limpa à embalagem até $\frac{1}{4}$ do seu volume;
- Tampe bem a embalagem e agite-a por 30 segundos;
- Despeje a água de lavagem no tanque do pulverizador;
- Faça esta operação três vezes;
- Inutilize a embalagem plástica ou metálica perfurando o fundo.

LAVAGEM SOB PRESSÃO:

Ao utilizar pulverizadores dotados de equipamentos de lavagem sob pressão seguir os seguintes procedimentos:

- Encaixe a embalagem vazia no local apropriado do funil instalado no pulverizador;
- Acione o mecanismo para liberar o jato de água;
- Direcione o jato de água para todas as paredes internas da embalagem, por 30 segundos;
- A água de lavagem deve ser transferida para o tanque do pulverizador;
- Inutilize a embalagem plástica ou metálica, perfurando o fundo.

Ao utilizar equipamento independente para lavagem sob pressão adotar os seguintes procedimentos:

- Imediatamente após o esvaziamento do conteúdo original da embalagem, mantê-la invertida sobre a boca do tanque de pulverização, em posição vertical, durante 30 segundos;
- Manter a embalagem nessa posição, introduzir a ponta do equipamento de lavagem sob pressão, direcionando o jato de água para todas as paredes internas da embalagem, por 30 segundos;
- Toda a água de lavagem é dirigida diretamente para o tanque do pulverizador;
- Inutilize a embalagem plástica ou metálica, perfurando o fundo.

ARMAZENAMENTO DA EMBALAGEM VAZIA:

Após a realização da Tríplice Lavagem ou Lavagem sob Pressão, esta embalagem deve ser armazenada com a tampa, em caixa coletiva, quando existente, separadamente das embalagens não lavadas.

O armazenamento das embalagens vazias, até sua devolução pelo usuário, deve ser efetuado em local coberto, ventilado, ao abrigo de chuva e com piso impermeável, ou no próprio local onde guardadas as embalagens cheias.

DEVOLUÇÃO DA EMBALAGEM VAZIA:

No prazo de até um ano da data da compra, é obrigatória a devolução da embalagem vazia, com tampa, pelo usuário, ao estabelecimento onde foi adquirido o produto ou no local indicado na nota fiscal, emitida no ato da compra.

Caso o produto não tenha sido totalmente utilizado nesse prazo, e ainda esteja dentro de seu prazo de validade, será facultada a devolução da embalagem em até 6 meses após o término do prazo de validade.

O usuário deve guardar o comprovante de devolução para efeito de fiscalização, pelo prazo mínimo de um ano após a devolução da embalagem vazia.

TRANSPORTE:

As embalagens vazias não podem ser transportadas junto com alimentos, bebidas, medicamentos, rações, animais e pessoas.

EMBALAGENS SECUNDÁRIAS (NÃO CONTAMINADA):

ESTA EMBALAGEM NÃO PODE SER LAVADA.

ARMAZENAMENTO DA EMBALAGEM VAZIA:

O armazenamento da embalagem vazia até sua devolução pelo usuário deve ser efetuado em local coberto, ventilado, ao abrigo da chuva e com piso impermeável, no próprio local onde guardadas as embalagens cheias.

DEVOLUÇÃO DA EMBALAGEM VAZIA:

É obrigatória a devolução da embalagem vazia, pelo usuário, onde foi adquirido o produto ou no local indicado na



RELATÓRIO DO PRODUTO

FURADAN 350SC

Nº Registro: 00538591

nota fiscal, emitida pelo estabelecimento comercial.

TRANSPORTE:

As embalagens vazias não podem ser transportadas junto com alimentos, bebidas, medicamentos, rações, animais e pessoas.

DESTINAÇÃO FINAL DAS EMBALAGENS VAZIAS:

A destinação final das embalagens vazias, após a devolução pelos usuários, somente poderá ser realizada pela Empresa Registrante ou por empresas legalmente autorizadas pelos órgãos competentes.

EFEITOS SOBRE O MEIO AMBIENTE DECORRENTES DA DESTINAÇÃO INADEQUADA DA EMBALAGEM VAZIA E RESTOS DE PRODUTOS:

A destinação inadequada das embalagens vazias e restos de produtos no meio ambiente causa contaminação do solo, da água e do ar, prejudicando a fauna, a flora e a saúde das pessoas.

PRODUTOS IMPRÓPRIOS PARA UTILIZAÇÃO OU EM DESUSO:

Caso este produto venha a se tornar impróprio para utilização ou em desuso, consulte o registrante através do telefone indicado no rótulo para sua devolução e destinação final.

A desativação do produto é feita através de incineração em fornos destinados para este tipo de operação, equipados com câmaras de lavagem de gases efluentes e aprovados por órgão ambiental competente.

TRANSPORTE DE AGROTÓXICOS, COMPONENTES E AFINS:

O transporte está sujeito às regras e aos procedimentos estabelecidos na legislação específica, que inclui o acompanhamento da ficha de emergência do produto, bem como determina que os agrotóxicos não podem ser transportados junto de pessoas, animais, rações, medicamentos ou outros materiais.

RESTRIÇÕES ESTABELECIDAS POR ÓRGÃO COMPETENTE DO ESTADO, DISTRITO FEDERAL OU MUNICIPAL:

De acordo com as recomendações aprovadas pelos órgãos responsáveis.

Apêndice C
Testes ecotoxicológicos

Tabela 1: Dados dos testes de toxicidade aguda com a substância de referência, dicromato de potássio e as variáveis abióticas analisadas, após 24 e 48 horas de exposição.

Teste n°	N° de organismos imóveis				Imobilidade		pH		Temperatura		Condutividade		Dureza		Oxigênio dissolvido		
	Conc. (mg. L ⁻¹)	R ₁	R ₂	R ₃	R ₄	Total	%	0h	24h	0h	24h	0h	24h	0h	24h	0h	24h
1	Controle	0	0	0	0	0	0	7,6	-	24,2	-	157,2	-	42	-	6,2	-
	21,22	0	0	0	0	0	0	7,5	-	24,2	-	156,8	-	40	-	6,7	-
	29,71	0	0	0	0	0	0	7,2	-	24,2	-	157,5	-	40	-	6,3	-
	41,59	2	1	5	2	10	25	7,0	-	24,3	-	157,3	-	40	-	6,1	-
	58,23	0	4	5	5	14	35	7,0	-	24,4	-	158,8	-	44	-	6,4	-
	81,52	5	6	4	2	17	42,5	7,1	-	24,4	-	161,7	-	48	-	6,0	-
	114,13	9	7	9	7	32	80	7,0	-	24,5	-	162,3	-	40	-	7,1	-
1	Controle	1	0	1	0	2	5	-	7,5	-	24,3	-	158,2	-	40	-	6,4
	21,22	0	0	0	0	0	0	-	7,5	-	24,3	-	159,1	-	40	-	6,3
	29,71	2	0	0	0	2	5	-	7,4	-	24,3	-	158,3	-	40	-	5,9
	41,59	5	2	7	5	19	47,5	-	7,4	-	24,2	-	161,7	-	44	-	6,2
	58,23	6	4	8	6	24	60	-	7,1	-	24,4	-	161,8	-	42	-	7,1
	81,52	7	8	6	7	28	70	-	7,0	-	24,4	-	157,6	-	44	-	7,0
	114,13	10	10	10	9	39	97,5	-	7,0	-	24,5	-	157,3	-	46	-	6,9
2	Controle	0	0	0	0	0	0	7,7	-	24,5	-	161,3	-	40	-	7,2	-
	21,22	0	0	0	0	0	0	7,6	-	24,5	-	157,8	-	42	-	6,9	-
	29,71	1	0	0	0	1	2,5	7,5	-	24,5	-	159,5	-	44	-	6,6	-
	41,59	5	2	1	2	10	25	7,3	-	24,4	-	161,2	-	44	-	7,1	-
	58,23	4	3	5	6	18	45	7,1	-	24,3	-	158,3	-	42	-	6,8	-
	81,52	7	6	2	10	25	62,5	7,2	-	24,3	-	161,2	-	46	-	6,8	-
	114,13	9	9	7	10	35	87,5	7,0	-	24,2	-	158,5	-	48	-	6,4	-
2	Controle	1	0	0	0	1	2,5	-	7,7	-	25,0	-	157,5	-	44	-	5,9
	21,22	0	0	0	0	0	0	-	7,7	-	24,8	-	158,9	-	44	-	6,4
	29,71	2	3	0	5	10	25	-	7,6	-	24,8	-	156,8	-	48	-	6,8
	41,59	6	3	5	4	18	45	-	7,2	-	24,9	-	159,5	-	40	-	7,1
	58,23	4	6	6	8	24	60	-	7,0	-	24,8	-	161,2	-	40	-	7,0
	81,52	9	8	7	10	34	85	-	7,1	-	24,8	-	159,7	-	42	-	6,2
	114,13	9	10	10	10	39	97,5	-	7,3	-	25,0	-	158,6	-	42	-	6,5
3	Controle	0	0	0	0	0	0	7,4	-	24,2	-	162,1	-	44	-	6,4	-
	21,22	0	0	0	0	0	0	7,2	-	24,2	-	157,2	-	44	-	6,8	-
	29,71	0	0	0	0	0	0	7,0	-	24,3	-	159,3	-	40	-	6,9	-
	41,59	2	0	5	3	10	25	7,0	-	24,2	-	157,2	-	42	-	6,8	-
	58,23	4	3	5	6	18	45	7,6	-	24,4	-	158,3	-	48	-	7,0	-
	81,52	4	8	4	7	23	57,5	7,4	-	24,1	-	161,2	-	46	-	6,7	-
	114,13	10	8	9	9	36	90	7,2	-	24,3	-	158,5	-	46	-	7,1	-

Teste nº	Nº de organismos imóveis				Imobilidade		pH		Temperatura		Condutividade		Dureza		Oxigênio dissolvido		
	Conc. (mg. L ⁻¹)	R ₁	R ₂	R ₃	R ₄	Total	%	0h	48h	0h	48h	0h	48h	0h	48h	0h	48h
3	Controle	0	0	0	0	0	0	-	7,3	-	24,1	-	159,3	-	42	-	6,2
	21,22	0	0	0	0	0	0	-	7,1	-	24,2	-	161,3	-	44	-	7,1
	29,71	10	2	2	0	14	35	-	7,0	-	24,2	-	158,5	-	40	-	6,7
	41,59	5	2	2	3	12	30	-	7,0	-	24,2	-	156,8	-	44	-	6,9
	58,23	6	3	5	9	23	57,5	-	7,0	-	24,5	-	159,7	-	46	-	5,9
	81,52	7	6	10	9	32	80	-	7,3	-	24,4	-	160,4	-	40	-	6,0
	114,13	10	10	10	10	40	100	-	7,1	-	24,3	-	158,6	-	40	-	6,7
4	Controle	0	0	0	0	0	0	7,7	-	24,7	-	158,6	-	42	-	6,7	-
	21,22	0	0	0	0	0	0	7,5	-	24,5	-	177,6	-	42	-	7,1	-
	29,71	0	0	0	0	0	0	7,4	-	24,6	-	160,2	-	44	-	6,6	-
	41,59	1	3	0	1	5	12,5	7,0	-	24,7	-	159,2	-	46	-	6,9	-
	58,23	2	2	2	2	8	20	7,7	-	24,8	-	157,3	-	42	-	6,7	-
	81,52	5	10	4	5	24	60	7,2	-	24,7	-	162,0	-	40	-	7,0	-
	114,13	5	4	10	3	22	55	7,0	-	24,8	-	160,7	-	44	-	6,4	-
4	Controle	0	0	0	0	0	0	-	7,5	-	24,1	-	159,5	-	44	-	6,7
	21,22	0	0	0	0	0	0	-	7,5	-	24,0	-	157,2	-	44	-	6,5
	29,71	1	0	1	3	5	12,5	-	7,3	-	24,5	-	161,2	-	40	-	6,9
	41,59	6	6	2	3	17	42,5	-	7,7	-	24,2	-	161,4	-	42	-	6,6
	58,23	5	1	6	4	16	40	-	7,0	-	24,3	-	161,3	-	44	-	6,3
	81,52	10	10	10	8	38	95	-	7,5	-	24,2	-	159,8	-	48	-	6,0
	114,13	10	8	10	8	36	90	-	7,3	-	24,2	-	161,3	-	48	-	6,2
5	Controle	0	0	0	0	0	0	7,6	-	24,3	-	159,3	-	44	-	6,9	-
	21,22	0	0	0	0	0	0	7,4	-	24,3	-	161,5	-	40	-	6,9	-
	29,71	2	5	5	0	12	30	7,4	-	24,2	-	157,4	-	40	-	6,8	-
	41,59	5	3	5	3	16	40	7,1	-	24,2	-	156,8	-	40	-	7,2	-
	58,23	8	9	7	6	30	75	7,0	-	24,3	-	161,3	-	40	-	7,2	-
	81,52	6	4	5	6	21	52,5	7,0	-	24,4	-	161,2	-	42	-	7,0	-
	114,13	10	10	8	10	38	95	7,1	-	24,1	-	159,4	-	44	-	6,6	-
5	Controle	0	1	0	1	2	5	-	7,5	-	24,9	-	161,5	-	42	-	6,4
	21,22	0	0	0	0	0	0	-	7,3	-	24,9	-	159,9	-	44	-	6,7
	29,71	6	5	5	1	17	42,5	-	7,2	-	24,8	-	157,2	-	44	-	6,9
	41,59	5	5	5	5	20	50	-	7,0	-	24,7	-	161,3	-	45	-	6,7
	58,23	10	9	8	7	34	85	-	7,0	-	24,8	-	159,5	-	44	-	7,0
	81,52	10	9	10	10	39	97,5	-	7,5	-	24,9	-	160,4	-	46	-	6,3
	114,13	10	10	10	10	40	100	-	7,6	-	24,8	-	162,2	-	46	-	6,6
6	Controle	0	0	0	0	0	0	7,7	-	24,4	-	158,5	-	44	-	7,0	-
	21,22	0	1	0	2	3	7,5	7,5	-	24,4	-	160,8	-	42	-	7,1	-
	29,71	2	0	1	1	4	10	7,3	-	24,3	-	160,2	-	40	-	7,1	-
	41,59	2	2	1	4	9	22,5	7,0	-	24,5	-	159,4	-	40	-	6,2	-
	58,23	4	6	4	7	21	52,5	7,6	-	24,4	-	157,6	-	40	-	6,7	-
	81,52	5	6	4	3	18	45	7,5	-	24,4	-	159,8	-	44	-	6,0	-
	114,13	10	9	10	8	37	92,5	7,3	-	24,5	-	159,7	-	48	-	6,9	-

Teste n°	N° de organismos imóveis				Imobilidade		pH		Temperatura		Condutividade		Dureza		Oxigênio dissolvido		
	Conc. (mg. L ⁻¹)	R ₁	R ₂	R ₃	R ₄	Total	%	0h	48h	0h	48h	0h	48h	0h	48h	0h	48h
6	Controle	0	0	0	0	0	0	-	7,7	-	24,5	-	158,4	-	42	-	6,0
	21,22	0	1	1	2	4	10	-	7,4	-	24,5	-	161,5	-	44	-	6,7
	29,71	4	2	3	4	13	32,5	-	7,0	-	24,7	-	161,7	-	45	-	6,2
	41,59	4	6	4	6	20	50	-	7,0	-	24,6	-	157,3	-	40	-	7,2
	58,23	5	8	7	7	27	67,5	-	7,5	-	24,6	-	158,5	-	42	-	6,7
	81,52	10	6	8	4	28	70	-	7,4	-	24,5	-	161,7	-	46	-	6,8
	114,13	10	10	10	10	40	100	-	7,2	-	24,4	-	157,9	-	40	-	6,1
7	Controle	0	0	0	0	0	0	7,7	-	24,6	-	157,0	-	40	-	6,9	-
	21,22	0	1	0	0	1	2,5	7,0	-	24,5	-	158,8	-	44	-	7,6	-
	29,71	0	0	1	0	1	2,5	7,2	-	24,5	-	159,0	-	48	-	6,5	-
	41,59	2	1	4	2	9	22,5	7,5	-	24,4	-	158,3	-	48	-	6,9	-
	58,23	6	8	8	9	31	77,5	7,3	-	24,4	-	159,6	-	40	-	6,6	-
	81,52	7	6	10	7	30	75	7,1	-	24,5	-	160,0	-	40	-	6,9	-
	114,13	10	10	8	9	37	92,5	7,0	-	24,4	-	161,4	-	42	-	7,0	-
7	Controle	0	0	0	0	0	0	-	7,6	-	24,4	-	159,8	-	40	-	6,7
	21,22	0	0	0	1	1	2,5	-	7,4	-	24,5	-	161,8	-	42	-	6,7
	29,71	1	0	2	1	4	10	-	7,3	-	24,3	-	160,9	-	40	-	6,8
	41,59	5	1	4	4	14	35	-	7,1	-	24,3	-	158,3	-	34	-	7,0
	58,23	10	7	8	10	35	87,5	-	7,0	-	24,3	-	161,8	-	40	-	6,5
	81,52	10	10	10	10	40	100	-	7,0	-	24,4	-	157,4	-	44	-	6,8
	114,13	10	10	10	10	40	100	-	7,1	-	24,4	-	156,9	-	40	-	6,7
8	Controle	0	0	0	0	0	0	7,7	-	24,6	-	158,3	-	42	-	6,9	-
	21,22	0	0	2	0	2	5	7,0	-	24,5	-	159,1	-	48	-	6,7	-
	29,71	2	0	10	2	14	35	7,0	-	24,4	-	157,4	-	40	-	6,4	-
	41,59	10	3	5	4	22	55	7,3	-	24,4	-	160,4	-	40	-	6,6	-
	58,23	5	6	5	3	19	47,5	7,2	-	24,4	-	161,3	-	42	-	6,9	-
	81,52	6	6	7	8	27	67,5	7,5	-	24,3	-	158,5	-	40	-	6,9	-
	114,13	8	10	8	8	34	85	7,3	-	24,4	-	159,2	-	40	-	6,7	-
8	Controle	0	0	0	0	0	0	-	7,1	-	24,7	-	158,8	-	40	-	6,7
	21,22	1	0	1	2	4	10	-	7,7	-	24,5	-	161,0	-	44	-	6,6
	29,71	5	2	10	3	20	50	-	7,7	-	24,7	-	161,7	-	40	-	6,5
	41,59	10	4	10	8	32	80	-	7,5	-	24,5	-	160,1	-	42	-	6,6
	58,23	9	6	8	9	32	80	-	7,0	-	24,6	-	159,5	-	42	-	6,7
	81,52	10	10	10	10	40	100	-	7,0	-	24,6	-	158,3	-	40	-	6,9
	114,13	10	10	10	10	40	100	-	7,5	-	24,5	-	159,9	-	40	-	6,6
9	Controle	0	0	0	0	0	0	7,7	-	24,0	-	157,4	-	40	-	7,2	-
	21,22	0	0	0	7	7	17,5	7,0	-	24,2	-	156,9	-	41	-	6,1	-
	29,71	0	10	2	2	14	35	7,0	-	24,2	-	158,0	-	42	-	6,7	-
	41,59	2	3	5	5	15	37,5	7,3	-	24,2	-	159,6	-	40	-	6,6	-
	58,23	10	3	1	3	17	42,5	7,4	-	24,1	-	159,7	-	42	-	7,3	-
	81,52	4	5	5	5	19	47,5	7,6	-	24,1	-	161,6	-	40	-	6,2	-
	114,13	8	10	6	10	34	85	7,4	-	24,2	-	159,3	-	44	-	6,8	-

Teste n°	N° de organismos imóveis				Imobilidade		pH		Temperatura		Condutividade		Dureza		Oxigênio dissolvido		
	Conc. (mg. L ⁻¹)	R ₁	R ₂	R ₃	R ₄	Total	%	0h	48h	0h	48h	0h	48h	0h	48h		
9	Controle	0	0	0	0	0	0	-	7,0	-	24,6	-	158,9	-	40	-	6,9
	21,22	1	0	1	10	12	30	-	7,5	-	24,4	-	157,8	-	42	-	6,7
	29,71	4	5	10	0	19	47,5	-	7,7	-	24,3	-	159,8	-	40	-	6,5
	41,59	2	7	6	7	22	55	-	7,3	-	24,4	-	162,3	-	42	-	6,4
	58,23	10	8	6	8	32	80	-	7,7	-	24,4	-	161,3	-	40	-	6,7
	81,52	10	9	8	10	37	92,5	-	7,6	-	24,5	-	158,7	-	44	-	7,2
	114,13	10	10	10	10	40	100	-	7,3	-	24,4	-	160,7	-	42	-	6,7
10	Controle	0	0	0	0	0	0	7,6	-	24,3	-	160,1	-	48	-	7,2	-
	21,22	0	0	0	2	2	5	7,7	-	24,4	-	162,0	-	40	-	7,0	-
	29,71	0	0	1	0	1	2,5	7,7	-	24,2	-	157,6	-	42	-	6,9	-
	41,59	5	3	1	8	17	42,5	7,5	-	24,2	-	161,1	-	40	-	6,9	-
	58,23	3	5	4	2	14	35	7,3	-	24,4	-	160,9	-	40	-	7,0	-
	81,52	6	4	5	1	16	40	7,1	-	24,3	-	159,3	-	42	-	6,7	-
	114,13	9	8	10	10	37	92,5	7,0	-	24,4	-	157,8	-	42	-	6,9	-
10	Controle	0	0	0	0	0	0	-	7,5	-	24,2	-	157,9	-	40	-	6,8
	21,22	1	0	0	2	3	7,5	-	7,6	-	24,3	-	161,8	-	42	-	7,0
	29,71	4	0	4	0	8	20	-	7,5	-	24,4	-	156,8	-	44	-	6,9
	41,59	7	8	4	5	24	60	-	7,0	-	24,5	-	157,4	-	40	-	6,9
	58,23	7	7	7	6	27	67,5	-	7,0	-	24,5	-	160,7	-	40	-	6,3
	81,52	10	7	10	10	37	92,5	-	7,2	-	24,5	-	159,5	-	40	-	6,7
	114,13	10	10	10	9	39	97,5	-	7,4	-	24,6	-	160,3	-	44	-	6,6
11	Controle	0	0	0	0	0	0	7,0	-	24,4	-	161,2	-	42	-	6,4	-
	21,22	0	0	0	5	5	12,5	7,3	-	24,6	-	158,5	-	40	-	6,7	-
	29,71	4	1	2	1	8	20	7,7	-	24,5	-	159,6	-	42	-	6,8	-
	41,59	1	4	2	2	9	22,5	7,6	-	24,5	-	158,1	-	42	-	6,9	-
	58,23	4	5	3	5	17	42,5	7,4	-	24,6	-	160,0	-	40	-	6,7	-
	81,52	5	5	2	4	16	40	7,2	-	24,6	-	157,0	-	40	-	7,4	-
	114,13	7	7	10	9	33	82,5	7,0	-	24,7	-	158,4	-	42	-	7,2	-
11	Controle	0	0	0	1	1	2,5	-	7,5	-	25,0	-	159,2	-	42	-	6,2
	21,22	2	2	0	8	12	30	-	7,7	-	25,0	-	161,0	-	40	-	6,6
	29,71	4	4	3	2	13	32,5	-	7,5	-	24,9	-	160,5	-	48	-	6,8
	41,59	2	4	2	5	13	32,5	-	7,1	-	24,7	-	159,0	-	44	-	6,6
	58,23	4	5	3	5	17	42,5	-	7,6	-	24,8	-	157,6	-	44	-	7,0
	81,52	7	8	7	8	30	75	-	7,5	-	25,0	-	162,0	-	40	-	7,2
	114,13	10	10	10	10	40	100	-	7,2	-	24,9	-	162,1	-	40	-	7,0
12	Controle	0	0	0	0	0	0	7,4	-	24,4	-	161,3	-	44	-	7,2	-
	21,22	0	0	1	0	1	2,5	7,2	-	24,4	-	159,9	-	40	-	6,9	-
	29,71	2	1	1	3	7	17,5	7,0	-	24,5	-	158,9	-	42	-	6,9	-
	41,59	1	0	1	3	5	12,5	7,0	-	24,6	-	162,1	-	40	-	6,8	-
	58,23	1	1	3	3	8	20	7,6	-	24,5	-	160,8	-	40	-	6,4	-
	81,52	5	3	6	3	17	42,5	7,5	-	24,3	-	159,1	-	40	-	6,7	-
	114,13	9	8	8	9	34	85	7,3	-	24,3	-	157,7	-	44	-	6,9	-

Teste n°	N° de organismos imóveis					Imobilidade		pH		Temperatura		Condutividade		Dureza		Oxigênio dissolvido	
	Conc. (mg. L ⁻¹)	R ₁	R ₂	R ₃	R ₄	Total	%	0h	48h	0h	48h	0h	48h	0h	48h	0h	48h
12	Controle	0	0	1	1	2	5	-	7,6	-	24,5	-	157,3	-	40	-	6,8
	21,22	0	0	2	0	2	5	-	7,4	-	24,6	-	157,2	-	40	-	6,6
	29,71	2	2	2	3	9	22,5	-	7,7	-	24,5	-	161,0	-	40	-	6,7
	41,59	2	2	0	4	8	20	-	7,5	-	24,6	-	159,4	-	42	-	6,8
	58,23	4	1	4	6	15	37,5	-	7,2	-	24,6	-	157,3	-	44	-	6,9
	81,52	8	7	7	5	27	67,5	-	7,0	-	24,4	-	157,0	-	40	-	6,5
	114,13	10	10	10	10	40	100	-	7,4	-	24,6	-	160,3	-	42	-	6,9
13	Controle	0	0	0	0	0	0	7,4	-	24,4	-	161,3	-	44	-	6,9	-
	21,22	0	0	0	0	0	0	7,2	-	24,4	-	159,9	-	40	-	6,6	-
	29,71	2	1	1	0	4	10	7,0	-	24,5	-	157,9	-	42	-	7,2	-
	41,59	1	2	3	2	8	20	7,0	-	24,6	-	162,1	-	40	-	6,7	-
	58,23	0	1	5	3	9	22,5	7,6	-	24,5	-	169,8	-	40	-	6,9	-
	81,52	6	2	2	5	15	37,5	7,5	-	24,3	-	158,1	-	40	-	6,5	-
	114,13	10	8	8	9	35	87,5	7,3	-	24,3	-	159,7	-	44	-	6,9	-
13	Controle	1	0	0	0	1	2,5	-	7,7	-	24,1	-	157,3	-	40	-	7,0
	21,22	0	0	3	0	3	7,5	-	7,7	-	24,6	-	157,2	-	40	-	6,8
	29,71	2	1	2	3	8	20	-	7,7	-	24,2	-	159,0	-	40	-	6,8
	41,59	3	2	3	2	10	25	-	7,5	-	24,6	-	158,4	-	42	-	6,5
	58,23	5	5	6	5	21	52,5	-	7,2	-	24,2	-	158,3	-	44	-	6,7
	81,52	7	8	10	7	32	80	-	7,0	-	24,0	-	156,9	-	40	-	6,9
	114,13	10	9	10	10	39	97,5	-	7,5	-	24,3	-	162,0	-	42	-	7,0
14	Controle	0	0	0	0	0	0	7,7	-	24,7	-	158,0	-	40	-	6,9	-
	21,22	0	1	0	0	1	2,5	7,0	-	24,5	-	160,8	-	44	-	6,7	-
	29,71	0	0	1	0	1	2,5	7,1	-	24,5	-	159,0	-	48	-	6,5	-
	41,59	2	1	4	2	9	22,5	7,3	-	24,4	-	158,3	-	48	-	6,9	-
	58,23	6	8	8	9	31	77,5	7,4	-	24,4	-	159,6	-	40	-	7,0	-
	81,52	7	6	10	7	30	75	7,1	-	24,5	-	160,0	-	40	-	6,8	-
	114,13	10	10	8	9	37	92,5	7,0	-	24,4	-	161,0	-	42	-	6,8	-
14	Controle	0	0	0	0	0	0	-	7,6	-	24,4	-	159,8	-	40	-	6,1
	21,22	0	0	0	1	1	2,5	-	7,4	-	24,5	-	158,8	-	42	-	6,5
	29,71	1	0	2	1	4	10	-	7,3	-	24,3	-	160,9	-	40	-	6,4
	41,59	5	1	4	4	14	35	-	7,1	-	24,3	-	158,3	-	44	-	6,7
	58,23	10	7	8	10	35	87,5	-	7,0	-	24,3	-	158,8	-	40	-	5,9
	81,52	10	10	10	10	40	100	-	7,4	-	24,4	-	157,4	-	40	-	6,3
	114,13	10	10	10	10	40	100	-	7,2	-	24,4	-	159,0	-	40	-	6,6
15	Controle	0	0	0	0	0	0	7,6	-	24,0	-	160,3	-	44	-	6,9	-
	21,22	0	0	2	1	3	7,5	7,0	-	24,2	-	159,6	-	42	-	7,0	-
	29,71	5	4	2	1	12	30	7,0	-	24,3	-	159,9	-	44	-	6,6	-
	41,59	2	5	5	3	15	37,5	7,2	-	24,1	-	160,6	-	40	-	6,9	-
	58,23	5	4	4	4	17	42,5	7,5	-	24,1	-	158,3	-	48	-	6,8	-
	81,52	7	4	7	4	22	55	7,3	-	24,1	-	161,2	-	40	-	6,9	-
	114,13	9	10	10	9	38	95	7,2	-	24,1	-	158,8	-	42	-	6,9	-

Teste n°	N° de organismos imóveis				Imobilidade		pH		Temperatura		Condutividade		Dureza		Oxigênio dissolvido		
	Conc. (mg. L ⁻¹)	R ₁	R ₂	R ₃	R ₄	Total	%	0h	48h	0h	48h	0h	48h	0h	48h	0h	48h
15	Controle	0	0	0	0	0	0	-	7,7	-	24,0	-	160,6	-	44	-	6,2
	21,22	0	2	1	1	4	10	-	7,6	-	24,1	-	157,4	-	40	-	6,8
	29,71	5	6	3	3	17	42,5	-	7,6	-	24,0	-	160,6	-	40	-	6,7
	41,59	8	7	8	7	30	75	-	7,2	-	24,4	-	159,6	-	42	-	6,7
	58,23	9	7	8	9	33	82,5	-	7,0	-	24,6	-	158,1	-	46	-	6,5
	81,52	10	10	10	9	39	97,5	-	7,5	-	24,8	-	159,4	-	48	-	6,9
	114,13	10	10	10	10	40	100	-	7,1	-	24,7	-	157,8	-	48	-	6,8
16	Controle	0	0	0	0	0	0	7,4	-	24,4	-	158,2	-	40	-	6,8	-
	21,22	1	0	2	0	3	7,5	7,7	-	24,4	-	159,2	-	44	-	6,5	-
	29,71	0	2	3	2	7	17,5	7,7	-	24,5	-	157,0	-	44	-	6,9	-
	41,59	3	0	3	8	14	35	7,3	-	24,4	-	161,1	-	42	-	6,8	-
	58,23	4	3	1	6	14	35	7,3	-	24,6	-	157,7	-	42	-	6,8	-
	81,52	2	5	2	8	17	42,5	7,2	-	24,5	-	161,7	-	48	-	6,6	-
	114,13	8	8	8	10	34	85	7,2	-	24,7	-	158,4	-	46	-	7,0	-
16	Controle	0	0	0	0	0	0	-	7,7	-	24,3	-	158,2	-	44	-	6,8
	21,22	1	0	2	0	3	7,5	-	7,5	-	24,3	-	159,0	-	40	-	6,6
	29,71	1	2	3	2	8	20	-	7,3	-	24,2	-	161,2	-	40	-	6,9
	41,59	3	1	3	10	17	42,5	-	7,0	-	24,1	-	157,2	-	42	-	6,8
	58,23	5	4	4	5	18	45	-	7,5	-	24,2	-	158,4	-	42	-	7,0
	81,52	8	9	8	10	35	87,5	-	7,3	-	24,5	-	157,1	-	40	-	6,9
	114,13	10	9	10	10	39	97,5	-	7,0	-	24,3	-	158,9	-	44	-	6,8
17	Controle	0	0	0	0	0	0	7,4	-	24,4	-	158,2	-	40	-	7,2	-
	21,22	1	2	0	1	4	10	7,1	-	24,4	-	159,2	-	44	-	6,6	-
	29,71	5	2	1	1	9	22,5	7,7	-	24,5	-	158,0	-	42	-	6,9	-
	41,59	3	5	3	3	14	35	7,5	-	24,4	-	161,1	-	44	-	6,4	-
	58,23	5	4	8	6	23	57,5	7,3	-	24,6	-	162,2	-	48	-	6,7	-
	81,52	6	6	9	8	29	72,5	7,2	-	24,5	-	161,7	-	40	-	6,8	-
	114,13	10	10	10	10	40	100	7,2	-	24,7	-	159,4	-	46	-	6,9	-
17	Controle	0	0	0	0	0	0	-	7,7	-	24,7	-	158,2	-	44	-	7,1
	21,22	2	2	0	1	5	12,5	-	7,5	-	24,9	-	159,0	-	40	-	6,8
	29,71	5	2	1	3	11	27,5	-	7,3	-	24,9	-	161,2	-	40	-	6,9
	41,59	5	5	4	3	17	42,5	-	7,0	-	24,8	-	157,2	-	42	-	6,8
	58,23	10	8	8	7	33	82,5	-	7,0	-	24,8	-	159,4	-	42	-	6,6
	81,52	10	6	9	8	33	82,5	-	7,3	-	24,9	-	160,1	-	40	-	7,0
	114,13	10	10	10	10	40	100	-	7,0	-	25,0	-	161,7	-	44	-	6,8
18	Controle	0	0	0	0	0	0	7,7	-	24,9	-	158,1	-	48	-	6,7	-
	21,22	0	0	0	0	0	0	7,2	-	25,0	-	160,7	-	40	-	6,6	-
	29,71	3	1	2	0	6	15	7,0	-	25,0	-	161,6	-	44	-	6,9	-
	41,59	3	1	4	0	8	20	7,5	-	24,9	-	161,9	-	40	-	6,4	-
	58,23	5	5	1	5	16	40	7,4	-	25,0	-	160,4	-	40	-	6,5	-
	81,52	5	4	5	5	19	47,5	7,2	-	24,9	-	159,2	-	40	-	6,7	-
	114,13	9	10	9	7	35	87,5	7,0	-	24,9	-	161,3	-	42	-	6,8	-

Teste n°	N° de organismos imóveis				Imobilidade		pH		Temperatura		Condutividade		Dureza		Oxigênio dissolvido		
	Conc. (mg. L ⁻¹)	R ₁	R ₂	R ₃	R ₄	Total	%	0h	48h	0h	48h	0h	48h	0h	48h	0h	48h
18	Controle	0	0	0	0	0	0	-	7,7	-	24,3	-	159,6	-	44	-	6,7
	21,22	0	1	1	0	2	5	-	7,6	-	24,3	-	161,4	-	40	-	6,0
	29,71	5	3	2	0	10	25	-	7,3	-	24,3	-	157,1	-	40	-	6,4
	41,59	6	2	5	3	16	40	-	7,0	-	24,5	-	158,3	-	48	-	6,3
	58,23	8	9	7	6	30	75	-	7,1	-	24,3	-	157,5	-	46	-	6,9
	81,52	9	10	9	10	38	95	-	7,4	-	24,4	-	160,6	-	40	-	6,8
	114,13	10	10	10	10	40	100	-	7,1	-	24,3	-	161,5	-	40	-	6,9
19	Controle	0	0	0	0	0	0	7,7	-	24,8	-	158,1	-	48	-	6,4	-
	21,22	1	0	0	0	1	2,5	7,2	-	24,9	-	160,7	-	40	-	7,3	-
	29,71	0	1	0	1	2	5	7,0	-	25,0	-	161,6	-	44	-	7,1	-
	41,59	3	0	1	2	6	15	7,5	-	24,9	-	161,9	-	40	-	6,9	-
	58,23	5	3	5	5	18	45	7,4	-	25,0	-	160,4	-	40	-	6,7	-
	81,52	8	9	7	9	33	82,5	7,2	-	24,9	-	159,2	-	40	-	6,6	-
	114,13	9	10	10	7	36	90	7,0	-	24,9	-	158,8	-	42	-	6,8	-
19	Controle	0	0	0	0	0	0	-	7,7	-	24,3	-	157,6	-	44	-	6,9
	21,22	1	1	0	1	3	7,5	-	7,6	-	24,3	-	161,4	-	40	-	7,0
	29,71	0	2	0	2	4	10	-	7,3	-	24,3	-	159,1	-	40	-	7,1
	41,59	4	0	3	2	9	22,5	-	7,0	-	24,5	-	157,3	-	48	-	6,8
	58,23	6	5	6	7	24	60	-	7,6	-	24,3	-	157,5	-	46	-	6,7
	81,52	9	10	10	9	38	95	-	7,4	-	24,4	-	160,6	-	40	-	6,9
	114,13	10	10	10	10	40	100	-	7,1	-	24,3	-	162,0	-	40	-	7,0
20	Controle	0	0	0	0	0	0	7,7	-	24,9	-	157,1	-	48	-	6,7	-
	21,22	2	1	0	1	4	10	7,2	-	25,0	-	160,7	-	40	-	6,7	-
	29,71	2	0	1	1	4	10	7,0	-	25,0	-	161,6	-	44	-	6,5	-
	41,59	0	1	3	5	9	22,5	7,1	-	24,9	-	161,9	-	40	-	6,8	-
	58,23	5	2	2	4	13	32,5	7,4	-	25,0	-	159,4	-	40	-	6,6	-
	81,52	5	5	6	7	23	57,5	7,2	-	24,9	-	160,2	-	40	-	6,8	-
	114,13	10	10	9	8	37	92,5	7,0	-	24,9	-	158,9	-	42	-	7,0	-
20	Controle	0	0	0	0	0	0	-	7,7	-	24,3	-	158,6	-	44	-	5,9
	21,22	3	1	0	2	6	15	-	7,6	-	24,3	-	161,4	-	40	-	6,2
	29,71	4	0	3	2	9	22,5	-	7,3	-	24,3	-	158,1	-	40	-	6,3
	41,59	1	2	5	9	17	42,5	-	7,0	-	24,5	-	157,3	-	48	-	6,1
	58,23	5	4	4	6	19	47,5	-	7,6	-	24,3	-	157,5	-	46	-	6,4
	81,52	9	7	7	9	32	80	-	7,4	-	24,4	-	160,6	-	40	-	6,2
	114,13	10	10	10	10	40	100	-	7,1	-	24,3	-	162,2	-	40	-	6,5

Tabela 2: Dados dos testes de toxicidade aguda com o ingrediente ativo, carbofurano e as variáveis abióticas analisadas, após 24 e 48 horas de exposição.

Teste n°	N° de organismos imóveis				Imobilidade		pH		Temperatura		Condutividade		Dureza		Oxigênio dissolvido		
	Conc. (mg. L ⁻¹)	R ₁	R ₂	R ₃	R ₄	Total	%	0h	24h	0h	24h	0h	24h	0h	24h	0h	24h
1	Controle	0	0	0	0	0	0	7,2	-	24,5	-	157,1	-	40	-	6,9	-
	0,78	0	0	0	0	0	0	7,2	-	24,4	-	158,9	-	40	-	6,6	-
	1,56	2	1	0	0	3	7,5	7,3	-	24,4	-	157,4	-	40	-	6,9	-
	3,12	1	2	1	2	6	15	7,3	-	24,3	-	157,3	-	44	-	6,5	-
	6,25	4	3	2	5	14	35	7,3	-	24,4	-	160,3	-	48	-	6,2	-
	12,5	5	3	2	6	16	40	7,4	-	24,3	-	158,7	-	44	-	6,8	-
	25	6	4	3	5	18	45	7,4	-	24,4	-	158,4	-	44	-	6,7	-
	50	7	5	6	8	26	65	7,4	-	24,3	-	160,3	-	48	-	6,9	-
1	Controle	0	0	1	0	1	2,5	-	7,4	-	24,5	-	161,9	-	40	-	6,7
	0,78	1	0	0	0	1	2,5	-	7,4	-	24,7	-	157,4	-	40	-	6,7
	1,56	2	2	1	0	5	12,5	-	7,5	-	24,7	-	159,5	-	44	-	6,8
	3,12	1	2	3	3	9	22,5	-	7,5	-	24,4	-	160,5	-	48	-	6,5
	6,25	5	5	3	5	18	45	-	7,5	-	24,5	-	157,4	-	48	-	6,6
	12,5	5	5	6	7	23	57,5	-	7,5	-	24,3	-	157,3	-	44	-	6,9
	25	6	5	7	6	24	60	-	7,5	-	24,7	-	161,4	-	48	-	6,7
	50	9	9	10	10	38	95	-	7,6	-	24,8	-	160,5	-	48	-	6,6
2	Controle	0	0	0	0	0	0	7,7	-	24,6	-	160,2	-	48	-	6,9	-
	0,78	0	0	0	0	0	0	7,7	-	24,7	-	160,5	-	44	-	6,8	-
	1,56	1	0	0	1	2	5	7,7	-	24,7	-	160,3	-	40	-	7,3	-
	3,12	3	1	1	2	7	17,5	7,6	-	24,6	-	157,4	-	40	-	6,7	-
	6,25	0	1	2	2	5	12,5	7,4	-	24,7	-	156,9	-	40	-	6,9	-
	12,5	3	1	3	2	9	22,5	7,5	-	25,0	-	158,6	-	40	-	6,9	-
	25	5	6	6	5	22	55	7,0	-	24,9	-	157,7	-	42	-	7,2	-
	50	8	7	8	7	30	75	7,5	-	24,8	-	159,6	-	42	-	7,0	-
2	Controle	1	0	1	0	2	5	-	7,7	-	24,3	-	161,2	-	44	-	6,8
	0,78	0	0	1	0	1	2,5	-	7,7	-	24,4	-	160,3	-	44	-	6,9
	1,56	1	2	0	1	4	10	-	7,7	-	24,3	-	159,1	-	40	-	7,2
	3,12	2	1	2	4	9	22,5	-	7,5	-	24,5	-	161,9	-	40	-	6,7
	6,25	1	4	3	2	10	25	-	7,6	-	24,3	-	160,8	-	48	-	7,0
	12,5	3	3	3	3	12	30	-	7,7	-	24,5	-	157,1	-	48	-	7,0
	25	9	6	9	3	27	67,5	-	7,7	-	24,4	-	159,3	-	42	-	7,1
	50	9	9	8	8	34	85	-	7,6	-	24,2	-	159,6	-	44	-	6,9
3	Controle	0	0	0	0	0	0	7,7	-	24,6	-	160,2	-	48	-	6,9	-
	0,78	0	0	1	0	1	2,5	7,5	-	24,7	-	160,2	-	48	-	6,3	-
	1,56	2	0	0	0	2	5	7,7	-	24,7	-	160,3	-	40	-	6,4	-
	3,12	2	2	0	1	5	12,5	7,7	-	24,6	-	157,4	-	40	-	6,2	-
	6,25	5	3	2	3	13	32,5	7,6	-	24,8	-	156,9	-	40	-	6,1	-
	12,5	4	5	4	2	15	37,5	7,7	-	24,7	-	158,6	-	40	-	6,4	-
	25	5	6	8	5	24	60	7,5	-	24,8	-	157,7	-	42	-	6,5	-
	50	7	4	5	9	25	62,5	7,7	-	24,8	-	158,6	-	42	-	6,0	-

Teste n°	N° de organismos imóveis					Imobilidade		pH		Temperatura		Condutividade		Dureza		Oxigênio dissolvido	
	Conc. (mg. L ⁻¹)	R ₁	R ₂	R ₃	R ₄	Total	%	0h	48h	0h	48h	0h	48h	0h	48h	0h	48h
3	Controle	0	1	1	0	2	5	-	7,7	-	24,3	-	161,2	-	42	-	6,2
	0,78	0	2	0	0	2	5	-	7,6	-	24,3	-	160,8	-	40	-	6,2
	1,56	2	1	0	0	3	7,5	-	7,7	-	24,3	-	159,1	-	40	-	6,0
	3,12	2	2	2	1	7	17,5	-	7,5	-	24,5	-	158,9	-	44	-	6,1
	6,25	5	3	3	3	14	35	-	7,6	-	24,3	-	160,8	-	48	-	6,3
	12,5	4	5	5	3	17	42,5	-	7,7	-	24,5	-	159,1	-	48	-	6,2
	25	5	6	8	8	27	67,5	-	7,7	-	24,4	-	158,3	-	44	-	6,4
	50	9	10	5	10	34	85	-	7,6	-	24,2	-	161,6	-	40	-	6,2
4	Controle	0	0	0	0	0	0	7,2	-	24,1	-	159,4	-	44	-	7,1	-
	0,78	0	0	0	1	1	2,5	7,2	-	24,2	-	161,5	-	48	-	6,9	-
	1,56	1	1	0	1	3	7,5	7,2	-	24,4	-	158,4	-	48	-	6,7	-
	3,12	2	3	1	0	6	15	7,3	-	24,5	-	158,8	-	40	-	6,8	-
	6,25	4	5	2	1	12	30	7,4	-	24,1	-	160,4	-	40	-	7,0	-
	12,5	4	7	4	4	19	47,5	7,4	-	24,2	-	157,7	-	40	-	6,9	-
	25	6	5	5	7	23	57,5	7,4	-	24,2	-	162,3	-	44	-	6,9	-
	50	8	9	6	5	28	70	7,4	-	24,3	-	160,9	-	40	-	7,2	-
4	Controle	0	0	0	0	0	0	-	7,3	-	24,6	-	158,4	-	48	-	6,7
	0,78	0	0	0	1	1	2,5	-	7,3	-	24,7	-	159,9	-	48	-	6,9
	1,56	1	3	1	2	7	17,5	-	7,3	-	24,6	-	159,4	-	40	-	6,8
	3,12	3	3	3	1	10	25	-	7,4	-	24,5	-	161,8	-	44	-	6,8
	6,25	5	5	4	3	17	42,5	-	7,4	-	24,5	-	157,5	-	44	-	6,9
	12,5	5	7	5	4	21	52,5	-	7,5	-	24,6	-	161,4	-	40	-	7,0
	25	6	5	6	7	24	60	-	7,5	-	24,6	-	160,7	-	40	-	7,1
	50	10	9	6	6	31	77,5	-	7,6	-	24,7	-	157,2	-	44	-	6,8
5	Controle	0	0	0	0	0	0	7,6	-	24,7	-	159,4	-	40	-	6,7	-
	0,78	0	0	0	0	0	0	7,5	-	24,7	-	161,5	-	42	-	6,6	-
	1,56	1	1	0	0	2	5	7,5	-	24,6	-	157,5	-	48	-	6,8	-
	3,12	0	1	1	1	3	7,5	7,5	-	24,6	-	156,4	-	40	-	6,9	-
	6,25	0	1	2	1	4	10	7,5	-	24,5	-	159,3	-	44	-	7,0	-
	12,5	3	2	1	4	10	25	7,5	-	24,5	-	161,5	-	48	-	6,8	-
	25	3	4	5	3	15	37,5	7,5	-	24,2	-	157,7	-	40	-	6,8	-
	50	10	10	9	7	36	90	7,5	-	24,3	-	157,2	-	42	-	6,5	-
5	Controle	0	0	0	0	0	0	-	7,7	-	24,4	-	160,2	-	42	-	6,8
	0,78	1	0	0	0	1	2,5	-	7,7	-	24,7	-	159,0	-	40	-	6,6
	1,56	1	2	0	0	3	7,5	-	7,7	-	24,6	-	159,5	-	44	-	6,3
	3,12	1	1	1	2	5	12,5	-	7,7	-	24,5	-	162,1	-	46	-	6,6
	6,25	1	2	3	1	7	17,5	-	7,7	-	24,3	-	161,9	-	48	-	6,5
	12,5	5	3	3	5	16	40	-	7,6	-	24,4	-	157,6	-	48	-	6,9
	25	4	4	8	5	21	52,5	-	7,7	-	24,4	-	158,4	-	40	-	6,8
	50	10	10	10	9	39	97,5	-	7,6	-	24,6	-	160,1	-	40	-	6,7

Tabela 3: Dados dos testes de toxicidade aguda com o produto formulado Furadan® 350 SC e as variáveis abióticas analisadas, após 24 e 48 horas de exposição.

Teste nº	Nº de organismos imóveis				Imobilidade		pH		Temperatura		Condutividade		Dureza		Oxigênio dissolvido		
	Conc. (mg. L ⁻¹)	R ₁	R ₂	R ₃	R ₄	Total	%	0h	24h	0h	24h	0h	24h	0h	24h	0h	24h
1	Controle	0	0	0	0	0	0	7,1	-	24,3	-	161,4	-	44	-	6,9	-
	48,22	2	1	3	5	11	27,5	7,1	-	24,2	-	159,5	-	40	-	6,6	-
	57,86	2	2	1	4	9	22,5	7,2	-	24,5	-	158,7	-	40	-	7,0	-
	69,43	5	3	2	2	12	30	7,2	-	24,1	-	158,8	-	48	-	6,8	-
	83,52	4	4	5	6	19	47,5	7,1	-	24,2	-	157,2	-	48	-	6,7	-
	100	5	6	4	3	18	45	7,2	-	24,1	-	161,8	-	40	-	6,5	-
1	Controle	0	0	0	0	0	0	-	7,2	-	24,4	-	156,8	-	40	-	6,2
	48,22	3	1	3	5	12	30	-	7,2	-	24,2	-	158,5	-	44	-	6,5
	57,86	3	2	2	4	11	27,5	-	7,3	-	24,3	-	159,8	-	48	-	6,3
	69,43	5	5	4	4	18	45	-	7,3	-	24,3	-	160,6	-	48	-	6,6
	83,52	4	4	6	6	20	50	-	7,3	-	24,4	-	161,8	-	48	-	6,4
	100	6	6	6	5	23	57,5	-	7,3	-	24,3	-	159,5	-	40	-	6,6
2	Controle	0	0	0	0	0	0	7,5	-	24,8	-	158,7	-	48	-	6,9	-
	48,22	1	2	0	0	3	7,5	7,5	-	24,7	-	158,4	-	44	-	6,5	-
	57,86	2	0	1	3	6	15	7,6	-	24,6	-	159,7	-	40	-	6,8	-
	69,43	5	2	0	2	9	22,5	7,6	-	24,6	-	156,9	-	40	-	6,6	-
	83,52	3	0	1	3	7	17,5	7,6	-	24,7	-	161,8	-	40	-	7,1	-
	100	5	5	4	5	19	47,5	7,5	-	24,7	-	160,6	-	44	-	7,0	-
2	Controle	0	1	0	0	1	2,5	-	7,7	-	24,4	-	161,5	-	48	-	6,7
	48,22	2	3	1	2	8	20	-	7,7	-	24,7	-	161,8	-	44	-	6,9
	57,86	2	2	1	4	9	22,5	-	7,6	-	24,6	-	159,5	-	40	-	7,2
	69,43	5	2	3	4	14	35	-	7,5	-	24,3	-	157,7	-	40	-	6,8
	83,52	4	2	1	3	10	25	-	7,7	-	24,4	-	158,2	-	40	-	7,0
	100	8	5	3	8	24	60	-	7,6	-	24,5	-	161,8	-	40	-	6,7
3	Controle	0	0	0	0	0	0	7,0	-	24,4	-	158,7	-	48	-	6,9	-
	48,22	0	0	1	1	2	5	7,0	-	24,5	-	157,2	-	44	-	6,8	-
	57,86	0	1	3	5	9	22,5	7,1	-	24,6	-	159,3	-	40	-	7,0	-
	69,43	4	2	0	3	9	22,5	7,2	-	24,3	-	161,2	-	40	-	6,6	-
	83,52	5	3	6	4	18	45	7,1	-	24,1	-	159,4	-	40	-	6,6	-
	100	7	6	4	5	22	55	7,2	-	24,6	-	162,1	-	44	-	6,3	-
3	Controle	0	0	0	0	0	0	-	7,2	-	24,4	-	158,5	-	40	-	6,7
	48,22	2	1	2	3	8	20	-	7,3	-	24,5	-	159,2	-	44	-	7,2
	57,86	2	1	3	6	12	30	-	7,3	-	24,5	-	158,4	-	48	-	6,9
	69,43	5	2	1	5	13	32,5	-	7,3	-	24,4	-	159,3	-	40	-	6,2
	83,52	5	4	7	5	21	52,5	-	7,4	-	24,4	-	158,5	-	48	-	6,7
	100	9	6	4	7	26	65	-	7,4	-	24,5	-	161,5	-	48	-	6,8

Teste nº	Nº de organismos imóveis				Imobilidade		pH		Temperatura		Condutividade		Dureza		Oxigênio dissolvido		
	Conc. (mg. L ⁻¹)	R ₁	R ₂	R ₃	R ₄	Total	%	0h	24h	0h	24h	0h	24h	0h	24h		
4	Controle	0	0	0	0	0	0	7,6	-	24,5	-	157,5	-	40	-	7,0	-
	48,22	1	3	1	3	8	20	7,6	-	24,2	-	156,9	-	42	-	6,4	-
	57,86	1	4	3	1	9	22,5	7,6	-	24,2	-	157,3	-	48	-	6,8	-
	69,43	3	3	1	1	8	20	7,6	-	24,4	-	159,9	-	48	-	7,1	-
	83,52	1	5	1	5	12	30	7,6	-	24,6	-	160,7	-	46	-	6,9	-
	100	1	2	2	5	10	25	7,6	-	24,5	-	161,9	-	46	-	6,8	-
Teste nº	Nº de organismos imóveis				Imobilidade		pH		Temperatura		Condutividade		Dureza		Oxigênio dissolvido		
	Conc. (mg. L ⁻¹)	R ₁	R ₂	R ₃	R ₄	Total	%	0h	48h	0h	48h	0h	48h	0h	48h		
4	Controle	0	0	0	0	0	0	-	7,7	-	24,7	-	161,2	-	42	-	6,9
	48,22	1	3	2	3	9	22,5	-	7,6	-	24,6	-	160,8	-	44	-	6,7
	57,86	1	4	3	3	11	27,5	-	7,7	-	24,9	-	157,8	-	40	-	6,8
	69,43	3	4	1	2	10	25	-	7,5	-	24,8	-	162,2	-	40	-	7,0
	83,52	2	5	1	5	13	32,5	-	7,7	-	24,8	-	157,5	-	44	-	7,0
	100	7	6	4	5	22	55	-	7,7	-	25,0	-	159,7	-	48	-	7,1
Teste nº	Nº de organismos imóveis				Imobilidade		pH		Temperatura		Condutividade		Dureza		Oxigênio dissolvido		
	Conc. (mg. L ⁻¹)	R ₁	R ₂	R ₃	R ₄	Total	%	0h	24h	0h	24h	0h	24h	0h	24h		
5	Controle	0	0	0	0	0	0	7,6	-	24,5	-	157,5	-	40	-	7,0	
	48,22	2	1	2	1	6	15	7,6	-	24,2	-	158,6	-	42	-	6,6	
	57,86	2	0	1	0	3	7,5	7,6	-	24,2	-	157,3	-	48	-	6,8	
	69,43	1	2	2	4	9	22,5	7,6	-	24,4	-	156,9	-	48	-	6,8	
	83,52	0	3	2	3	8	20	7,6	-	24,6	-	160,7	-	46	-	6,8	
	100	1	1	6	2	10	25	7,6	-	24,5	-	158,9	-	46	-	6,9	
Teste nº	Nº de organismos imóveis				Imobilidade		pH		Temperatura		Condutividade		Dureza		Oxigênio dissolvido		
	Conc. (mg. L ⁻¹)	R ₁	R ₂	R ₃	R ₄	Total	%	0h	48h	0h	48h	0h	48h	0h	48h		
5	Controle	0	0	0	0	0	0	-	7,7	-	25,0	-	161,2	-	42	-	7,0
	48,22	2	1	3	2	8	20	-	7,6	-	25,0	-	159,8	-	44	-	6,8
	57,86	2	3	3	1	9	22,5	-	7,7	-	24,9	-	157,8	-	40	-	6,9
	69,43	5	4	2	4	15	37,5	-	7,7	-	24,7	-	158,2	-	40	-	7,2
	83,52	1	4	4	3	12	30	-	7,7	-	25,0	-	161,5	-	44	-	6,8
	100	5	7	6	6	24	60	-	7,5	-	25,0	-	159,7	-	48	-	6,8

Tabela 4: Dados das variáveis abióticas dos testes de toxicidade crônica com o produto formulado Furadan® 350 SC

Teste 1

Amostra	pH		Dureza		Condutividade		Temperatura		O2 Dissolvido	
	A	D	A	D	A	D	A	D	A	D
Controle	7,2	7,6	40	48	155,9	155,3	24,2	24,5	7,87	6,49
3,12	7,3	7,5	44	48	158,3	155,2	24,7	24,6	6,94	6,32
1,56	7,2	7,6	40	40	157,4	154,8	24,8	24,4	7,28	6,57
0,78	7,2	7,6	40	40	157,9	155,1	24,9	24,9	7,14	6,70
0,39	7,2	7,6	40	48	156,2	155,8	24,2	24,5	6,76	6,50
0,19	7,2	7,6	40	40	156,4	154,6	24,2	24,6	7,04	6,82
0,09	7,3	7,5	44	48	156,0	157,3	24,0	24,7	6,98	6,51
0,04	7,2	7,6	40	44	156,6	159,4	24,2	24,7	6,45	6,05

Amostra	pH		Dureza		Condutividade		Temperatura		O2 Dissolvido	
	A	D	A	D	A	D	A	D	A	D
Controle	7,2	7,6	48	48	159,4	156,3	24,6	24,6	6,97	6,43
3,12	7,3	7,5	40	44	151,7	152,3	24,3	24,5	7,01	6,74
1,56	7,3	7,6	48	48	154,8	155,3	24,5	24,6	6,73	6,55
0,78	7,3	7,6	40	40	156,9	155,4	24,8	24,7	6,75	6,61
0,39	7,2	7,6	40	40	154,8	158,2	24,6	24,3	6,70	6,62
0,19	7,3	7,6	40	48	155,1	158,3	24,6	24,2	6,79	6,74
0,09	7,5	7,6	40	48	155,8	159,0	24,3	24,6	6,98	6,78
0,04	7,2	7,6	48	48	156,4	159,3	24,6	24,6	7,07	6,93

Teste 2

Amostra	pH		Dureza		Condutividade		Temperatura		O2 Dissolvido	
	A	D	A	D	A	D	A	D	A	D
Controle	7,2	7,6	40	40	156,2	155,2	24,7	24,2	6,50	6,41
3,12	7,5	7,6	40	48	158,9	159,7	24,3	24,6	6,79	6,46
1,56	7,3	7,6	40	40	156,1	157,2	24,6	24,3	6,49	6,46
0,78	7,2	7,6	48	48	158,1	158,6	24,8	24,2	6,66	6,48
0,39	7,3	7,6	44	40	157,7	156,6	24,8	24,3	7,06	6,28
0,19	7,2	7,6	48	48	155,6	157,8	24,8	24,3	6,48	6,29
0,09	7,3	7,5	40	48	156,6	159,4	24,7	24,3	6,67	6,31
0,04	7,3	7,5	40	48	158,7	159,0	24,6	24,2	7,01	6,33

Amostra	pH		Dureza		Condutividade		Temperatura		O2 Dissolvido	
	A	D	A	D	A	D	A	D	A	D
Controle	7,5	7,5	40	48	157,6	155,0	24,5	24,7	6,72	6,40
3,12	7,3	7,5	40	40	155,2	158,7	24,7	24,3	6,78	6,34
1,56	7,5	7,5	40	40	157,4	154,9	24,9	24,2	6,94	6,56
0,78	7,5	7,5	40	44	159,2	156,0	24,8	24,1	6,81	6,75
0,39	7,5	7,5	40	40	158,8	156,9	24,8	24,3	6,57	6,14
0,19	7,5	7,5	48	40	157,0	156,6	24,8	24,2	6,95	6,60
0,09	7,6	7,3	40	48	156,6	157,5	24,7	24,2	6,69	6,56
0,04	7,6	7,6	40	48	156,9	155,3	24,6	24,3	6,95	6,46