

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA MARIA  
CENTRO DE CIÊNCIAS NATURAIS E EXATAS  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM AGROBIOLOGIA**

**OS HERBICIDAS IMAZAPIR E IMAZAPIQUE  
CAUSAM ALTERAÇÕES REVERSÍVEIS NA  
COMUNIDADE FITOPLANCTÔNICA EM LAVOURA  
DE ARROZ**

**DISSERTAÇÃO DE MESTRADO**

**LIANGE RECK**

**SANTA MARIA, RS, BRASIL  
2013**

# **OS HERBICIDAS IMAZAPIR E IMAZAPIQUE CAUSAM ALTERAÇÕES REVERSÍVEIS NA COMUNIDADE FITOPLANCTÔNICA EM LAVOURA DE ARROZ**

**LIANGE RECK**

Dissertação apresentada ao Curso de Mestrado do Programa de Pós-Graduação em Agrobiologia, Área de Concentração em Ficologia, da Universidade Federal de Santa Maria (UFSM-RS), como requisito parcial para obtenção do grau de **Mestra em Agrobiologia**

**Orientador: Prof. Dr. Sérgio Luiz de Oliveira Machado**

**Santa Maria, RS, Brasil  
2013**

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA MARIA  
CENTRO DE CIÊNCIAS NATURAIS E EXATAS  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM AGROBIOLOGIA**

**A Comissão Examinadora, abaixo assinada,  
aprova a Dissertação de Mestrado**

**OS HERBICIDAS CAUSAM ALTERAÇÕES REVERSÍVEIS NA  
COMUNIDADE FITOPLANCTÔNICA EM LAVOURA DE ARROZ**

**elaborada por  
Liang Reck**

**como requisito parcial para obtenção do grau de  
Mestra em Agrobiologia**

**Comissão Examinadora:**

**Sérgio Luiz de Oliveira Machado, Dr. (UFSM)  
(Presidente/Orientador)**

**Maria Angélica Oliveira, Dra. (UFSM)**

**Noeli Júlia Schüssler de Vasconcellos, Dra. (UNIFRA)**

**Santa Maria, RS, Brasil  
2013**

## **DEDICO**

Ao Bernardo, meu filho, amor da minha vida,  
cuja educação é minha principal obra,

Aos meus pais que amo tanto, Leonete e Gelso Reck,  
pela paciência, compreensão, amor e confiança,

A minha irmã, Nicolli Reck,

Aos meus verdadeiros amigos, vocês sabem o quanto  
especiais são para mim.

## AGRADECIMENTOS

A minha família, especialmente aos meus pais Gelso e Leonete, pela ajuda, atenção, dedicação e carinho. Aos meus tios Gelceu e Nadir por sempre acreditar em mim.

Ao Professor Dr. Sérgio Luiz de Oliveira Machado, pela orientação, confiança e incentivo transmitido durante este trabalho.

A professora Dr<sup>a</sup>. Maria Angélica, pela co-orientação, sugestões e ensinamentos de ficologia que contribuíram para realização e desenvolvimento deste trabalho.

Aos professores Dr. Renato Zanella, Dr. Valderi Dressler, pela disponibilidade e contribuições.

Ao professor Nelson D. Kruse, pelos ensinamentos e confiança.

Aos colegas de Pós-Graduação em Agrobiologia, em especial a Ana Paula e Fábio, pela amizade e companheirismo tornando o trabalho menos árduo e mais alegre.

Aos colegas de laboratório do Departamento de Defesa Fitossanitária/Setor de Herbologia da UFSM, em especial ao Geovane B. Reimche, pelo apoio de trabalho e amizade.

Aos estagiários do Departamento de Defesa Fitossanitária/Setor de Herbologia de UFSM, em especial ao Leonardo Kutz Urban, pelo apoio do trabalho de pesquisa.

Aos amigos (as) Lilian, Carla, Suelen, Andrisa, Deise, Kelen, Cristine, Mariana, Juliana, Ana Paula, Keli, Alan, Cezar, Fernando, Gustavo, Joanei, André pela amizade, compreensão e companheirismo. Enfim, pelos amigos que fiz e pelos ensinamentos que levarei por toda minha vida.

A Universidade Federal de Santa Maria e ao Programa de Pós-Graduação em Agrobiologia da UFSM, pela oportunidade de realizar este curso.

À CAPES, pela bolsa financiadora de mestrado.

A todos que contribuíram com minha formação pessoal e profissional e que de alguma maneira contribuíram para realização deste trabalho. OBRIGADA!!!

*“Ser livre para pensar, mas não escravo dos pensamentos.”*

**Augusto Cury**

## RESUMO

Dissertação de Mestrado  
Programa de Pós-Graduação em Agrobiologia  
Universidade Federal de Santa Maria

### **OS HERBICIDAS CAUSAM ALTERAÇÕES REVERSÍVEIS NA COMUNIDADE FITOPLANCTÔNICA EM LAVOURA DE ARROZ**

AUTORA: LIANGE RECK

ORIENTADOR: SÉRGIO LUIZ DE OLIVEIRA MACHADO

Data e Local de Defesa: Santa Maria, RS, 13 de março de 2013

A produção de arroz no Brasil utiliza diversos agroquímicos que, dependendo de sua persistência e toxicidade para espécies não-alvo podem contaminar ambientes aquáticos. Lavouras de arroz são parte importante das paisagens do Rio Grande do Sul; são locais de potencial para ajudar a sustentar a biodiversidade regional de muitos invertebrados e vertebrados. O fitoplâncton como produtor primário é a base da cadeia alimentar e desempenha papel de filtro biológico, atuando como estações de tratamento da água nesses ambientes. Objetiva-se com esse trabalho verificar se a mistura herbicida imazapir+imazapique (Kifix<sup>®</sup>) e os compostos isolados, imazapir e imazapique, alteram a composição e densidade da comunidade fitoplanctônica em lavoura de arroz irrigado, considerando a adição direta dos contaminantes nas parcelas. O experimento foi realizado no município de São Sepé, Depressão Central do Rio Grande do Sul na safra agrícola de 2011/12. O delineamento experimental foi de blocos ao acaso em esquema fatorial (5 x 3) e quatro repetições. Os resultados obtidos pela Curva de Resposta Principal (PRC) demonstraram que os herbicidas imazapir e imazapique usados em lavouras de arroz podem ter efeito sobre a abundância e composição do fitoplâncton. Os maiores efeitos dos herbicidas foram encontrados sobre as populações pertencentes às classes Cyanophyceae, Chlamydomphyceae e Chlorophyceae. Além do mais, os tratamentos com herbicidas assemelharam-se ao controle na última coleta constatando que os herbicidas são mais tóxicos nos primeiros dias após a aplicação dos agroquímicos.

**Palavras-chave:** *Oryza sativa*. Imidazolinonas. Qualidade da água. Bioindicadores. Algas.

## ABSTRACT

M. S. Dissertation  
Programa de Pós-Graduação em Agrobiologia  
Universidade Federal de Santa Maria

### HERBICIDES CAUSE REVERSIBLE ALTERATIONS TO PHYTOPLANKTON COMMUNITIES IN PADDY RICE FIELDS

AUTHOR: LIANGE RECK  
ADVISER: SÉRGIO LUIZ DE OLIVEIRA MACHADO  
Santa Maria, RS, March 13, 2013

Several agrochemicals are used for rice production in Brazil; depending on their persistence and toxicity, these substances may cause damage to non-target species and also contaminate water systems. Paddy rice fields are important elements of the landscape in Rio Grande do Sul, potentially helping to sustain regional biodiversity of several invertebrate and vertebrate animal species. Phytoplankton communities are primary producers and the base of most food chains, also working as biological filters in the depuration of water systems. The experiments reported here aimed to verify if the herbicide mix imazapyr+imazapic (Kifix<sup>®</sup>) and also the isolate components imazapyr and imazapic affect the composition and structure of the phytoplankton community in paddy rice fields, when directly added to the water. The experiment was carried out in the municipality of São Sepé, in the central region of Rio Grande do Sul, Brazil, in the crop year 2011/2012. A randomized block design was used in the experiment (5 x 3) with four repetitions. Principal Response Curve analyses of the data obtained demonstrated that both imazapyr and imazapic may have effects over the composition and abundance of phytoplankton in paddy rice fields. The greatest effects were found on three different taxonomical classes of organisms: Cyanophyceae (cyanobacteria), Chlamydomphyceae (unicellular flagellates) and Chlorophyceae (green algae). Moreover, the experimental treatments with herbicide additions resembled the control in the last sampling date, indicating that the substances have a greater toxic effect in the first few days after addition.

**Keywords:** *Oryza sativa*. Imidazolinones. Water quality, Bioindicators. Algae.



## LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Mínima e máxima (Min/Máx), média e desvio padrão ( $\sigma$ ) das variáveis físicas e químicas, nutrientes (nitrato e fosfato) e DBO na água nos diferentes tratamentos com aplicação de herbicidas em cinco coletas realizadas na safra agrícola 2011/12. São Sepé, RS, 2013. ....	27
Tabela 2 - Detecção (0,005 $\mu\text{g L}^{-1}$ ) e quantificação (0,1 $\mu\text{g L}^{-1}$ ) dos herbicidas imazapir e imazapique na água em cinco coletas realizadas na safra agrícola 2011/12. São Sepé, RS, 2013. ....	39

## LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Valores de turbidez (NTU) em cinco coletas na água em diferentes tratamentos com aplicação de herbicidas. Coleta 1 (dezembro - 1° DAAH), Coleta 2 (janeiro - 13° DAAH), Coleta 3 (fevereiro - 50° DAAH), Coleta 4 (março - 84° DAAH) e Coleta 5 (abril - 113° DAAH) em lavoura de arroz irrigado na safra 2011/2012, São Sepé, RS, 2013. ....28

Figura 2 - Valores de pH em cinco coletas na água em diferentes tratamentos com aplicação de herbicidas. Coleta 1 (dezembro - 1° DAAH), Coleta 2 (janeiro - 13° DAAH), Coleta 3 (fevereiro - 50° DAAH), Coleta 4 (março - 84° DAAH) e Coleta 5 (abril - 113° DAAH) em lavoura de arroz irrigado na safra 2011/2012, São Sepé, RS, 2013. ....29

Figura 3 - Valores de dureza ( $\text{mg L}^{-1}$ ) em cinco coletas na água em diferentes tratamentos com aplicação de herbicidas. Coleta 1 (dezembro - 1° DAAH), Coleta 2 (janeiro - 13° DAAH), Coleta 3 (fevereiro - 50° DAAH), Coleta 4 (março - 84° DAAH) e Coleta 5 (abril - 113° DAAH) em lavoura de arroz irrigado na safra 2011/2012, São Sepé, RS, 2013. ....30

Figura 4 - Valores de alcalinidade ( $\text{mg L}^{-1}$ ) em cinco coletas na água em diferentes tratamentos com aplicação de herbicidas. Coleta 1 (dezembro - 1° DAAH), Coleta 2 (janeiro - 13° DAAH), Coleta 3 (fevereiro - 50° DAAH), Coleta 4 (março - 84° DAAH) e Coleta 5 (abril - 113° DAAH) em lavoura de arroz irrigado na safra 2011/2012, São Sepé, RS, 2013. ....31

Figura 5 - Valores de condutividade elétrica ( $\mu\text{S. cm}^{-1}$ ) em cinco coletas na água em diferentes tratamentos com aplicação de herbicidas. Coleta 1 (dezembro - 1° DAAH), Coleta 2 (janeiro - 13° DAAH), Coleta 3 (fevereiro - 50° DAAH), Coleta 4 (março - 84° DAAH) e Coleta 5 (abril - 113° DAAH) em lavoura de arroz irrigado na safra 2011/2012, São Sepé, RS, 2013 .....32

Figura 6 - Valores de nitrato ( $\mu\text{g L}^{-1}$ ) em cinco coletas na água em diferentes tratamentos com aplicação de herbicidas. Coleta 1 (dezembro - 1° DAAH), Coleta 2 (janeiro - 13° DAAH), Coleta 3 (fevereiro - 50° DAAH), Coleta 4 (março - 84° DAAH) e Coleta 5 (abril - 113° DAAH) em lavoura de arroz irrigado na safra 2011/2012, São Sepé, RS, 2013. ....33

Figura 7 - Valores de fosfato ( $\mu\text{g L}^{-1}$ ) em cinco coletas na água em diferentes tratamentos com aplicação de herbicidas. Coleta 1 (dezembro - 1° DAAH), Coleta 2 (janeiro - 13° DAAH), Coleta 3 (fevereiro - 50° DAAH), Coleta 4 (março - 84° DAAH) e Coleta 5 (abril - 113° DAAH) em lavoura de arroz irrigado na safra 2011/2012, São Sepé, RS, 2013. ....34

Figura 8 - Valores de DBO ( $\text{mg L}^{-1}$ ) em cinco coletas na água em diferentes tratamentos com aplicação de herbicidas. Coleta 1 (dezembro - 1° DAAH), Coleta 2 (janeiro - 13° DAAH), Coleta 3 (fevereiro - 50° DAAH), Coleta 4 (março - 84° DAAH) e Coleta 5 (abril - 113° DAAH) em lavoura de arroz irrigado na safra 2011/2012, São Sepé, RS, 2013. ....35

Figura 9 - Análise de componentes principais (PCA) aplicada as variáveis ambientais em lavoura de arroz irrigado na safra agrícola 2011/12, São Sepé, RS. ....37

Figura 10 - Curva de Resposta principal (PRC) da comunidade fitoplanctônica indicando o efeito dos herbicidas na água de arroz irrigado na safra 2011/12, São Sepé, RS. ....41

Figura 11 - Gráficos representando a dinâmica das espécies com maiores valores negativos (A-D) da PRC de *Aphanocapsa* sp. (A), *Eudorina* sp. (B), *Pandorina* sp. (C) e *Sphaerocystis* sp. (D) em parcelas com aplicação de herbicidas na safra agrícola 2011/12. São Sepé, RS, 2013. ....43

Figura 12 - Gráficos representando a dinâmica das espécies com maiores valores positivos (A-D) da PRC de *Trachelomonas* sp. (A), *Scenedesmus* sp. (B), *Spirogyra* sp. (C) e *Anabaena* sp. (D) em parcelas com aplicação de herbicidas na safra agrícola 2011/12. São Sepé, RS, 2013. ....46

## LISTA DE APÊNDICES

Apêndice 1 - Variáveis da Análise de Correspondência Canônica (PCA) dos pontos de amostragem: 1°, 13°, 50° 84° e 113° DAAH. ....63

Apêndice 2 - Valores da variância dos eixos principal e horizontal e teste de permutação de Monte Carlo da Curva de Resposta Principal (PRC). ....63

Apêndice 3 - Teste de comparação de médias de Tukey dos tratamentos Imazapir+imazapique (Kifix®) (KI), Imazapir (IM), Imazapique (IZ) e controle (CO) para os gêneros *Trachelomonas* (A) e *Scenedesmus* (B). ....64

Apêndice 4 - Teste de comparação de médias de Tukey dos tratamentos Imazapir+imazapique (Kifix®) (KI), Imazapir (IM), Imazapique (IZ) e controle (CO) para os gêneros *Spirogyra* (A) e *Anabaena* (B). ....65

## SUMÁRIO

INTRODUÇÃO .....	14
1 Revisão de literatura .....	15
2 Material e métodos.....	20
2.1 Caracterização da área de estudo .....	20
2.2 Delineamento experimental e caracterização dos tratamentos .....	21
2.3 Instalação e condução do experimento .....	21
2.4 Coletas de água e fitoplâncton .....	23
2.5 Herbicidas .....	24
2.6 Análise de dados.....	24
3 Resultados e discussão.....	25
3.1 Variáveis físicas e químicas, nutrientes e DBO .....	26
3.2 Herbicidas .....	37
3.3 Estrutura e dinâmica da comunidade fitoplanctônica. ....	39
3.3.1 Análise quantitativa .....	39
3.3.2 Curva de resposta principal.....	40
Conclusões.....	50
Referência bibliográficas .....	50
Sugestões para pesquisas futuras .....	61
Apêndice .....	62

## INTRODUÇÃO

O arroz (*Oryza sativa*) é um cereal básico caracterizado como principal alimento em muitos países, principalmente, no continente asiático. O Brasil se destaca como principal produtor de arroz no ocidente contribuindo com aproximadamente 68% da produção de arroz, sendo o Rio Grande do Sul o maior produtor com produção total de aproximadamente um milhão de hectares.

O arroz-vermelho (*Oryza sativa*) é a principal planta daninha da cultura, e quando não controlado, reduz a produtividade e a qualidade de grãos. Após várias décadas de buscas de alternativas para controle seletivo do arroz-vermelho, desenvolveram-se genótipos de arroz tolerantes a herbicidas do grupo químico das imidazolinonas. Estes produtos bem como outros biocidas, possuem características bastante preocupantes, devido à sua persistência no solo, na água e nos alimentos (COUTINHO e BARBOSA, 2007). A mistura herbicida imazapir+imazapique possui longa persistência no solo, pois apresenta meia-vida de 60 a 90 dias e 120 dias, respectivamente (RODRIGUES e ALMEIDA, 2005).

Os herbicidas são despejados no ambiente e a utilização deles como ferramenta de manejo em lavouras de arroz tem aumentado significativamente e, por não serem seletivos as plantas daninhas, afetam espécies não-alvo podendo ocasionar alterações nos diferentes níveis da organização biológica. Em ambientes aquáticos, dependendo da toxicidade e residual do agroquímico utilizado pode acarretar efeitos adversos na comunidade biológica, perda de diversidade e biomagnificação (DORES et. al., 2001).

A utilização de algas em avaliação ecotoxicológica em ambientes aquáticos são as mais recomendadas, pois elas ocupam posições iniciais na cadeia alimentar (produtores primários), dessa forma, quaisquer alterações na dinâmica de suas populações originam transformação dos demais níveis tróficos superiores (KLAINÉ e LEWIS, 1995). Corroborando, Reimche (2010), ressalta que a utilização do fitoplâncton como indicador do estresse ambiental é recomendável, principalmente, devido ao curto ciclo de vida desses organismos.

Dos diversos herbicidas utilizados no RS a mistura herbicida imazapir+imazapique (Kifix<sup>®</sup>) é significativa nas lavouras de arroz. Perante o pouco conhecimento destes compostos há necessidade de um maior entendimento dos

efeitos ambientais destes produtos a campo (*in situ*) para fornecer informações mais realistas do que testes gerados em laboratório, ou seja, a união entre a reprodução experimental e o realismo ecológico. Diante dos fatos, a hipótese do trabalho é que a mistura herbicida imazapir+imazapique (Kifix<sup>®</sup>) e os compostos isolados alteram a composição e densidade da comunidade fitoplanctônica em ambientes *in situ* em lavoura de arroz irrigado, considerando a adição direta dos contaminantes nas parcelas. Para atender as necessidades desta hipótese, objetivou-se com este estudo:

- Avaliar as características físicas e químicas da água e quantificar os compostos imazapir e imazapique usando Cromatografia Líquida de Alta Performance com Detecção por Arranjo de Diodos (HPLC-DAD).
- Analisar se as variáveis físicas e químicas atendem às condições e padrões de qualidade da água estabelecidos pela Resolução CONAMA.
- Verificar a toxicidade *in situ* com mesocosmos dos compostos imazapir e imazapique nos períodos de amostragem na comunidade fitoplanctônica.
- Averiguar as possíveis alterações na densidade e estrutura da comunidade fitoplanctônica.
- Estimar a biomassa do fitoplâncton através do biovolume (densidade de cada táxon pelo seu respectivo volume).

## 1 Revisão de literatura

A orizicultura é uma das atividades econômicas mais importantes do setor primário do RS, com área cultivada anualmente em torno de um milhão de hectares. O crescimento populacional e o aumento da demanda energética estimularam os processos de produção agrícola a buscar novas tecnologias objetivando incrementar a produtividade e a qualidade dos grãos. A introdução de agroquímicos e da biotecnologia foram as principais mudanças tecnológicas que contribuíram para a alteração do processo agrícola. Compagna (2005) ressalta que a produção agrícola contribui de forma significativa para contaminação das águas superficiais e

subterrâneas, estando o Brasil como um dos maiores consumidores mundiais de agroquímicos, notadamente o uso de herbicidas (SINDAG, 2009).

A grande maioria dos herbicidas utilizados em lavouras de arroz são moléculas orgânicas pelo meio de rotas sintéticas, logo, não são encontrados na natureza denominados xenobióticos.

Os herbicidas pertencentes ao grupo químico das imidazolinonas são amplamente empregados em lavouras de arroz irrigado cultivados sob o Sistema Clearfield<sup>®</sup>. O Sistema Clearfield<sup>®</sup> é uma das principais alternativas no controle do arroz vermelho (STEELE et al., 2002), planta daninha responsável por ocasionar prejuízos no potencial produtivo do arroz irrigado (AGOSTINETTO et al., 2001), podendo reduzir a produtividade significativamente para a cultura. Em lavouras sob este sistema, preconiza-se uma única aplicação da mistura formulada de imazapir+imazapique (Kifix<sup>®</sup>) (525 + 175 g e.a. L<sup>-1</sup>) em pós-emergência, com o arroz no estágio de três a cinco folhas (OTTIS et al., 2003).

As imidazolinonas, em conjunto com as sulfoniluréias, triazolopirimidina e pirimidilo-oxi-benzoato inibem a enzima acetolactato sintase (ALS), acarretando a inibição da síntese proteica, que, por sua vez, interfere na síntese do DNA e crescimento celular. A inibição do crescimento da planta é devida à escassez de cadeia ramificada e aminoácidos ou por acumulação de substâncias tóxicas intermediárias na síntese da cadeia ramificada.

Os herbicidas atingem os ambientes aquáticos através da aplicação intencional, deriva, escoamento superficial, acidentes em depósitos ou durante o transporte dos produtos químicos (SILVA e SANTOS, 2007). Quanto à dissipação dos herbicidas no ambiente está relacionada com as propriedades físico-químicas dos compostos, propriedades do solo, com as condições climáticas e o manejo (NIEKAMP e JOHNSON, 2001). Entre os processos de dissipação, estão diretamente ligadas a sorção (adsorção e absorção), transformação (degradação química e/ou biológica), transporte (deriva, volatilização, lixiviação e escoamento superficial) e interação entre esses processos.

A persistência no solo do grupo químico das imidazolinonas depende do grau de sorção ao solo, temperatura e umidade (MANGELNS, 1991). Conforme Loux et. al. (1989), o aumento do teor de matéria orgânica e redução do pH acarretam o acréscimo do grau de sorção. Entretanto, quando as condições ambientais forem desfavoráveis para a degradação, as moléculas de agroquímicos podem



permanecer no solo, dando origem ao denominado efeito residual. O efeito residual dos herbicidas é a capacidade que os ingredientes ativos têm para reter a integridade de sua molécula, conseqüentemente, suas características físicas, químicas e funcionais (OLIVEIRA, 2001). Portanto, os herbicidas residuais são aqueles que apresentam um maior período de atividade no ambiente.

Os ingredientes ativos que não atingem seu alvo podem ser transportados para rios, lagoas e lagos e atingir organismos não-alvo. Entre os organismos que vivem em ambientes aquáticos, estão as comunidades fitoplanctônicas, nas quais estão os principais organismos alvejados pelas contaminações de herbicidas, pelo fato de sua ecofisiologia ser semelhante à das plantas terrestres (sensibilidade nos mesmos processos metabólicos) e pelo desempenho como produtores primários. Uma mudança em termos de qualidade e quantidade de produtores primários poderá conduzir uma perturbação ecossistêmica, entretanto, pouco se sabe sobre a toxicidade de herbicidas em algas de água doce.

Por ter características de zonas úmidas, semelhante a áreas naturais, a orizicultura fornece um mosaico de habitats temporários (LAWLER, 2001). Estes sistemas têm uma limnologia complexa, caracterizada por alterações químicas, físicas e biológicas aceleradas (BAMBARADENIYA, 2000). Entretanto, essa heterogeneidade em escala temporal é um fator que contribui para uma rica biodiversidade (BAMBARADENIYA et al., 2004) e estes organismos necessitam ser muito bem adaptados a essas condições que mudam bruscamente, por exemplo, na perda de água após a drenagem. A sobrevivência das microalgas depende, principalmente, da tolerância fisiológica e capacidade nutricional, além de adaptação em condições adversas como presença de residuais de agroquímicos e manejos durante as safras agrícolas.

Os desequilíbrios em lavoura de arroz causados pela ação antrópica, podem ser mensurados através de análises físicas (turbidez e temperatura) e químicas (pH, condutividade elétrica, alcalinidade, dureza), entretanto, estes diagnósticos não detectam os efeitos toxicológicos de poluentes. Análises físicas e químicas abrangem sumariamente grupos de diferentes substâncias com características químicas semelhantes, todavia, não distinguem as substâncias individuais o que caracteriza o resultado na análise (KNIE e LOPES, 2004). Para um grau de confiabilidade maior mensuram-se análises físicas e químicas juntamente com as análises biológicas.

Os parâmetros ambientais da água representam riscos quando alterados (DESCHAMPS et. al., 2003) e em lavouras de arroz eles oscilam pela introdução de fertilizantes e agroquímicos. As algas são diretamente afetadas pelos nutrientes nitrogênio e fósforo e, no excesso desses nutrientes, pode ocorrer um rápido crescimento e, conseqüentemente florações destes organismos (WEBER, 2001).

A condutividade elétrica é a capacidade de uma solução conduzir corrente elétrica, sendo em função da concentração total de íons presentes na água, o que acarreta mudanças em ambientes orizícolas pela entrada e saída constante de minerais. Ambientes aquáticos poluídos possuem condutividade mais alta em função do aumento do conteúdo mineral (WETZEL e LIKENS, 1991). Cada parâmetro ambiental tem sua relevância para a qualidade da água e é importante avaliar possíveis conexões entre eles. Devido a essa questão diferencial entre os parâmetros físicos e químicos que podem alterar os ambientes aquáticos pela adição de xenobióticos ou outros insumos utilizados em lavoura de arroz, há uma necessidade de conhecimento das reações desses parâmetros ambientais na busca de um entendimento da dinâmica do ambiente em estudo, logo, a correlação entre esses processos juntamente aos processos biológicos.

As análises biológicas podem ser testadas com diferentes organismos como microalgas, macrófitas, macroinvertebrados e peixes (CORTES et al., 2002). Entretanto, as algas por serem produtores primários exercem um papel fundamental ao longo da cadeia trófica, além de refletir o meio em que vivem para efeitos diretos, em um período curto de tempo, bem como para os efeitos indiretos, acarretando em mudanças na estrutura e funcionamento da comunidade fitoplanctônica, evidenciando a relação da comunidade e o ambiente em que se encontram, sendo significativa para percepção de ambientes poluídos/contaminados.

A sensibilidade das algas é importante para avaliar riscos ecotoxicológicos de contaminantes, logo, indicam o grau tóxico dos compostos a serem avaliados. Em ambientes aquáticos a inibição bem como a estimulação do crescimento do fitoplâncton, são igualmente indesejáveis, pois qualquer alteração na produtividade ou na composição das algas, em relação a ambientes não antropizados, pode ameaçar o equilíbrio do ecossistema algal, conseqüentemente na qualidade da água. Assim, as comunidades fitoplanctônicas não apenas alteram a qualidade da água em eventos de floração, mas também funcionam como um excelente mecanismo de detecção de alterações sistêmicas.

O fitoplâncton é viável como comunidade teste devido a seu ciclo de vida curto, facilitando os estudos de exposição com várias gerações, além das altas taxas de crescimento. Sendo assim, pode haver como resultados o repovoamento de populações, a dominação por uma espécie ou as florações, condições estas, que indicam a qualidade da água. Além do mais, ponderar os efeitos antrópicos nos agroecossistemas aquáticos é notavelmente essencial para entendimento dos ambientes de água doce. Estudos ecotoxicológicos vêm utilizando algas como organismos teste na avaliação de diferentes produtos químicos, tais como, metais pesados (MASSUTI, 2004; SANTOS et. al., 2007), efluentes (DELLAMATRICE e MONTEIRO 2006) e agroquímicos (VAN DEN BRINCK et. al., 2009).

Os testes *in vitro* são distantes dos resultados em condições reais, conseqüentemente, de baixa representatividade ecológica. Por outro lado, experimentos *in situ* são mais representativos, tais como os testes com mesocosmos em habitats aquáticos naturais (GRADVOHL, 2006). As microalgas de água doce são frequentemente utilizadas como organismo teste em investigações laboratoriais e *in situ* em pesquisas ecotoxicológicas (USEPA, 1997), uma vez que, problemas ambientais são complexos, especialmente decorrentes de avaliação da toxicidade de substâncias. Ensaios ecotoxicológicos *in situ* são utilizados como ferramenta de estudos de avaliação, controle e monitoramento de qualidade de água (ABESSA et al, 2005). Este tipo de ensaios é capaz de avaliar efeitos tóxicos de substâncias químicas na forma isolada ou de misturas complexas. A vantagem desses estudos é que mesmo os compostos permanecendo abaixo dos limites de detecção através de métodos químicos analíticos os organismos teste, o fitoplâncton, acarretam resultados de toxicidade de contaminantes como os herbicidas. Logo, testes ecotoxicológicos *in situ* em mesocosmos permitem a avaliação do grau de periculosidade de um agroquímico, sendo possível distinguir ambientes de baixo e alto residual perante a utilização de herbicidas em lavouras de arroz.

A maior vantagem da utilização dos mesocosmos são as réplicas e as diferentes dosagens de substâncias químicas concomitantes, tendo um controle como respaldo. A confiabilidade estatística é significativa, além do acréscimo do realismo experimental, já que a maioria é conduzida a campo em condições naturais, permitindo fenômenos naturais como migração, estratificação e trocas de nutrientes entre as colunas d'água, ou seja, são ambientes semi controlados com

realismo ecológico. Entretanto, poucos estudos são realizados utilizando estes testes, apesar do reconhecimento da eficiência.

Rodrigues (2011) em estudos com experimentos *in vitro* e *in situ* com peixes *Danio rerio* e *Poecilia reticulata* constatou toxicidade crônica e letal para o metal cádmio. Também, Landstein et al. (1995), em estudos de toxicidade laboratorial com algas em relação ao herbicida do grupo químico das imidazolinonas, a sulfonilureia, verificou que o contaminante é tóxico na gama micromolar para estes organismos. Corroborando, Vieira (2010), evidenciou em estudos com mesocosmos em *Pseudokirchneriella subcapitata* dos efeitos diretos do inseticida Vertimec® tendo um crescimento maior no tratamento que no controle, o que foi contrário verificado em laboratório. Essa diferença entre testes a campo e laboratorial também foi verificado no trabalho de Dornfeld (2006), que presenciou ausência de efeito deformidade, peso e comprimento na espécie bentônica *Chironomus xanthus* em laboratório, e efeito subletal em testes *in situ*.

Tal disparidade entre experimentos laboratoriais e *in situ* acarretam na averiguação desses testes, e quando possível, o uso concomitante dos experimentos são o ideal, para o confronto entre os resultados. O presente trabalho almeja a aproximação ecológica para o experimento conduzido, devido à semelhança com ambientes naturais, a fim de estimar a qualidade da água de lavoura de arroz irrigado, cenário predominante no RS.

Diante do efeito residual dos herbicidas usados em lavoura de arroz irrigado e, conseqüentemente a contaminação de ambientes aquáticos e organismo não-alvo pelos mesmos, se faz necessário um estudo detalhado da toxicidade dos herbicidas imazapir+imazapique (Kifix®) e os compostos isolados na comunidade fitoplanctônica com aproximação ecológica utilizando mesocosmos para um melhor entendimento desta dinâmica.

## **2 Material e métodos**

### **2.1 Caracterização da área de estudo**

O município de São Sepé está localizado na região fisiográfica da Depressão Central do RS, sendo o clima classificado por Köppen como Cfa, com temperatura média anual de 18,7°C e precipitação média de 1648 mm/ano (MACHADO, 1950). A economia do município é baseada nas atividades agropastoris destacando-se na produtividade das culturas de arroz e soja.

O experimento foi conduzido na unidade de mapeamento Terceiro, em uma propriedade particular do interior do município, cujas coordenadas geográficas são 30°10'06" de latitude sul e 53°22'01" de longitude oeste e 50 m de altitude. O solo da área experimental é classificado como Planossolo Hidromórfico Eutrófico Arênico. Os resultados das análises química e granulométrica do solo utilizado foram: pH água (1:1) = 5,0, P = 4,4 mg kg<sup>-1</sup>, K = 57 mg kg<sup>-1</sup>, Ca = 2 cmol kg<sup>-1</sup>, Mg = 0,6 cmol kg<sup>-1</sup>, Al = 0,3 cmol kg<sup>-1</sup> e matéria orgânica = 27 g kg<sup>-1</sup>. A análise textural mostrou 205 g kg<sup>-1</sup> de argila, 308 g kg<sup>-1</sup> de silte e 487 g kg<sup>-1</sup> de areia.

## **2.2 Delineamento experimental e caracterização dos tratamentos**

O delineamento experimental foi de blocos ao acaso em esquema fatorial (5 x 3) e quatro repetições, totalizando 16 parcelas amostrais. O fator A foi composto pelas épocas de coleta da água e do fitoplâncton (E<sub>0</sub> - um dia após a aplicação dos herbicidas, E<sub>1</sub> - pleno perfilhamento (arroz), E<sub>2</sub> - na diferenciação da panícula (arroz), E<sub>3</sub> - extrusão da panícula (arroz) e E<sub>4</sub> - pré-colheita do arroz; antes da drenagem da água) e o fator B foi a aplicação dos herbicidas compostos pelas misturas formuladas: T<sub>0</sub> - imazapir+imazapique (Kifix<sup>®</sup>) (75 + 25 g e.a. L<sup>-1</sup>) (concentração indicada a campo em lavouras de arroz irrigado), T<sub>1</sub> - imazapir, T<sub>2</sub> - imazapique (ambos nas mesmas concentrações) e T<sub>3</sub> - tratamento controle (sem herbicida).

## **2.3 Instalação e condução do experimento**

O experimento foi inteiramente casualizado conduzido em parcelas amostrais (5 X 3 m = 15 m<sup>2</sup>) isoladas por taipas rondas, possuindo canais em uma das laterais afim de evitar contaminação entre parcelas. O controle de plantas daninhas ao longo do experimento foi por meio de capina.

A cultivar reagente utilizada foi Puitá Inta<sup>CL</sup> (ciclo 120 dias). A semeadura foi realizada na segunda quinzena de novembro de 2011, sendo cada parcela constituída por doze linhas espaçadas em 0,17 m com semeadura no sistema plantio direto. A adubação foi de acordo com a análise de solo (REUNIÃO TÉCNICA DA CULTURA DO ARROZ IRRIGADO, 2010a) e a recomendação com fertilizante formulado na quantidade de 10 kg N ha<sup>-1</sup>, 40 kg P<sub>2</sub>O<sub>5</sub> ha<sup>-1</sup> e 40 kg K<sub>2</sub>O ha<sup>-1</sup>. O nitrogênio em cobertura foi aplicado manualmente, utilizando-se uréia, na quantidade de 50 kg ha<sup>-1</sup>, sendo aplicado na iniciação do primórdio da panícula (IDP). Os demais tratos culturais foram conduzidos conforme a recomendação técnica para a cultura (REUNIÃO TÉCNICA DA CULTURA DO ARROZ IRRIGADO, 2010b).

As aplicações dos herbicidas foram realizadas com pulverizador costal propelido a CO<sub>2</sub> (pressão de 40 lbs pol<sup>-2</sup>), utilizando-se uma barra com quatro pontas de pulverização em leque XR Teejet 110.01 espaçadas 0,50 m, com volume de calda ajustado para 110 L ha<sup>-1</sup>. As demais técnicas culturais foram realizadas de forma a minimizar a interferência de fatores externos ao experimento.

A irrigação foi iniciada na data da aplicação dos herbicidas (20/12/2011), sendo que a lâmina de água nas parcelas foi monitorada diariamente mantendo-se a altura de 0,10m, de acordo com o desenvolvimento da cultura. Após, a lâmina de água foi aumentada e estabilizada alcançando cerca de 0,15m de altura, permanecendo constante durante o ciclo restante da cultura, em exceção, a partir de março, devido a estiagem, a lâmina foi mantida no máximo em 0,10m, entretanto, nunca houve falta de água nas parcelas.

A condução da água é provinda de açude (22 hectares) da propriedade e alcança a área experimental por gravidade. A água foi retirada do canal de superfície através de mangueiras, abastecendo cada parcela individualmente, com a finalidade de evitar contaminação entre parcelas.

## 2.4 Coletas de água e fitoplâncton

As coletas ocorreram mensalmente sempre no período da manhã entre os meses de dezembro e abril. As datas foram: 21 de dezembro 2011, 02 de janeiro, 08 de fevereiro, 13 de março e 11 de abril 2012, às quais correspondem 1°, 13°, 50°, 84°, 113° dias após o início da data de irrigação.

Para as amostras de água foram coletados 2L de água diretamente nas parcelas, sendo acondicionadas em caixas térmicas. As amostragens foram realizadas nas quatro parcelas com mesmo tratamento perfazendo uma única amostra final, portanto, finalizando com a média de cada tratamento. As amostras foram encaminhadas ao laboratório de Herbologia da UFSM, onde, após homogeneização, uma alíquota era imediatamente acondicionada em frascos para determinação imediata de turbidez, pH, dureza, alcalinidade, condutividade elétrica, nitrato, fosfato e demanda bioquímica de oxigênio (DBO). Para as determinações físicas e químicas, as amostras de água foram encaminhadas ao Laboratório de Análises Químicas Industriais e Ambientais (LAQIA).

As coletas de fitoplâncton foram realizadas nas mesmas datas de amostragem de água e diretamente em cada parcela. Para o fitoplâncton, as amostragens foram realizadas com frascos de 200 mL, cor âmbar, na subsuperfície da água de irrigação, totalizando 80 amostras. As coletas foram realizadas em três pontos diferentes de cada parcela, perfazendo uma única amostra final. As amostras foram fixadas com lugol acético, conforme Bicudo, Menezes (2006), e transportadas ao Laboratório de Ficologia da UFSM.

Em laboratório, para análise quantitativa, a densidade fitoplanctônica foi estimada segundo a metodologia descrita por Utermöhl (1958), sendo analisadas por microscópio óptico invertido marca Motic AE31, sendo o volume (10 mL) sedimentado por 24h mínimas. A contagem do fitoplâncton foi realizada por campos aleatórios, descrito por Uehlinger (1964), utilizando o critério de no mínimo cinquenta campos, a fim de alcançar 100 indivíduos da espécie mais abundante. Para o cálculo de densidade, foram considerados indivíduos células, colônias, filamentos e cenóbios de acordo com APHA (1995).

Para a análise qualitativa foi utilizado microscópio óptico Motic modelo AE21 com câmera digital acoplada. O sistema de classificação adotado foi o de Van den

Hoek, Mann, Jahns (1995) e a bibliografia básica para a identificação dos táxons foi de John, Whitton, Brook (2002), Franceschini (1992), Franceschini et. al. (2002), Bicudo e Meneses (2005) e demais trabalhos complementares.

## **2.5 Herbicidas**

Foram coletados 600 mL de água por tratamento (160 mL por parcela da mesma mistura herbicida) perfazendo uma única amostra final. As amostras foram encaminhadas para o Laboratório Análise de Resíduos de Pesticidas (LARP) da UFSM e as análises foram realizadas conforme Zanella e Kurz (2003), empregando Cromatografia Líquida de Alta Performance com Detecção por Arranjo de Diodos (HPLC-DAD).

## **2.6 Análise de dados**

A análise estatística foi realizada utilizando-se os dados obtidos nos cinco períodos de amostragem 1°, 13°, 50°, 84° e 113° DAAH (DAAH) para os parâmetros ambientais. Procedeu-se a média dos resultados para as datas de coleta, a fim de comparar se as variáveis físicas e químicas atendem às condições e padrões de qualidade da água estabelecidos pela Resolução CONAMA para águas doces, classe 3.

Utilizou-se a análise de discriminante canônica para observar o valor do extensão de gradiente. Sendo que, exposto o gradiente menor que três, recomenda-se a utilização da análise de componentes principais (PCA) e maior que três análise canônica (CA). O resultado demonstrou valor menor que três, conseqüentemente, foi utilizada uma PCA. A PCA é uma técnica estatística multivariada usada para reduzir o dimensionamento dos dados e formar um conjunto menor de fatores ortogonais de mais fácil interpretação. O princípio desta análise é transformar o conjunto original de variáveis em um conjunto menor de combinações lineares, que responda pela maior parte da variância do conjunto original. A PCA baseou-se na matriz de



correlação momento-produto de Pearson, sendo a matriz inicial dos dados as análises ambientais mais as épocas de coleta. Para esta análise, foi utilizado o programa computacional PRIMER (CLARKE e GORLEY, 2001).

A Principal Curva de Resposta (PRC) foi utilizada para investigar os efeitos dos agroquímicos sobre a comunidade fitoplanctônica. PRC é uma técnica multivariada derivada da análise de redundância (RDA) e é um método adequado para investigar o efeito dos herbicidas sobre a estrutura da comunidade fitoplanctônica e suas mudanças ao longo do tempo, tornando possível agregar os efeitos sobre a comunidade de todas as espécies analisadas e exibi-los em um único diagrama (MOSER et al., 2007). Os valores de abundância da comunidade fitoplanctônica foram transformados em  $\ln(Ax+1)$  e a significância da PRC foi testada por Monte Carlo usando 999 permutações. Junto a PRC, foram obtidos diagramas com peso do táxon que é interpretado com a afinidade do táxon a PRC (MOHR et. al., 2008). Assim, foram selecionados os táxons com maiores pesos, sendo estes com sinal negativo ou positivo, os quais foram submetidos à análise; usando análise de variância de medidas repetidas (RM-ANOVA) para testar efeitos da interação tratamento *versus* tempo. RM-ANOVA foi seguida pela ANOVA univariada para cada data de coleta, a fim de determinar a data exata onde qual tratamento foi significativamente diferente dos demais. Quando a RM-ANOVA constatou interação ou a ANOVA univariada para uma determinada data foi significativa, o teste de comparação de médias de Tukey ( $P < 0,05$ ) foi usado para determinar qual tratamento foi mais responsivo para o efeito significativo. Para cada teste, a hipótese de simetria composta dos dados foi verificada com o teste de esfericidade, e quando significativo ( $P < 0,05$ ), para determinar a significância da interação entre termos do sujeito, foi usado o ajustamento de Greenhouse-Geisser para os graus de liberdade do erro através do programa CANOCO (DIXON, 1997).

A ANOVA-RM e a ANOVA univariada foram realizadas com o programa STATISTICA (Statsoft Inc. v.8.0) e as análises de PRC foram realizadas através do programa CANOCO (Fa. Biometris, v.4.5) (BRAAK e ŠMILAUER, 1998).

### **3 Resultados e discussão**

### 3.1 Variáveis físicas e químicas, nutrientes e DBO

Os dados mínimos e máximos, médias e desvio padrão relativos a pH, turbidez, dureza, alcalinidade, condutividade elétrica, nitrato, fosfato e demanda bioquímica de oxigênio (DBO) da subsuperfície associados à lavoura de arroz estão apresentados na Tabela 1. Estes parâmetros foram analisados, a fim de verificar se atendem à Resolução 357 de 17 de março de 2005 do CONAMA para águas doces de classe 3 (águas podem ser destinadas: ao abastecimento para consumo humano, após tratamento convencional ou avançado, a irrigação de culturas arbóreas, cerealíferas e forrageiras, a pesca amadora, a recreação de contato secundário e a dessedentação de animais).

A turbidez (Figura 1) revelou baixos valores ( $> 37$  NTU) ao longo do período de amostragem, com exceção do 1º dia após aplicação dos herbicidas (DAAH) para imazapir+imazapique (Kifix<sup>®</sup>), imazapir e imazapique, em que os dados excederam os valores contemplados pelo CONAMA ( $\leq 100$  NTU). Os valores acima de 100 NTU encontrados nos tratamentos imazapir+imazapique (Kifix<sup>®</sup>), imazapir e imazapique possivelmente ocorreram pelo material coloidal (herbicidas) suspenso nas parcelas. A turbidez é um parâmetro importante para as algas, pois ela interfere na fotossíntese desses organismos. Além do mais, as partículas em suspensão próximas à superfície podem absorver calor adicional dos raios solares e conseqüentemente, aumentar a temperatura da camada superficial da água (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2006) interferindo no ecossistema aquático.

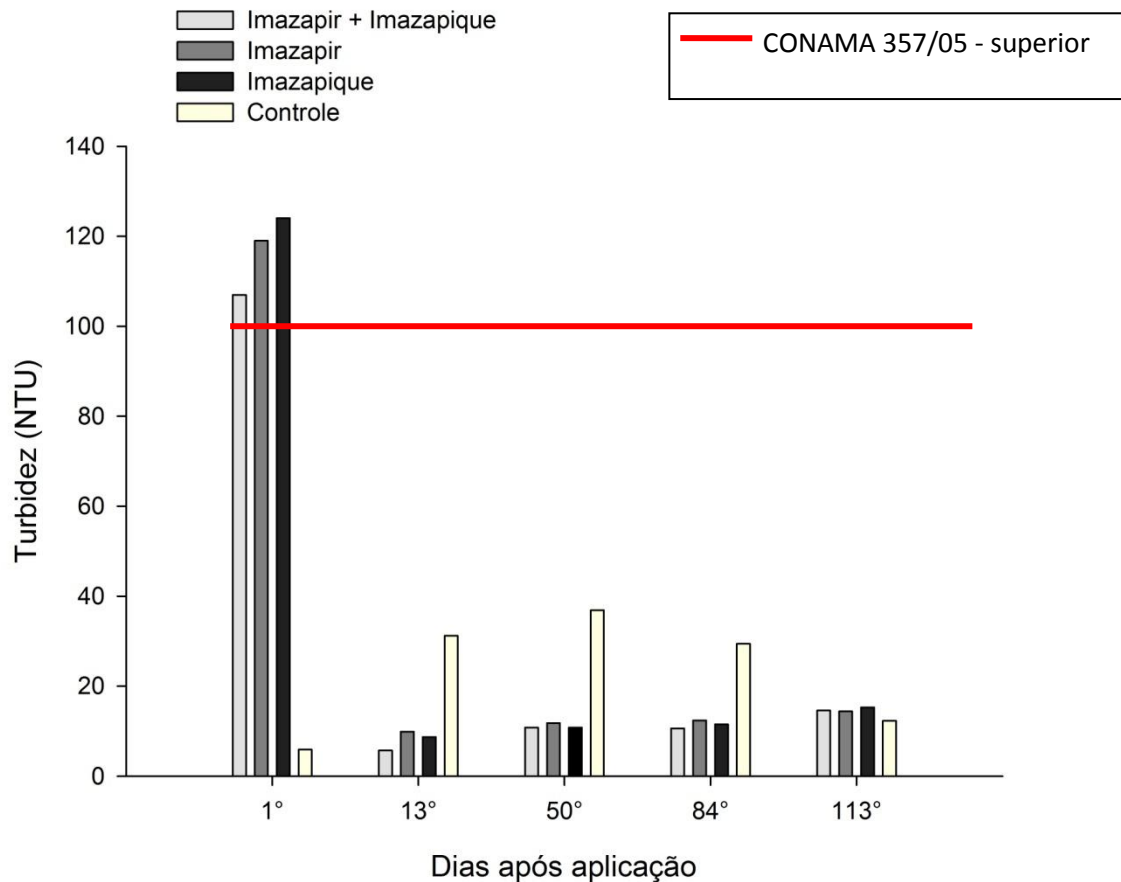
**Tabela 1.** Mínima, máxima (Min/Máx) e média das variáveis físicas e químicas, nutrientes (nitrato e fosfato) e DBO na água nos diferentes tratamentos com aplicação de herbicidas em cinco coletas realizadas na safra agrícola 2011/12. São Sepé, RS, 2013.

Parâmetros	Referência		Herbicidas				
	CONAMA		KI	IM	IZ	CO	
Ph	6,0 - 9,0	Min	- 5,4-6,1	2,8-6,2	5,4-6,3	5,9-7,2	
		Máx					
		Média	5,9	5,4	5,9	6,4	
TUR	≤ 100	Min	- 5,7-14,6	9,9-14,4	8,7-15,3	5,9-36,9	
		Máx					
		Média	10,4	12	11,7	23,1	
DUR	-	Min	- 14,4-23,7	11,7-26,1	11-37,9	15,6-17,3	
		Máx					
		Média	19,4	18,5	20,4	16,4	
ALC	-	Min	- < 0,5-29,3	9,6-43,9	7,6-39	18,6-29,7	
		Máx					
		Média	27,5	24,62	23,7	27,3	
CE	-	Min	- 39,6-124	38,4-97,8	38,3-147	41,6-61,3	
		Máx					
		Média	64,4	57,3	71,7	50,4	
NIT	10000	Min	- 2,8-36,2	2,7-34,9	3,9-14,4	0,4-124	
		Máx					
		Média	11,3	11,5	7,1	26	
FOS	10000	Min	- 11,3-117	12,6-<100	12,5-270	8,6-124	
		Máx					
		Média	37,5	20,4	70	37,8	
DBO	≤ 5	Min	- 2,8-8	2,1-9	2,5-8	2,3-21	
		Máx					
		Média	5,3	4,2	4,6	7	

<sup>1</sup>Ministério da Saúde (Portaria n. 518, 25 de março de 2004).

<sup>2</sup>KI=imazapir+imazapique (Kifix<sup>®</sup>); IM=imazapir; IZ=imazapique; CO=controle.

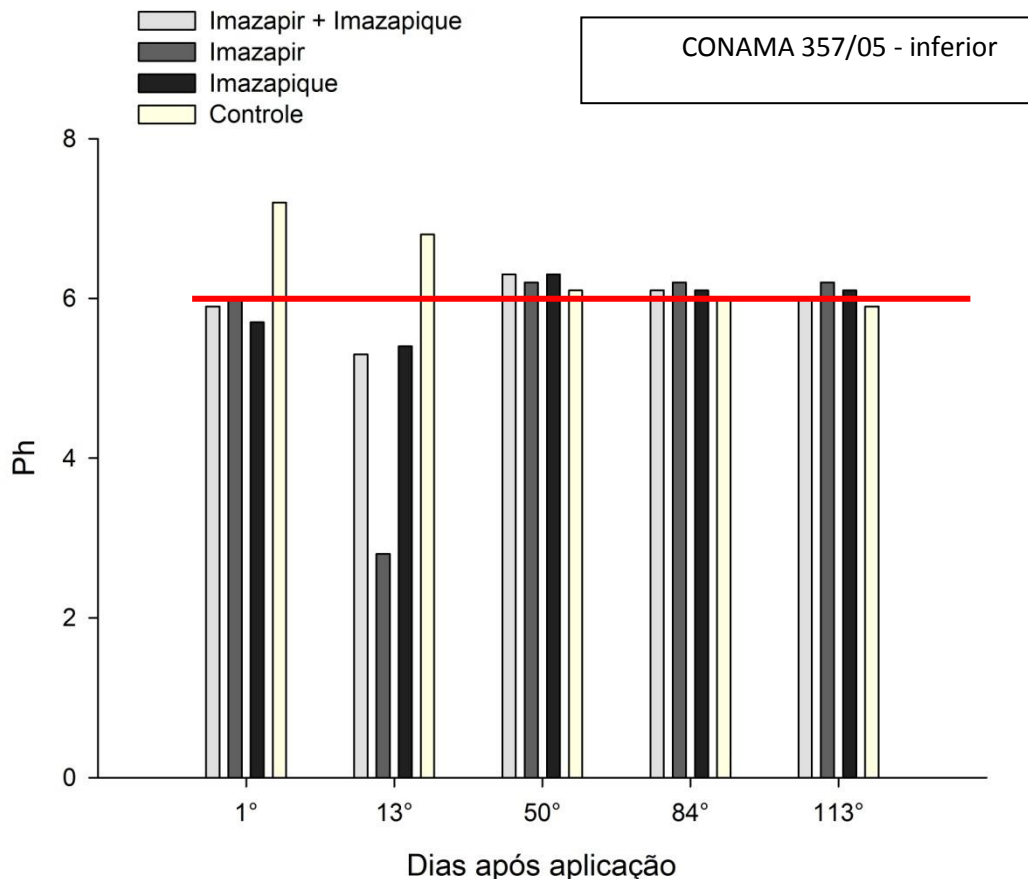
<sup>3</sup>Tur=turbidez; DUR=dureza; ALC=alcalinidade; CE=condutividade elétrica; NIT=nitrato; FOS=fosfato; DBO=demanda bioquímica de oxigênio.



**Figura 1:** Valores de turbidez (NTU) em cinco coletas na água em diferentes tratamentos com aplicação de herbicidas. Coleta 1 (dezembro - 1° DAAH), Coleta 2 (janeiro - 13° DAAH), Coleta 3 (fevereiro - 50° DAAH), Coleta 4 (março - 84° DAAH) e Coleta 5 (abril - 113° DAAH) em lavoura de arroz irrigado na safra 2011/2012, São Sepé, RS, 2013.

O pH (Figura 2) demonstrou pouca variação ao longo dos períodos de coleta com média de 5,9 nos tratamentos. O valor mínimo foi encontrado no 13° DAAH correspondente a 2,8 no tratamento imazapir e valor máximo no 1° DAAH no tratamento testemunha com 7,2 (Tabela 1). Percebe-se que o valor mínimo encontrado de pH (2,8) é muito baixo, possivelmente influenciando na estrutura destas algas, podendo ser intolerável para algumas espécies, selecionando organismos aquáticos pela acidez do ambiente. Como o pH varia dependendo de sua origem, a introdução dos contaminantes (herbicidas) pode ter alterado a qualidade da água nesta amostragem, portanto o valor baixo encontrado provavelmente seja influenciado por este fator, já que corresponde ao ponto de maior detecção de imazapir por HPLC-DAD (Tabela 2), além de apresentar a disparidade com o controle, a qual apresenta o maior valor de pH. Os valores de pH

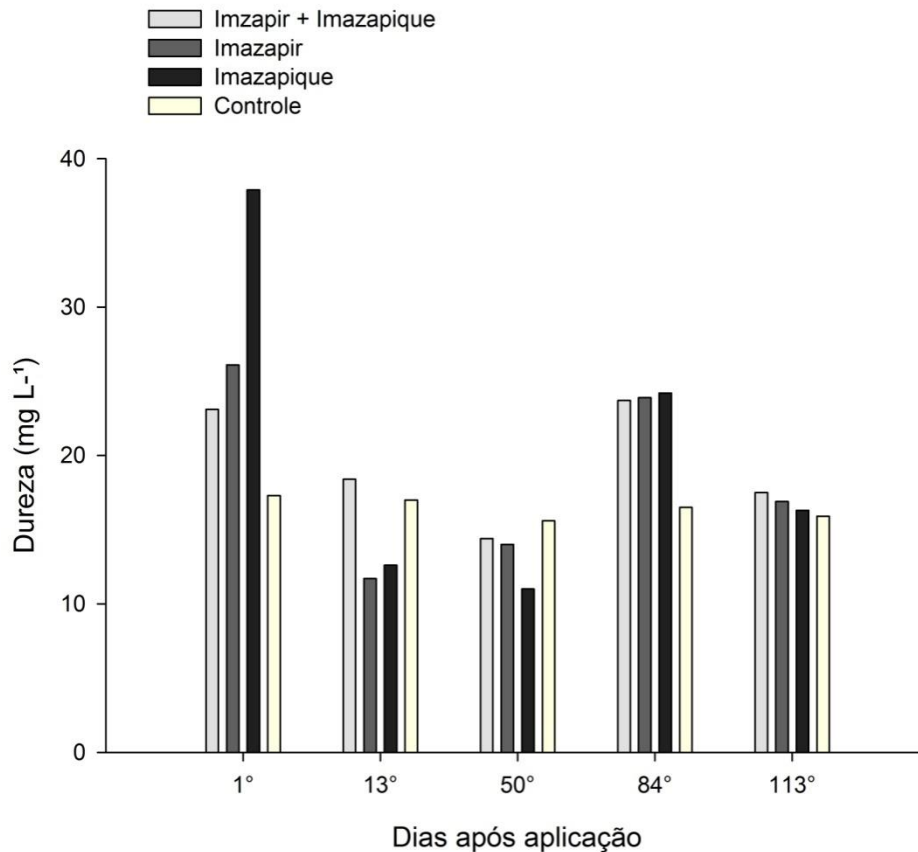
nos períodos de amostragem estiveram dentro dos limites estabelecidos para a proteção à vida aquática, com exceção dos tratamentos imazapir+imazapique (Kifix<sup>®</sup>) e imazapique no 13° DAAH, imazapir+imazapique (Kifix<sup>®</sup>), imazapir e imazapique no 50° DAAH e no controle 113° DAAH.



**Figura 2:** Valores de pH em cinco coletas na água em diferentes tratamentos com aplicação de herbicidas. Coleta 1 (dezembro - 1° DAAH), Coleta 2 (janeiro - 13° DAAH), Coleta 3 (fevereiro - 50° DAAH), Coleta 4 (março - 84° DAAH) e Coleta 5 (abril - 113° DAAH) em lavoura de arroz irrigado na safra 2011/2012, São Sepé, RS, 2013.

Para dureza (Figura 3) foi observado nos períodos de coleta uma variação mínima de 11 mg L<sup>-1</sup> de CaCO<sub>3</sub> e máxima de 37,9 mg L<sup>-1</sup> de CaCO<sub>3</sub> (Tabela 1) ambos para o tratamento imazapique, nos meses de fevereiro e dezembro, respectivamente. As médias destes tratamentos foram de 18,5 e 20,4 (Tabela 1). Os dados apresentados refletem uma classificação de águas moles, o que significa a

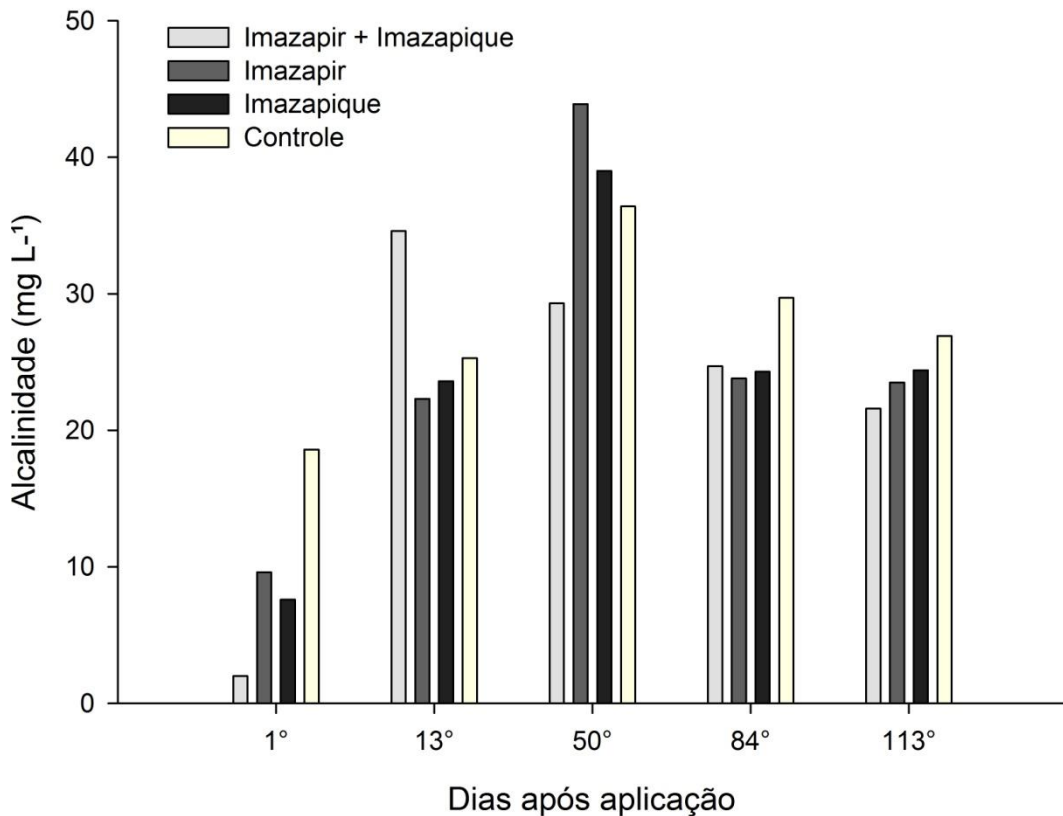
baixa concentração dos íons de cálcio e magnésio que estão associados à baixa produtividade primária (ESTEVES, 1998).



**Figura 3:** Valores de dureza ( $\text{mg L}^{-1}$ ) em cinco coletas na água em diferentes tratamentos com aplicação de herbicidas. Coleta 1 (dezembro - 1° DAAH), Coleta 2 (janeiro - 13° DAAH), Coleta 3 (fevereiro - 50° DAAH), Coleta 4 (março - 84° DAAH) e Coleta 5 (abril - 113° DAAH) em lavoura de arroz irrigado na safra 2011/2012, São Sepê, RS, 2013.

Alcalinidade (Figura 4) apresentou uma variação de  $2,0 \text{ mg L}^{-1}$  a  $43,9 \text{ mg L}^{-1}$  entre dezembro (imazapir+imazapique (Kifix<sup>®</sup>)) e fevereiro (imazapir), respectivamente, conforme a Tabela 1. A disponibilidade de  $\text{CO}_2$  acarreta a redução de alcalinidade, em bicarbonatos, aumentando significativamente o crescimento de algas, tornando a água do ambiente esverdeada o que é muito comum em lavoura de arroz. Este fenômeno foi observado em todos os tratamentos a partir do 13° DAAH. A alcalinidade em ambientes aquáticos é importante para a comunidade biológica, pois este parâmetro é responsável em neutralizar ácidos a fim de não

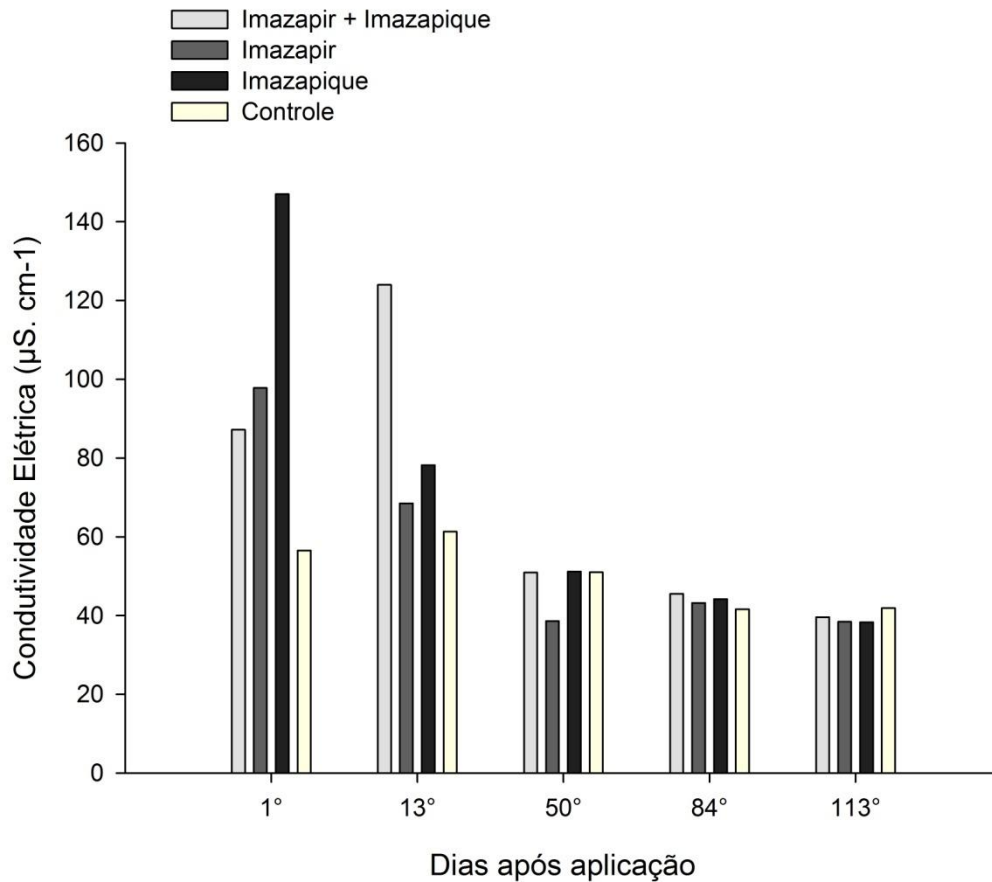
comprometer as comunidades. Elevados valores de alcalinidade juntamente com altos índices de compostos nitrogenados são responsáveis por florações de cianobactérias tóxicas como espécies do gênero *Microcystis* podendo comprometer ambientes aquáticos (CARMICHAEL, 1992).



**Figura 4:** Valores de alcalinidade ( $\text{mg L}^{-1}$ ) em cinco coletas na água em diferentes tratamentos com aplicação de herbicidas. Coleta 1 (dezembro - 1° DAAH), Coleta 2 (janeiro - 13° DAAH), Coleta 3 (fevereiro - 50° DAAH), Coleta 4 (março - 84° DAAH) e Coleta 5 (abril - 113° DAAH) em lavoura de arroz irrigado na safra 2011/2012, São Sepé, RS, 2013.

Para condutividade elétrica (Figura 5) os dados registrados durante o estudo foram mais altos em dezembro e janeiro, enquanto que nos meses seguintes os valores foram mais baixos e estabilizados. Os valores de condutividade não são contemplados pelo CONAMA, todavia os dados excedem o nível estabelecido pela CETESB ( $\leq 100 \mu\text{S. cm}^{-1}$ ) nos tratamentos imazapique e imazapir+imazapique (Kifix<sup>®</sup>) no 1° e 13° DAAH, respectivamente o que caracteriza ambientes eutróficos

podendo acarretar mortandade de organismos aquáticos. Já, os demais valores estão dentro dos padrões atendendo aos requisitos da CETESB (2011).

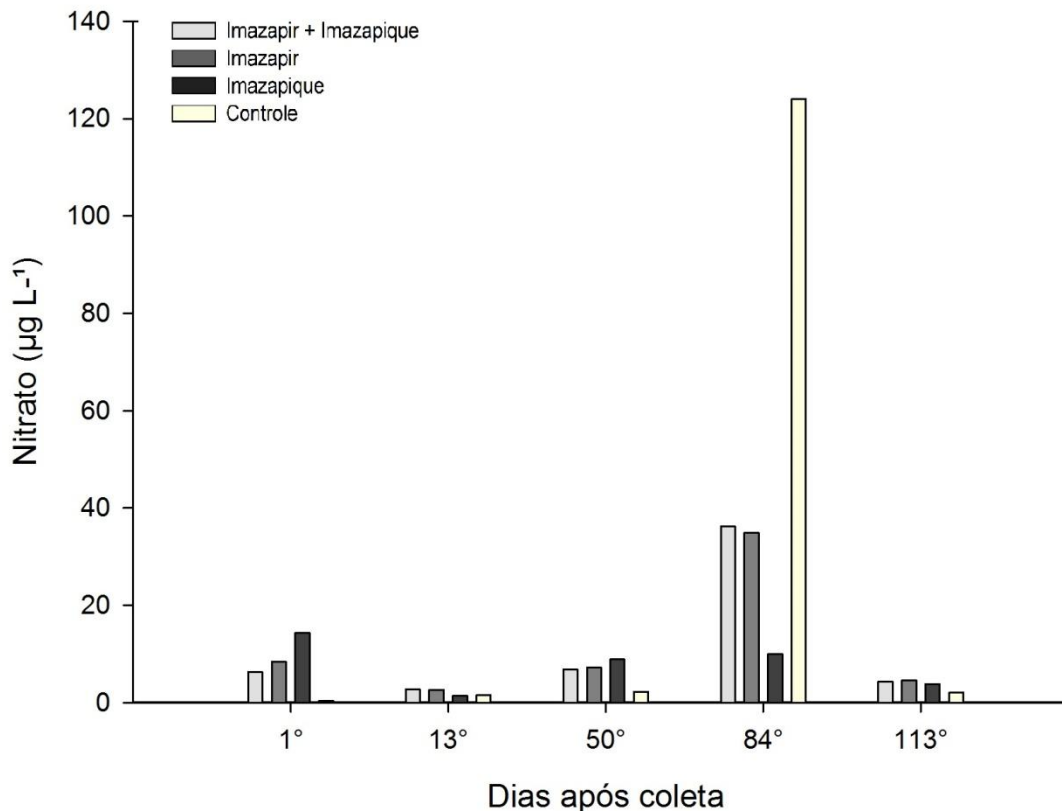


**Figura 5:** Valores de condutividade elétrica ( $\mu\text{S. cm}^{-1}$ ) em cinco coletas na água em diferentes tratamentos com aplicação de herbicidas. Coleta 1 (dezembro - 1° DAAH), Coleta 2 (janeiro - 13° DAAH), Coleta 3 (fevereiro - 50° DAAH), Coleta 4 (março - 84° DAAH) e Coleta 5 (abril - 113° DAAH) em lavoura de arroz irrigado na safra 2011/2012, São Sepé, RS, 2013.

Os valores de nitrato (Figura 6) variaram de  $0,4 \mu\text{g L}^{-1}$  no mês de dezembro a  $124 \mu\text{g L}^{-1}$  (Tabela 1) no mês de fevereiro nos tratamentos controle. Os maiores valores de nitrato em todos os tratamentos foram no 84° DAAH, período que sucedeu a aplicação de fertilizantes. Além do mais, a partir do 84° ° DAAH, o açude reduziu drasticamente o aporte de água devido à estiagem, consequentemente reduzindo nitrato e certamente amônio, já que o local serve de repouso para aves nesse período. Segundo Margalef (1983), a distribuição e concentrações do N em forma de nitrato são importantes em ambientes aquáticos, já que são as principais



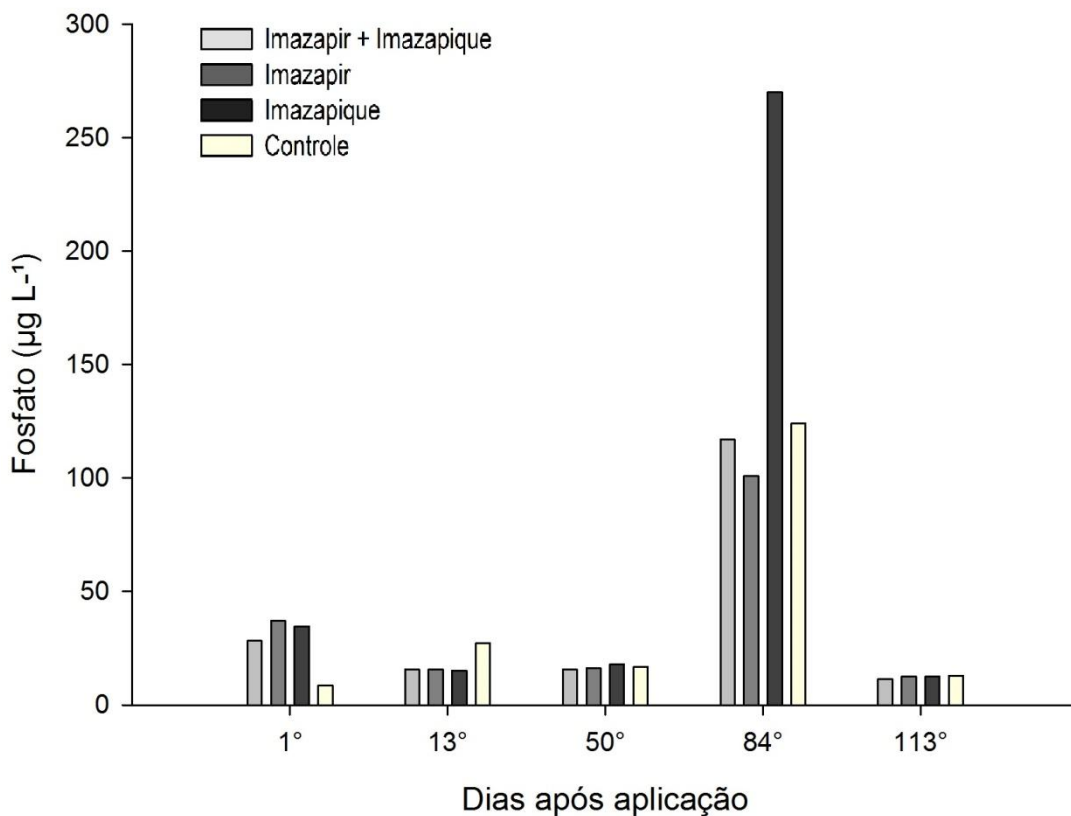
fontes de nitrogênio para produtores. Entretanto, altas concentrações de nitrato podem acarretar graves problemas de intoxicação aos animais aquáticos e ao homem.



**Figura 6:** Valores de nitrato ( $\mu\text{g L}^{-1}$ ) em cinco coletas na água em diferentes tratamentos com aplicação de herbicidas. Coleta 1 (dezembro - 1° DAAH), Coleta 2 (janeiro - 13° DAAH), Coleta 3 (fevereiro - 50° DAAH), Coleta 4 (março - 84° DAAH) e Coleta 5 (abril - 113° DAAH) em lavoura de arroz irrigado na safra 2011/2012, São Sepé, RS, 2013.

Os valores de fosfato (Figura 7) oscilaram entre  $8,6 \mu\text{g L}^{-1}$  para o controle e  $270 \mu\text{g L}^{-1}$  para o imazapique (Tabela 1) nos meses de dezembro e março, respectivamente. Os dados de fosfato, bem como nitrato, foram máximos no mês de março (84° DAAH) para todos os tratamentos, certamente por suceder a aplicação de fertilizantes. Tomando estes dados como base, valores inferiores a  $420 \mu\text{g L}^{-1}$  são indicativos de ambientes não poluídos (THOMAS, 1987). Durante as amostragens, as coletas foram realizadas em altas temperaturas e índices pluviométricos abaixo

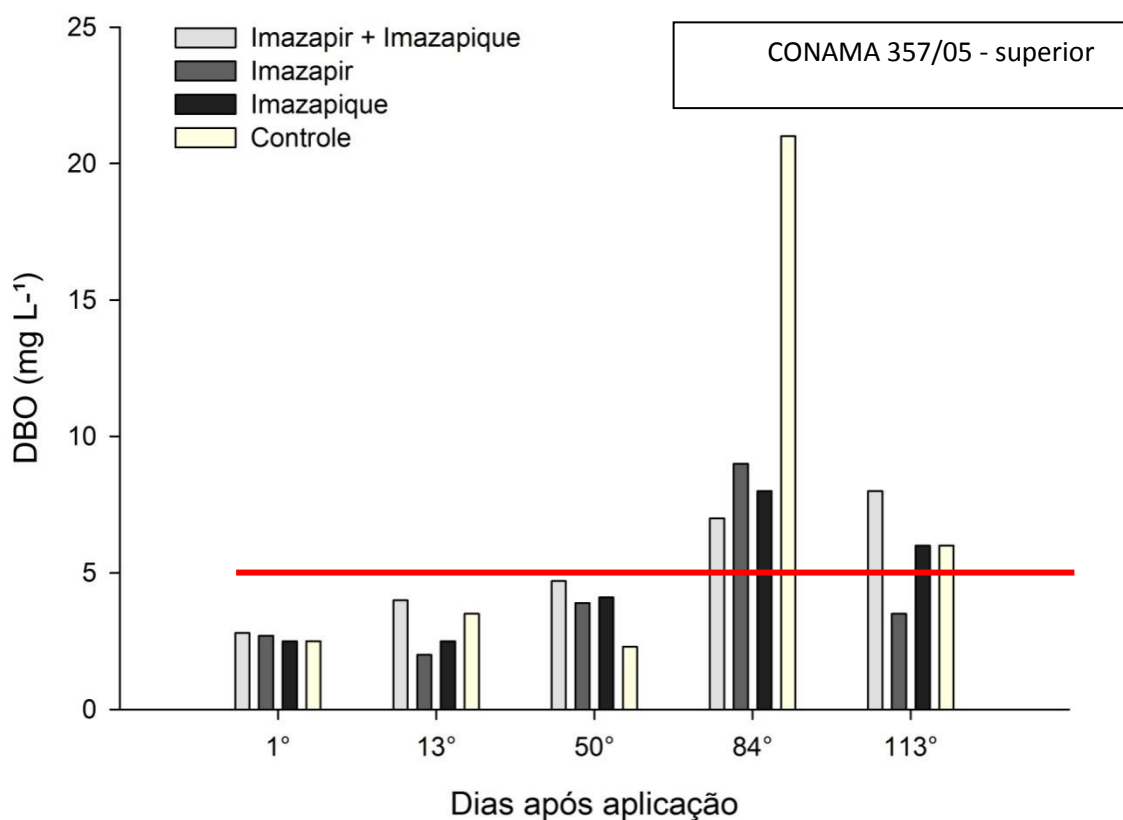
do esperado para todas as coletas devido à predominância do fenômeno La Niña (LabMet, menciona que este fenômeno é responsável por passagens rápidas de frentes frias sobre a região sul, com tendência de diminuição da precipitação nos meses de setembro a fevereiro, principalmente no Rio Grande do Sul). No entanto, a precipitação pode interferir nos valores de fosfato (NOGUEIRA, 1991), sendo ele a principal forma assimilada por vegetais aquáticos e áreas agrícolas apresentam quantidades significativas deste nutriente o que pode acarretar em eutrofização.



**Figura 7:** Valores de fosfato ( $\mu\text{g L}^{-1}$ ) em cinco coletas na água em diferentes tratamentos com aplicação de herbicidas. Coleta 1 (dezembro - 1° DAAH), Coleta 2 (janeiro - 13° DAAH), Coleta 3 (fevereiro - 50° DAAH), Coleta 4 (março - 84° DAAH) e Coleta 5 (abril - 113° DAAH) em lavoura de arroz irrigado na safra 2011/2012, São Sepé, RS, 2013.

A demanda bioquímica de oxigênio (DBO) (Figura 8) oscilaram entre o 1° dia após aplicação dos herbicidas no controle com valor mínimo de 2,1 mg L<sup>-1</sup> e o 84° DAAH com valor máximo de 21 mg L<sup>-1</sup> também para o controle (Tabela 1). A partir

do 84° DAAH todos os tratamentos apresentaram registros maiores que o valor de referência do CONAMA ( $\leq 5 \text{ mg L}^{-1}$ ), com exceção do imazapir no 113° DAAH. Possivelmente o aumento ocorre pelas descargas de matéria orgânica e o baixo volume de água, já que não apresentou diferenças marcantes de chuva e seca no período de coletas. Para Sawyer, McCart, Parkin (1994), DBO é um parâmetro fundamental para analisar casos de poluição de ambiente aquáticos para estabilização da matéria orgânica.



**Figura 8:** Valores de DBO ( $\text{mg L}^{-1}$ ) em cinco coletas na água em diferentes tratamentos com aplicação de herbicidas. Coleta 1 (dezembro - 1° DAAH), Coleta 2 (janeiro - 13° DAAH), Coleta 3 (fevereiro - 50° DAAH), Coleta 4 (março - 84° DAAH) e Coleta 5 (abril - 113° DAAH) em lavoura de arroz irrigado na safra 2011/2012, São Sepé, RS, 2013.

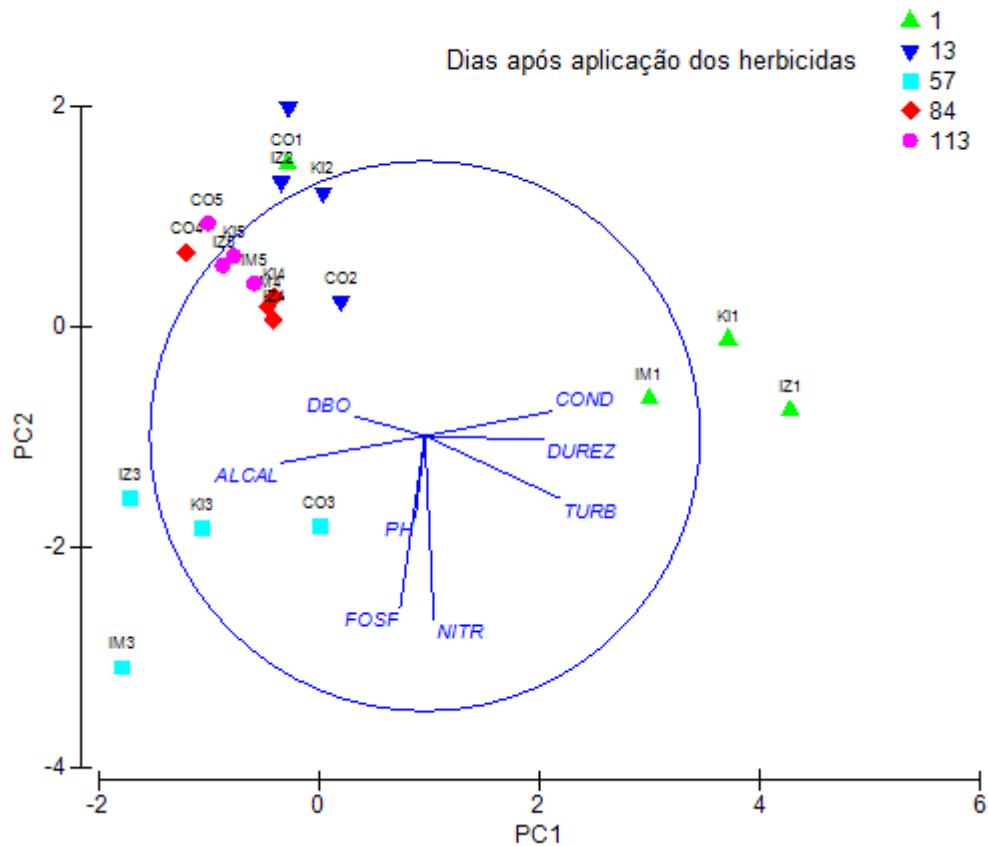
As análises de componentes principais (PCA) para as variáveis físicas e químicas, nutrientes e DBO demonstraram um gradiente temporal, ou seja, por datas de coleta na qualidade da água de irrigação (Figura 9). A caracterização da qualidade de água pode ser mensurada, principalmente, por alcalinidade (-0,525) e condutividade elétrica (0,462), Apêndice 1, em que, a distinção da qualidade da água

é constatada por dois períodos: no 50° DAAH para alcalinidade que obteve os maiores valores, exercendo maior influência nesta data, e no 1° DAAH para condutividade elétrica.

A alcalinidade, certamente se explica pela influência da taxa respiratória dos microorganismos, e pelo período antecedendo a aplicação de fertilizantes, acarretando mudanças no pH do sistema. O CO<sub>2</sub> capturado da água pelo fitoplâncton tende a elevar o pH, assim, a alcalinidade apropriada evita mudanças bruscas diárias de pH (KUBITZA, 2003). Huet, (1998), ressalta a importância da estabilidade do pH para a maioria dos organismos aquáticos, pois estes estão adaptados a um valor médio e não suportam variações bruscas. As comunidades aquáticas podem interferir nos valores de pH do meio; os organismos autotróficos (macrófitas aquáticas e algas), podem elevar o pH por meio do processo de assimilação de CO<sub>2</sub>, enquanto que os organismos heterotróficos, tendem a baixar o pH do meio através dos processos de decomposição e respiração (HELLAWELL, 1989).

Em relação à condutividade elétrica, os maiores valores indicam o grau de decomposição elevado e o inverso (menores valores) indicam acentuada produção primária (SIPAÚBA-TAVARES, 1994) o que é observado nesse experimento, já que os valores foram diminuindo ao longo das datas de coleta.

Neste estudo, os resultados de turbidez, nitrogênio e dureza estão correlacionados ao eixo negativo, enquanto que, DBO teve influência pelo eixo positivo. A verificação de DBO não permite a descrição da dinâmica do crescimento e decaimento do fitoplâncton, entretanto é um parâmetro importante para qualidade de água para determinar o consumo de oxigênio das áreas de estudo.



<sup>1</sup> KI=imazapir+imazapique (Kifix<sup>®</sup>); IM=imazapir; IZ=imazapique; CO=controle.

<sup>2</sup> DBO=demanda bioquímica de oxigênio; ALCAL=alcalinidade; FOSF=fosfato; NITR=nitrato; COND=condutividade elétrica; DUREZ=dureza; TURB=turbidez.

**Figura 9.** Análise de componentes principais (PCA) aplicada as variáveis ambientais em lavoura de arroz irrigado na safra agrícola 2011/12, São Sepé, RS. Os dois primeiros eixos da PCA explicaram 55,8% da variabilidade conjunta dos dados abióticos, sendo 35,1% no eixo 1 e, 20,7% no eixo 2.

### 3.2 Herbicidas

Observa-se, nas datas de coletas da água de irrigação 1°, 13°, 50°, 84° e 113° DAAH, conforme a Tabela 2, a quantificação dos herbicidas imazapir e imazapique nos tratamentos imazapir+imazapique (Kifix<sup>®</sup>), imazapir, imazapique e controle.

Nos tratamentos imazapir e controle não foram detectados os herbicidas imazapir e imazapirique para todas as análises (datas de coletas), portanto estavam abaixo do limite de detecção ( $< 0,05 \mu\text{gL}^{-1}$ ) e de quantificação ( $< 0,1 \mu\text{gL}^{-1}$ ).

No 1º DDAH não foram detectados agroquímicos em nenhum tratamento, ou seja, o conteúdo dos herbicidas no solo da lavoura de arroz se apresentou abaixo do limite de detecção e quantificação, o que pode estar correlacionado as características pH ácido e conteúdo de matéria orgânica ( $27 \text{ gKg}^{-1}$ ) do solo na tendência de permanecerem adsorvidos no solo, não estando disponíveis à absorção pelas plantas de arroz, já que pH, juntamente com o teor de matéria orgânica, são os fatores que mais influenciam a dinâmica das imidazolinonas (KOSKINEN e HARPER, 2001).

A partir das demais quantificações foi detectado imazapir no tratamento imazapir+imazapirique (Kifix<sup>®</sup>) em  $0,2 \mu\text{gL}^{-1}$  e  $0,1 \mu\text{gL}^{-1}$  no 13º DDAH e no 50º DDAH, respectivamente. Também, foi quantificado imazapir em  $15,8 \mu\text{gL}^{-1}$ ,  $0,3 \mu\text{gL}^{-1}$ ,  $0,1 \mu\text{gL}^{-1}$  e  $0,2 \mu\text{gL}^{-1}$  nos dias 13º, 50º, 84º e 113º DDAH, respectivamente.

Em suma, os herbicidas do grupo químico das imidazolinonas são persistentes no solo e solúveis em água podendo contaminar fontes de águas superficiais e subterrâneas, já que com o passar do tempo estes herbicidas se concentram em maiores profundidades do perfil, até 30 cm, indicando diminuição na camada de solo (JOURDAN et al., 1998). Battaglin et al., (2000) verificou dezesseis ingredientes ativos de herbicidas pertencentes aos grupos das sulfonilureias, sulfonamidas e imidazolinonas em amostras coletadas de águas superficiais e subterrâneas em lagos e rios nos Estados Unidos. Corroborando, Börjesson et al., (2004) deparou-se com o composto imazapir em águas subterrâneas após oito anos de sua aplicação comprovando alta persistência destes herbicidas.

Diante dos fatos, é indispensável ajustar as doses dos herbicidas de acordo com as características do solo e do meio, com o objetivo de maximizar a eficácia dos herbicidas, diminuindo as dosagens e conseqüentemente, a contaminação ambiental, sem afetar o controle do arroz vermelho. Priorizando, que o principal mecanismo de dissipação do imazapir+imazapirique (kifix<sup>®</sup>) no solo é por meio da degradação microbiana (FLINT; WITT, 1997) e a degradação do imazapir torna-se até quatro vezes mais lenta em solos estéreis, quando comparada com a de solo em condições naturais (WANG et al., 2006), é considerável, também, averiguar os manejos da orizicultura nesses ambientes, afim de evitar e diminuir o efeito residual

destes compostos. Também, é considerável o tempo de permanência de água nos quadros de arroz, pois o período correto para a dissipação dos agroquímicos contribui para a não contaminação dos recursos hídricos.

Segundo Armas et. al. (2007), os programas de monitoramento dos Estados Unidos constataram a presença de setenta agroquímicos diferentes encontrados em águas subterrâneas em trinta e oito estados, estando dezessete acima dos limites aceitáveis, conforme a legislação americana.

**Tabela 2.** Detecção (0,005 µg L<sup>-1</sup>) e quantificação (0,1 µg L<sup>-1</sup>) dos herbicidas imazapir e imazapique na água em cinco coletas realizadas na safra agrícola 2011/12. São Sepé, RS, 2013.

Tratamentos	IM+IZ		IM		IZ		CO	
	IM	IZ	IM	IZ	IM	IZ	IM	IZ
Coletas								
1°	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
13°	0,2	n.d.	15,8	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
50°	0,1	n.d.	0,3	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
84°	n.d.	n.d.	0,1	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
113°	n.d.	n.d.	0,2	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.

<sup>1</sup> KI=imazapir+imazapique (Kifix<sup>®</sup>); IM=imazapir; IZ=imazapique; CO=controle.

### 3.3 Estrutura e dinâmica da comunidade fitoplanctônica

#### 3.3.1 Análise quantitativa

No total de 80 amostras verificadas foram identificadas 60 gêneros de algas, distribuídos em nove classes e 23 famílias, quanto à classificação taxonômica, consistindo nas classes: Chlorophyceae (33,33%), Zygnemaphyceae (23,33%), Bacillariophyceae (16,7%), Cyanophyceae (10%), Euglenophyceae (5%), Chlamydoephyceae (3,33%), Oedogoniophyceae (3,33%) e Cryptophyceae (1,6%). Os gêneros *Dinobryon* sp., *Surirella* sp. e *Westella* sp. foram encontrados apenas no tratamento controle enquanto que, *Cyclotella* sp. e *Nitzschia* sp. não foram verificados

apenas neste tratamento. Já, *Coelastrum* sp. foi encontrada apenas no tratamento imazapir+imazapique (Kifix<sup>®</sup>) e *Phacus* sp. no tratamento imazapir. Os valores totais de densidade em cél. mL<sup>-1</sup> foram de 28402 mL<sup>-1</sup>, 27656 mL<sup>-1</sup>, 27127 mL<sup>-1</sup> e 23758 mL<sup>-1</sup>, nos tratamentos imazapique, controle, imazapir+imazapique (Kifix<sup>®</sup>) e imazapir, respectivamente.

### 3.3.2 Curva de Resposta Principal

O diagrama de Curva de Resposta Principal - PRC (Figura 10) da comunidade fitoplanctônica mostrou o efeito dos herbicidas na água de irrigação nas datas de coleta 1°, 13°, 50°, 84° e 113° DAAH. Do total da variância apresentada (Apêndice 2), no eixo horizontal, 30% é explicada pelas datas de coleta e 20,9% pelos tratamentos, já no primeiro eixo do diagrama explicam-se pela variância dos tratamentos químicos em 23,5% e o teste de permutação de Monte Carlo é altamente significativo ( $p = 0,002$ ).

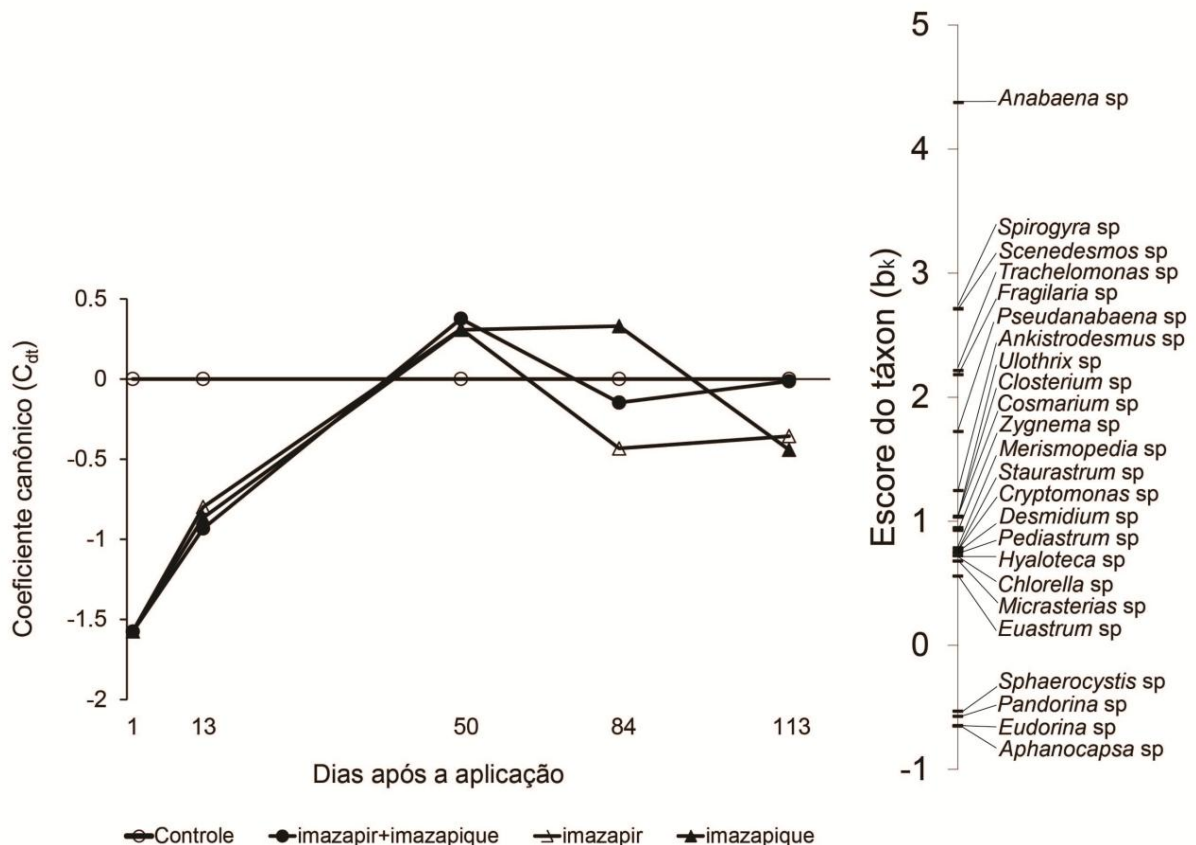
Os maiores efeitos foram encontradas sobre as populações pertencentes aos gêneros *Trachelomonas* sp., *Scenedesmus* sp., *Spirogyra* sp. e *Anabaena* sp. que possuem um alto peso positivo na PRC (Figura 10) contrastando, de maneira distinta, aumento na abundância destas algas nos tratamentos com os herbicidas imazapir+imazapique (Kifix<sup>®</sup>), imazapir e imazapique, em relação ao controle. Já, as populações pertencentes a *Aphanocapsa* sp., *Eudorina* sp., *Pandorina* sp. e *Sphaerocystis* sp. possuem peso negativo (Figura 10) indicando redução de abundância para estas taxa para os mesmos herbicidas em relação ao controle, ou seja, são menos tolerantes aos herbicidas em estudo. Suárez-Serrano et al. (2010) também constataram esse aumento e diminuição de densidade em ambientes em que não foram detectados herbicidas por métodos analíticos.

Portanto, o sinal do score do táxon reflete a direção de abundância da comunidade fitoplanctônica. Os taxa com valores de bk menores que 1.0 e - 1.0 não foram apontados no diagrama, por não apresentarem significância de abundância.

Dessa forma, percebe-se com o diagrama, que há flutuação da comunidade fitoplanctônica nos tratamentos com herbicidas, em relação ao controle. Sendo que, no 1° ao 13° DAAH e novamente no 113° DAAH os tratamentos apresentaram-se de



maneira semelhante, com flutuação negativa. Entretanto, esta resposta foi diferenciada no tratamento imazapique no 84° DAAH, consistindo no único tratamento a apresentar resposta positiva, diferenciando-se dos demais tratamentos.



**Figura 10.** Curva de resposta principal (PRC) da comunidade fitoplanctônica indicando o efeito dos herbicidas na água de arroz irrigado na safra 2011/12, São Sepê, RS. 30% de toda a variância pode ser atribuída às datas de amostragem, mostrado no eixo horizontal. 20,9% da variância pode ser atribuída aos níveis dos tratamentos com herbicidas 23,5% do qual pode ser vista no eixo vertical. O teste de Monte Carlo é altamente significativo ( $p = 0,002$ ).

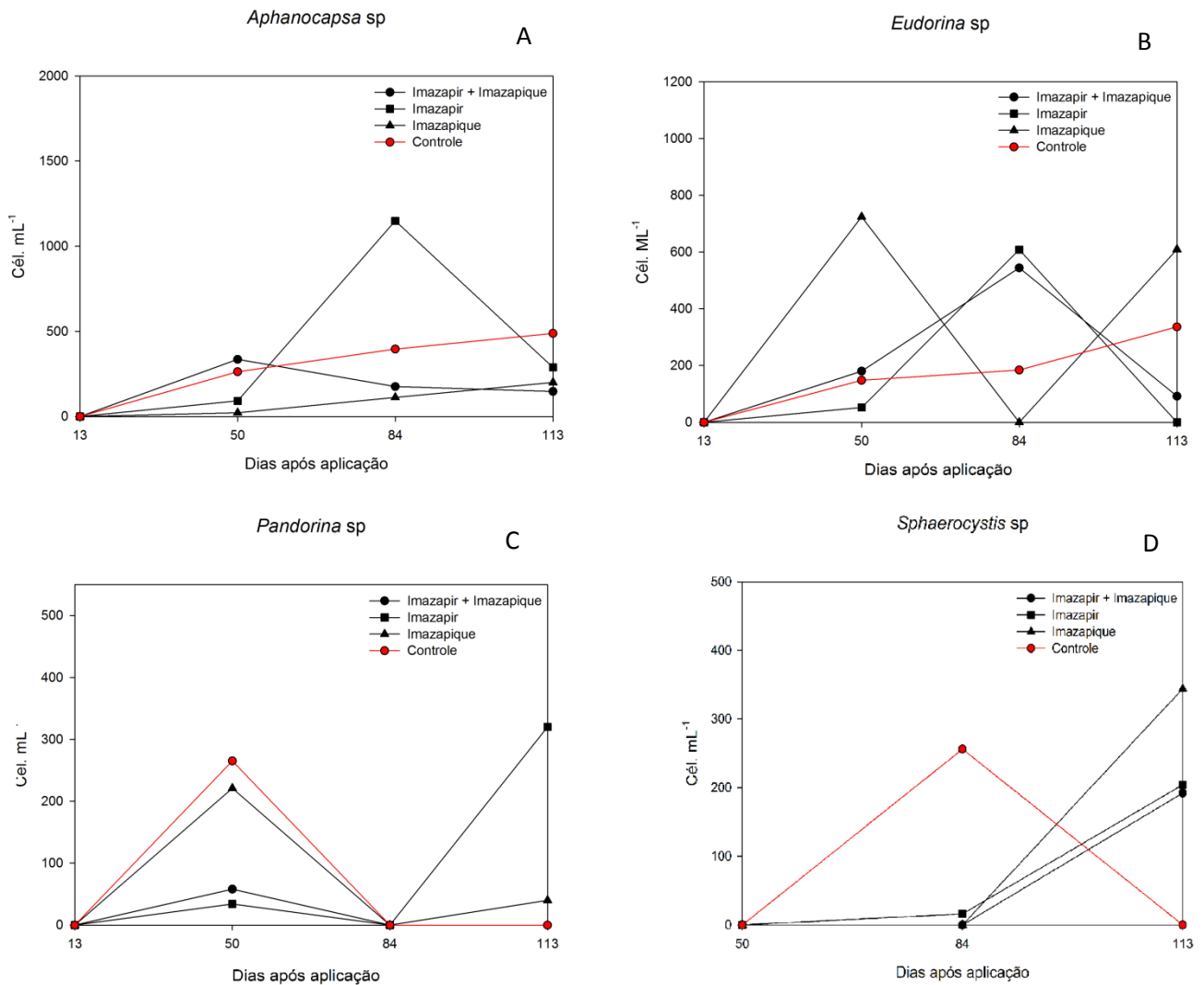
Após a PRC, realizou-se análise de variância, de forma isolada, para os indivíduos de maiores pesos ( $b_k > 2.5$  ou  $< -2.5$ ) demonstrando que *Aphanocapsa sp.*, *Eudorina sp.*, *Pandorina sp.* e *Sphaerocystis sp.* obtiveram flutuações médias e temporais entre os tratamentos não significativas ( $P > 0,05$ ).

*Aphanocapsa sp.* e *Eudorina sp.* (Figura 11A e 11B) tiveram comportamento semelhantes: houve um aumento da densidade total durante as coletas para o

controle, diferindo-se dos demais tratamentos que flutuaram entre altas e baixas concentrações de densidade, sendo diferenciadas apenas pelas datas de coleta. Apenas no 50° DAAH houve uma aparente aproximação da densidade do controle ao tratamento imazapir+imazapique (Kifix<sup>®</sup>) para ambos os gêneros. Também, é possível perceber que os picos com maiores densidades são encontrados no tratamento imazapir no 84° DAAH para *Aphanocapsa* sp. e 50° DAAH em imazapique para *Eudorina* sp..

*Pandorina* sp. (Figura 11C) teve uma flutuação do tratamento controle bem expressiva com um alto valor de densidade no 50° e declínio no 84° DAAH. As densidades oscilaram muito entre os tratamentos não havendo uma aproximação ao controle, com exceção do imazapique que obteve uma leve aproximação do 50° DAAH. Entretanto, o maior valor de densidade apresentado foi no 113° DAAH no tratamento imazapir.

*Sphaerocystis* sp. (Figura 11D) diferenciou-se dos demais *taxa* por apresentar alta concentração para o controle a partir do 84° DAAH, já os demais tratamentos, com herbicidas para a mesma data de amostragem, tenderam uma aproximação entre si, todavia com baixa densidade. Entretanto, no 113° DAAH a densidade foi nula para o controle e os demais tratamentos obtiveram altos valores de densidade, principalmente no tratamento imazapique.



**Figura 11.** Gráficos representando a dinâmica das espécies com maiores valores negativos (A-D) da PRC de *Aphanocapsa* sp. (A), *Eudorina* sp. (B), *Pandorina* sp. (C) e *Sphaerocystis* sp. (D) em parcelas com aplicação de herbicidas na safra agrícola 2011/12. São Sepé, RS, 2013.

Para as variações de abundância, a ANOVA-RM mostrou diferença significativa ( $P \leq 0,05$ ) para datas de coleta, média dos tratamentos e interação entre tratamentos para *Trachelomonas* sp., *Scenedesmus* sp., *Spirogyra* sp. e *Anabaena* sp.. Para estes gêneros, também foi realizada ANOVA univariada para determinar efeito significativo dos tratamentos utilizando o teste de comparação de médias de tukey ( $P < 0,05$ ).

Os gêneros citados se comportam de maneiras semelhantes: todos apresentaram densidades do 1° ao 113° DAAH com declínio na concentração no 50° DAAH para o tratamento controle.

*Trachelomonas* sp. (Figura 12A) revelou um aumento na densidade nos 13° e 113° DAAH para o controle. Já, os demais tratamentos obtiveram a tendência de aproximação entre os dias 13° ao 84° DAAH e, no 113° DAAH houve uma recuperação nas concentrações. O teste de comparação de médias de tukey (Apêndice 3A) para *Trachelomonas* sp. mostrou diferença significativa para todos os tratamentos, imazapir+imazapique (Kifix®), imazapir e imazapique em relação ao controle no 1° DAAH e em imazapique no 13° DAAH, também em relação ao controle.

*Scenedesmus* sp. (Figura 12B) apresentou um comportamento similar para os tratamentos em todas as amostragens, com exceção do controle nos 1° e 13° DAAH com alto valor na densidade em relação aos demais tratamentos. Acredita-se ser o gênero mais tolerante aos herbicidas devido à baixa variação apresentada e aumento de densidade ao longo das amostragens (próximo ao controle) concordando com van den Brink e ter BRAAK (1997) este aumento de densidade verificado em microcosmos para o fungicida carbendazin em zooplâncton e macroinvertebrados, entretanto distinguindo do experimento de Daam et al. (2009), pela qual evidenciou a diminuição do gênero Scenedesmus em relação ao controle também para carbendazin, entretanto como organismo teste os macroinvertebrados. Para *Scenedesmus* sp. o teste de tukey (Apêndice 3B) revelou diferença significativa para todos os tratamentos (imazapir+imazapique (Kifix®), imazapir e imazapique) em relação ao controle nos 1° e 13° DAAH.

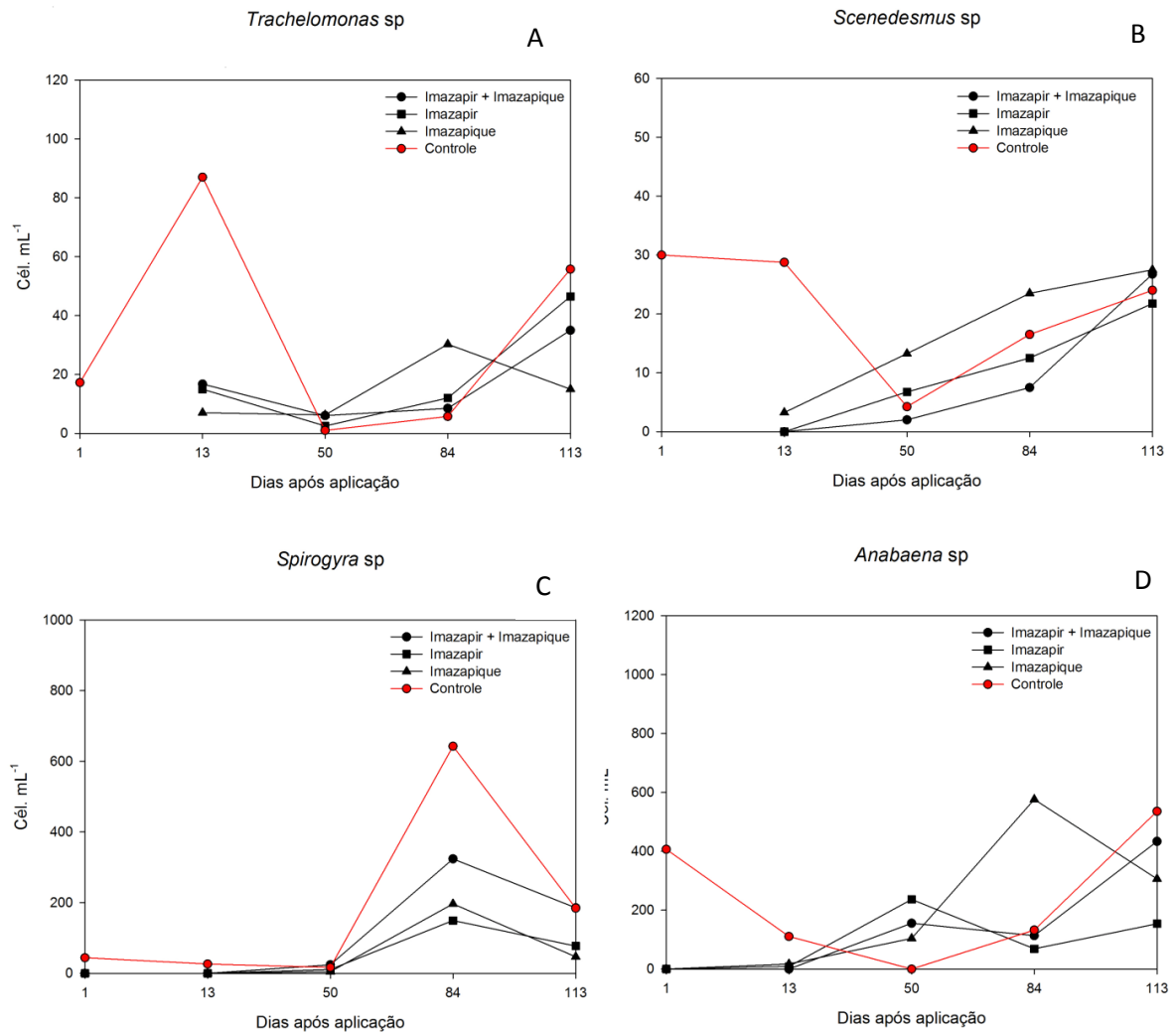
*Spirogyra* sp. (Figura 12C) manifestou-se com baixa densidade dos 1° ao 50° DAAH, apresentando um elevado pico celular em 84° dias e novamente queda em 113° DAAH em todos os tratamentos. O peso positivo para *Spirogyra* sp. também foi encontrado por van den Brink et. al (2009). O teste de tukey (Apêndice 4A) para *Spirogyra* sp. apresentou diferenças em todos os tratamentos (imazapir+imazapique (Kifix®), imazapir e imazapique) no 1° DAAH em relação ao controle.

*Anabaena* sp. (Figura 12D) teve uma tendência entre o aumento e diminuição de densidade, à exceção no 84° DAAH, o que leva a crer ser o gênero mais sensível aos herbicidas de peso positivo. Já PETERSON et al., (1994) evidenciou peso negativo para Cyanophyceae, todavia esse peso positivo encontrado em ambientes naturais pelo presente trabalho merece destaque, já que espécies do gênero *Anabaena* são produtores potenciais de neurotoxinas, que podem causar insuficiência respiratória e levar à morte de animais, e a drenagem de lavouras de

arroz atingem lagos e rios, pela qual fazem parte de reservatórios de água doce. O teste de comparação de médias de tukey (Apêndice 4B) para *Anabaena* sp. constatou diferenças significativas em todos os tratamentos, imazapir+imazapique (Kifix<sup>®</sup>), imazapir e imazapique em relação ao controle no 1° DAAH.

Desta forma, percebe-se que os *taxa* de peso positivo apresentam diferenças significativas, principalmente, entre o controle e os tratamentos com herbicidas, imazapir+imazapique (Kifix<sup>®</sup>), imazapir e imazapique, na primeira coleta. Assim, acredita-se que o fitoplâncton manteve uma dinâmica semelhante entre os tratamentos com herbicidas, sendo que imazapir e imazapique influenciam de maneira semelhante como mistura herbicida formulada, bem como compostos isolados.

Compreende-se que as estruturas da comunidade fitoplanctônica nos tratamentos imazapir+imazapique (Kifix<sup>®</sup>) e compostos isolados, imazapir e imazapique, se tornaram mais semelhantes ao controle na aproximação da última amostragem constatando que os herbicidas do grupo químico das imidazolinonas são mais tóxicos nos primeiros dias após aplicação, principalmente até o 13° DAAH confirmando os resultados de Sartori et. al (2011).



**Figura 12.** Gráficos representando a dinâmica das espécies com maiores valores positivos (A-D) da PRC de *Trachelomonas* sp. (A), *Scenedesmus* sp. (B), *Spirogyra* sp. (C) e *Anabaena* sp. (D) em parcelas com aplicação de herbicidas na safra agrícola 2011/12. São Sepé, RS, 2013.

Os resultados demonstraram densidades (cél. mL<sup>-1</sup>) na primeira coleta, para todos os gêneros de peso positivo no controle, diferindo dos tratamentos com herbicidas em que não apresentaram concentrações celulares, logo é possível perceber a sensibilidade destes organismos no 1° DAAH, comprovando a toxicidade de imazapir+imazapique (Kifix®) e compostos isolados, imazapir e imazapique, 24h após aplicação de agroquímicos do grupo químico das imidazolinonas. Ainda, é possível averiguar que no 13° DAAH os valores de densidade no tratamento controle são superiores aos tratamentos com herbicidas (densidades menores) provavelmente pelo efeito dos agroquímicos, ainda que em menor nível. Embora,

*Trachelomonas* sp., *Scenedesmus* sp., *Spirogyra* sp. e *Anabaena* sp. não tenham recuperado os níveis celulares no 50° DAAH para os tratamentos com herbicidas acredita-se ter ocorrido pressão de pastejo, já que o controle também apresentou baixa densidade, sendo que as amostras apresentaram densidades consideráveis de zooplâncton, apesar de não identificadas. Já, a partir do 84° DAAH percebe-se uma recuperação destas taxa, sendo que no 113° DAAH há uma aproximação expressiva entre os resultados nos tratamentos para estes organismos em relação ao controle.

De maneira geral, Cyanophyceae, Chlamydomphyceae e Chlorophyceae foram mais afetadas pela mistura herbicida imazapir+imazapique (Kifix®) e compostos isolados, imazapir e imazapique. Algas verdes têm sido reportadas como sensíveis aos herbicidas linuron, atrazine e metsulfuron metil (WENDT-RASCH, PIRZADEH, WOIN, 2003; DAAM et al., 2009; PANNARD et al., 2009). Testes de fitotoxicidade em algas e uma planta vascular foram realizados com imazetapir, grupo químico das imidazolinonas, apresentando baixa toxicidade para algas verdes e cianobactérias, no entanto acarretou reduções significativas no crescimento da cianobactéria *Microcystis aeruginosa* (PETERSON et al., 1994). Nyström, Björnsäter, Blanck, 1998; Wei et al., 1998; Netherland et al., 2009 reportaram diferenças entre Chlorophyceae e Cyanophyceae para os herbicidas do grupo químico das imidazolinonas em laboratório. Corroborando, Ma et al. (2002) verificou em estudos toxicológicos com 40 herbicidas em algas verdes demonstrado que herbicidas do grupo químico das imidazolinonas são mais tóxicos para o fitoplâncton que herbicidas mimetizadores da auxina.

Constata-se na PRC que os taxa de peso positivo bem como peso negativo tiveram aproximação dos tratamentos com herbicidas ao controle na aproximação na última coleta. A recuperação e aproximação da densidade dos organismos podem estar associadas à dissipação dos herbicidas utilizados apresentando menor residualidade e conseqüentemente gerando menos efeitos sobre as algas. Os herbicidas exercem pressão de seleção quando a exposição atinge um determinado nível, durante um período suficiente de tempo variando com as condições ambientais (MORIN et al. 2009). O tempo de exposição das algas aos herbicidas pode resultar no rápido desenvolvimento de linhagens tolerantes promovendo o aumento ou diminuição de densidade dessas linhagens conforme Kasai (1999) em experimento com diatomáceas e algas verdes. Desta maneira, sugerimos estudos

mais prolongados, já que pode haver um maior efeito residual de imazapir+imazapique (Kifix<sup>®</sup>) (RENNER et. al., 1998).

É difícil discernir possíveis relações, causas e efeitos de um complexo de misturas de herbicidas, na qual pode ter comportamentos sinérgicos e antagonistas ou aditivos, podendo trazer efeitos nocivos para vários organismos (PARDOS et al. 1998), ressaltando que existem variações interespecíficas na suscetibilidade das algas a diferentes herbicidas, logo é indispensável constatar a toxicidade de imazapir+imazapique (Kifix<sup>®</sup>), e também dos compostos isolados.

Embora sejam fundamentais práticas sustentáveis no uso de herbicidas, pouco se sabe a respeito do destino e impacto destes compostos em ambientes de água doce em clima tropical e subtropical (CASTILLO et al., 1997; RACKE, 2003). Com a escassez de resultado de dados tropicais, a avaliação em países tropicais depende dos dados de toxicidade de clima temperado (KARSSON, 2004, KWOK et al., 2007; KNAUERT, S. et. al., 2009; MARQUES, PEREIRA, GONÇALVES, 2011 ). Essa diferença de temperatura, umidade, luz solar, entre outros fatores abióticos foi reportado por Daam, et. al (2009) em que constatou diferenças entre climas, percebendo que alguns macroinvertebrados foram mais sensíveis a fungicidas (carbendazim) no clima tropical em que clima temperado.

As diferenças geográficas, a estrutura e funcionamento do ecossistema de água doce e os efeitos de substâncias químicas são distintas (LACHER, GOLDSTEIN, 1997; BROCK et al., 2006) sendo necessárias pesquisas voltadas para as regiões tropicais e subtropicais para um confronto de resultados com o clima temperado, mesmo que não há evidência de diferenças de sensibilidade entre as espécies em clima tropical e temperado (MALTBY et al, 2005) para herbicidas.

Considerando que os efeitos tóxicos de substâncias químicas não são bem demonstrados quando utilizada a abordagem de estudo com uma única espécie, (NYHOLM, KÄLLQVIST, 1989) o experimento em mesocosmos demonstra a resposta das algas aos tratamentos integrando as interações de competição e predação dos organismos da biota aquática. Normalmente testes de toxicidade de contaminantes são conduzidos em laboratório, sob condições controladas, no entanto podem ser executados em mesocosmos (KENNEDY et al., 2003; LANDIS e YU, 2003) com o benefício do realismo ecológico.

Trabalhos concomitantes em laboratório e *in situ* mostraram diferenças nos resultados, por exemplo, bioensaios em laboratório com peixes (*Danio rerio*) como



organismo teste avaliando a qualidade da água e sedimentos de reservatórios constataram ausência de mortandade destes organismos, entretanto nos testes *in situ* houve constatação do efeito tóxico acarretando na mortalidade de alguns peixes (TONISSI, ESPÍNDOLA, 2002). Corroborando, Dornfeld. et. al. (2006) constatou em animais bentônicos em testes laboratoriais ausência de toxicidade da água do rio Monjolinho, por outro lado, em testes *in situ* deparou-se com efeitos subletais. Fracácio (2006); Vieira (2010) ressaltam a necessidade de testes *in situ* na avaliação de toxicidade de contaminantes em condições mais próximas aos ambientes naturais devido a estas diferenças encontradas entre os testes laboratoriais e *in situ*, mostrando que testes a campo são mais sensíveis e realistas que testes laboratoriais.

Constatamos eficiência do fitoplâncton na avaliação de toxicidade da mistura herbicida imazapir+imazapique (Kifix<sup>®</sup>) e compostos isolados *in situ* como comunidade teste, uma vez que as concentrações destes compostos indicadas a campo em lavoura de arroz irrigado não foram detectáveis por HPLC-DAD, os tratamentos com herbicidas, demonstraram efeito sobre a abundância e composição do fitoplâncton na PRC. Chang et al. (2011); Marques, Pereira, Gonçalves (2011) também evidenciaram que algas são mais sensíveis que outros organismos como zooplâncton e macroinvertebrados, em que estes organismos não mostraram clareza no desvio de abundância ou composição comparado ao controle.

Entretanto, para a avaliação dos impactos sobre a qualidade da água receptora de contaminantes é interessante diferentes métodos de ensaio e inclusão de organismos de diferentes níveis tróficos para evidenciar as várias sensibilidades dos organismos de maneira a atingir confiabilidade nos resultados (JOHNSON et al., 2004). Além disso, experimentos a campo são de baixo custo, permitem repetições e número de amostragens significativas, de modo a obter mais informações sobre seus organismos teste. Todavia, recomendamos complementar a avaliação do risco da mistura herbicida imazapir+imazapique (Kifix<sup>®</sup>) e compostos isolados com os dados obtidos abordando o modo específico de ação dos compostos para o grupo mais sensível de organismos a fim de evitar a sobre-estimação do potencial de recuperação do sistema aquático.

É possível acreditar que a mistura herbicida imazapir+imazapique (Kifix<sup>®</sup>) e compostos isolados, imazapir e imazapique, afetam a comunidade fitoplanctônica diretamente e de forma seletiva perante os testes de toxicidade destes compostos

nas concentrações recomendadas pelo fabricante. De qualquer forma, trabalhos futuros deverão abordar ambientes mais próximos de sistemas naturais para cumprir um amplo perfil de toxicidade e potencializar riscos ambientais, a fim de estabelecer relações causa-efeito de contaminantes de maneira a considerar outros organismos da cadeia trófica (WENDT-RASCH, L. et. al., 2004). Além do mais, o herbicida imazapir+imazapique (Kifix<sup>®</sup>) pode apresentar efeito residual mais acentuado ao longo dos anos, já que é necessário um ambiente propício para sua dissipação (altas temperaturas, pH ameno e umidade) e o inverno no RS é de baixa incidência luminosa e áreas alagadas. Desta maneira, acredita-se na possibilidade de seleção de organismos em lavouras de arroz em longo prazo, sendo necessários estudos em um período mínimo de duas safras. Nesse sentido, há uma necessidade de maiores informações quanto à toxicidade e persistência da mistura herbicida imazapir+imazapique (Kifix<sup>®</sup>) demonstrando a taxa de dissipação destes compostos além de, correlacionar com áreas hídricas (lagos e rios) que servem de drenagem para lavouras de arroz.

## **Conclusões**

A adição da mistura herbicida imazapir+imazapique (Kifix<sup>®</sup>), bem como os compostos isolados provocam alterações na densidade e diversidade dos taxa que compõem o fitoplâncton na lavoura de arroz irrigado nos primeiros dias após aplicação destes herbicidas. Logo, as alterações na dinâmica da comunidade fitoplanctônica são reversíveis.

## **Referências bibliográficas**

ABESSA, D. M. S. et. al. Influence of a Brazilian sewage outfall on the toxicity and contamination of adjacent sediments. **Marine Pollution Bulletin**, v. 50, n 8, p. 875-885, 2005.

AGOSTINETTO, D. et al. Arroz vermelho: ecofisiologia e estratégias de controle. **Ciência Rural**, v. 31, n. 2, p. 341-349, 2001.

AMERICAN PUBLIC HEALTH ASSOCIATION (APHA) 1995. **Standart methods for the examination of water and wasterwater**. Byrd PrepressSpringfield, Washington.

ARMAS, E. D. et. al. Diagnóstico espaço-temporal da ocorrência de herbicidas nas águas superficiais e sedimentos do Rio Comburataí e principais afluentes. **Química Nova**, v. 30, n. 5, p.1119-1127, 2007.

BAMBARADENIYA, C. N. B. Ecology and biodiversity in a irrigated rice field ecosystem in Sri Lanka. 2000. 525f. Tese de Doutorado, Universidade de Peradeniya, Sri Lanka.

BAMBARADENIYA, C. N. B. et. al. Biodiversity associated with an irrigated rice agro-ecosystem in Sri Lanka. **Biodiversity and Conservation**, n.13, p. 1715–1753, 2004.

BATTAGLIN, W. A., et al. Occurrence of sulfonylurea, sulphonamide, imidazolinone and other herbicides in rivers, reservoirs and ground water in the Midwestern United States, 1998. **Science Total Environmental**, v. 248, n. 2-3, p. 123-133, 2000.

BICUDO, C. E; MENEZES, M. **Gêneros de algas continentais do Brasil**. Editora RIMA. p. 508, 2005.

BICUDO, C. E.; MENEZES, M. **Gêneros de algas de águas continentais do Brasil (chave para identificação e descrições)** 2ª edição. São Carlos: Rima, 2006.

BÖRJESSON, E. et al. The fate of imazapyr in a Swedish railway embankment. **Pest Management Science**, v. 60, n. 6, p. 544-549, 2004.

BRAAK, C. J. F; SMILAVER, P. CANOCO – Reference Manual and Uses's Guide to Canoco for Windows: Softawere for canonical Community Ordination (version 4). Microcomputer Power (Ithaca, NY, USA), 352p, 1998.

BROCK, T.C.M.; ARTS, G.H.P.; MALTBY, L.; VAN DEN BRINK, P.J. Aquatic risks of pesticides, ecological protection goals, and common aims in European Union legislation. **Integrated Environmental Assessment and Management**, v. 2, p.20–46, 2006.

CAMPAGNA, A. F. **Toxicidade dos sedimentos da Bacia Hidrográfica do Rio Monjolinho (São Carlos – SP): ênfase nas substâncias cobre, aldrin e heptacloro**. 2005. 281f. Dissertação (Mestrado em Zootecnia). Universidade de São Paulo, Pirassununga, SP.

CARMICHAEL, W. W. Cyanobacteria secondary metabolites- the cyanotoxins. **Journal of Applied Bacteriology**, Oxford, v. 72, p. 445-459, 1992.

CASTILLO, L.E.; CRUZ, E.; RUEPERT, C. Ecotoxicology and pesticides in tropical aquatic ecosystems of Central America. **Environmental Toxicology and Chemistry**, v. 16, p. 41–51, 1997.

CETESB. Variáveis de qualidade das águas. Disponível em: <http://www.cetesb.sp.gov.br/>. Acessado em: 10 de dez. 2011.

CHANG, K. H. et. al. Response of the plankton community to herbicide application (triazine herbicide, simetryn) in a eutrophicated system: short-term exposure experiment using microcosms. **Limnology**, v. 16, p. 11-12, 2011.

CLARKE, K. R.; GORLEY, R. N. Software PRIMER v5. **Plymouth, PRIMER-E**. UK. 2001.

CORTES, R. et. al. Qualidade biológica dos ecossistemas fluviais. *In* MOREIRA, I, FERREIRA, M.T., CORTES, R. M. V., PINTO, P.; ALMEIDA, P.R. (EDITORES) - **Ecossistemas Aquáticos e Ribeirinhos**. Instituto da Água, Ministério das Cidades, Ordenamento do Território e Ambiente, Lisboa, 2002.

COUTINHO, H. D.; BARBOSA, A. R. Fitorremediação: considerações gerais e características de utilização. **Silva Lusitana**, Lisboa, v. 15, n. 1, p. 103-117, 2007

DAAM, M.A.; RODRIGUES, A. M. F.; VAN DEN BRINK, P.J.; NOGUEIRA, A. J. A. Ecological effects of the herbicide linuron in tropical freshwater microcosms. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 72, p. 410–423, 2009.

DAAM, M. A; SATAPORNVANIT, K.; VAN DEN BRINK, P. J.; NOGUEIRA, A. J.A. Sensitivity of macroinvertebrates to carbendazim under semi-field conditions in Thailand: Implications for the use of temperate toxicity data in a tropical risk assessment of fungicides. **Chemosphere**, v. 74, p. 1187–1194, 2009.

DELLAMATRICE, P. M.; MONTEIRO, R. T. R. Toxicidade de resíduos têxteis tratados por microrganismos. **Journal of the Brazilian Society of Ecotoxicology**, v.1, n. 1, p. 63-66, 2006.

DESCHAMPS, F. C., et. al. (2003). Aplicação de um índice de qualidade (IQA) na avaliação da água de áreas cultivadas com arroz irrigado. **Anais...do III Congresso Brasileiro de Arroz Irrigado e XXV Reunião da Cultura do Arroz Irrigado**, Balneário Camboriú, SC, 2003, pp. 706-708.

DIXON, W. J. BMDPS Statistical Software Manual. **University of California Press, Berkeley, CA**, 1997.

DORNFELD, C. B. et. al. Comparação de bioensaios laboratoriais e *is situ* utilizando *Chironomus xanthus* na avaliação de toxicidade de sedimentos do rio Monjolinho (São Carlos, SP). **Journal of the Brazilian Society of Ecotoxicology**, v. 1, p. 161-166, 2006.

ESTEVEES, F. A. 1998. **Fundamentos de Limnologia**. Rio de Janeiro. Interciência 602p.

FLINT, J. L.; WITT, W. W. Microbial degradation of imazaquin and imazethapyr. **Weed Science**, v. 45, n. 4, p. 586-591, 1997.

FRACÁCIO, R. **Estudos limnológicos e ecotoxicológicos (laboratoriais e *in situ*), com ênfase na avaliação da toxicidade de metais e de pesticidas organoclorados em peixes (*Danio rerio* e *Poecilia reticulata*) – Sub-bacia do rio Monjolinho**. 2006. 209f. Tese. (Doutorado em Ecologia e Recursos Naturais), São Carlos, São Paulo.

FRANCESCHINI, J. M. Algues d'eau douce de Porto Alegre, Brésil (les Diatomophycées exclues). **Biblioteca Phycologica**. Berlin, Stuttgart, 1992.

GRADHOL, S. T. S. **Avaliação dos riscos ambientais e ecotoxicológicos de reuso de águas residuárias em piscicultura**. 2006. 164f. Dissertação (Mestrado em Engenharia Hidráulica e Ambiental). Universidade Federal do Ceará, Fortaleza.

HELLAWELL, J. M. Biological indicators of freshwater pollution and environmental management. **Elsevier Applied Science**. London, Pollution Monitoring Series, 1989.

HUET, M. **Tratado de Piscicultura**. 3. ed. Madrid: Ediciones Mundi-Prensa. 1998. 745 p.

JOHN, D. M.; WHITTON, B. A.; BROOK, A. J. **The Freshwater Algal Flora of the British Isles: An Identification Guide to Freshwater and Terrestrial Algae**. Cambridge University, 2002.

JOHNSON, I. et. al. Bioassay selection, experimental design and quality control/assurance for use in effluent assessment and control. **Ecotoxicology**, v. 13, p. 437–447, 2004.

JOURDAN, S. W. et al. Imazethapyr bioactivity and movement in soil. **Weed Science**, v. 46, n. 5, p. 608-613, 1998.

KARLSSON, S.I. Institutionalized knowledge challenges in pesticide governance: the end of knowledge and beginning of values in governing globalized environmental issues. **International Environmental Agreements: Politics**, v. 4, p. 195–213, 2004.

KLAINE, S. J.; LEWIS, M. A. Algal and plant toxicity testing. In: HOFFMAN, D. J. et al. (Eds.). **Hand-book of Ecotoxicology**. Boca Raton: CRC, 1995. p. 163-184.

KASAI, F. Shifts in herbicide tolerance in paddy field periphyton following herbicide application. **Chemosphere**, v. 38, p. 919-931, 1999.

KENNEDY, J. H. et. al. Model aquatic ecosystems in ecotoxicological research: considerations of design, implementation and analysis. In: Hoffman, D. J.; Rattner, B. A.; Burton, G. A. e Cairns, J. **Handbook of Ecotoxicology**. Second edition. Lewis Publishers. 1312 p, 2003.

KNAUERT, S. et. al. Sensitivity, variability, and recovery of functional parameters and structural of a aquatic community exposed to herbicides. **Toxicology and Chemistry**, Apr., v. 28, n. 4, p, 836-45, 2009.

KNIE, J. L. W.; LOPES, E. W. B. Testes Ecotoxicológicos: métodos, técnicas e aplicações. Florianópolis: FATMA / GTZ, 2004. 289p, 2004.

KUBITZA, F. Questões frequentes dos produtores sobre a qualidade dos alevinos de tilápia. **Revista Panorama da Aquicultura**, v. 16, n. 97, p. 14-23, 2006.

KWOK, K. W. H. et al. Comparison of tropical and temperate freshwater species sensitivities to chemicals: implications for deriving safe extrapolation factors. **Integrated Environmental Assessment and Management**, v. 3, p. 49–67, 2007.

LABMET. LABORATÓRIO DE METEOROLOGIA. Disponível em: <http://www.nemrh.uema.br/meteoro/elnino.htm>. Acessado em: 02. jan. 2013.

LACHER Jr., T.E., GOLDSTEIN, M.I. Tropical ecotoxicology: status and needs. **Environmental Toxicology and Chemistry**, v. 16, p. 100–111, 1997.

LANDIS, W. G.; YU, M. H. Introduction to environmental toxicology: impacts of chemicals upon ecological systems. 3. ed. New York: **Lewis Publishers**, 484 p., 2003.

LANDSTEIN, D. et. al. Metabolic response of *Chlorella emersonii* to the herbicide sulfometuron methyl. **Planta**, n. 197, p. 219–224, 1995.

LAWLER, S. P. Rice fields as temporary wetlands: a review. **Israel Journal of Zoology**, v. 47, p. 513 – 528, 2001.

LOUX, M. M.; LIEBL, R. A.; SLIFE, F. W. Adsorption of imazaquin and imazethapyr on soils, sediments and selected sorbents. **Weed Science**, v. 37, p. 712-718, 1989.

MA, J. et al. Toxicity of 40 herbicides to the green alga *Chlorella vulgaris*. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 51, p. 128-132, 2002.

MACHADO, F. P. **Contribuição ao estudo do clima do RS.**, Rio de Janeiro: IBGE-Conselho Nacional de Geografia, 1950. 91 p.

MALTBY, L.; BLAKE, N.; BROCK, T. C. M.; VAN DEN BRINK, P. J. Insecticide species sensitivity distributions: importance of test species selection and relevance to aquatic ecosystems. **Environmental Toxicology and Chemistry**, v. 24, p. 379–388, 2005.

MANGELS, G. Behavior of the imidazolinone herbicides in soil – a review of the literature. In: Shaner, D. L.; CONNOR, S. L. **The imidazolinone herbicides**. Boca Raton: **CRO Press**, p. 191-209, 1991.

MARGALEF, R. **Limnologia**. Barcelona: Omega, 1983. 1010 p.

MARQUES, C. R.; PEREIRA, R.; GONÇALVES, F. Toxicity evaluation of natural samples from the vicinity of rice fields using two trophic levels. **Environmental Monitoring and Assessment**, v. 180, p. 521-536, 2011.

MINISTÉRIO DA SAÚDE. Vigilância e controle da qualidade da água para consumo humano. Ministério da saúde, Secretaria de vigilância em saúde, Coordenação-geral de vigilância em saúde ambiental. Brasília - DF. 2006.

MINISTÉRIO DO MEIO AMBIENTE, BRASIL. **Resolução CONAMA nº 357 de 03/2005**. Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil, Poder Executivo, Brasília, DF, 17 mar. 2005. Seção 1, p. 58-63.

MOHR, S. M. et. Al. Response of plankton communities in freshwater pond and stream mesocosms to the herbicide metazachlor. **Environmental Pollution**, v.152, n.3, p.530-542, apr. 2008.

MORIN, S. M. et. al. Linking diatom community structure to pesticide input as evaluated through a spatial contamination potential (Phytopixal): A case study in the Neste river system (South-West France). **Aquatic Toxicology**, v. 94, p. 28–39, 2009.

MOSER, T. et. Al. The use of the multivariate Principal Response Curve (PRC) for community level analysis: a case study on the effects of carbendazim on enchytraeids in Terrestrial Model Ecosystems (TME). **Ecotoxicology**, v. 16, p. 573-583, 2007.

NETHERLAND, M. D.; LEMBI, C. A; GLOMSKI, L. M. Potential for selective activity of the ALS inhibitors penoxsulam, bispyribac-sodium, and imazamox on algae responsible for harmful blooms. **Journal of Aquatic Plant Management** v. 47, p. 147-150, 2009.

NIEKAMP, J. W.; JOHNSON, W. G. Weed management with sulfentrazone and flumioxazin in no-tillage soybean (*Glycine max*). **Crop Protection**, v. 20, n.3, p.215-220, 2001.

NYHOLM, N.; KÄLLQVIST, T. Methods for growth inhibition toxicity tests with freshwater algae. **Environmental Toxicology and Chemistry**, v. 8, p. 689–703, 1989.



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

NOGUEIRA, V. P. Q. Qualidade da água em lagos e reservatórios. In: PORTO, R. L. L. (Org.). **Hidrologia ambiental**. São Paulo: ABRH. p. 165-210, 1991.

OLIVEIRA J. R. Conceitos importantes no estudo do comportamento de herbicidas no solo. **Boletim Informativo – Sociedade Brasileira de Ciência do Solo**, v.27, n. 2, p.9-13, 2001.

OTTIS, B. V. et al. Imazethapyr application methods and sequences for imidazolinone-tolerant rice (*Oryza sativa*). **Weed Technolony**., v. 17, n. 3, p. 526-533, 2003.

PANNARD, A.; ROUZIC, B. L.; BINET, F. Response of phytoplankton community to low-dose atrazine exposure combined with phosphorus fluctuations. **Archives of Environmental Contamination and Toxicology**, n. 57, p. 50–59, 2009.

PARDOS, M.; BENNINGHOFF, C.; THOMAS, R. L. Photosynthetic and population growth response of the test alga *Selenastrum capricornutum* Printz to zinc, cadmium and suspended sediment elutriates. **Journal of Applied Phycology**, v. 10, p. 145–151, 1998.

PETERSON, H. G. et. al. Aquatic phyto-toxicity of 23 pesticides applied at Expected Environmental Concentrations. **Aquatic toxicology**, v. 28, p. 275-292, 1994.

RACKE, K.D. What do we know about the fate of pesticides in tropical ecosystems? **ACS Symposium Series**, v. 853, p. 96–123, 2003.

REIMCHE, G. B. **Impacto de agroquímicos usados na lavoura de arroz irrigado sobre a qualidade da água de irrigação e na comunidade zooplanctônica**. 2010. 115f. Dissertação (Mestrado em Agronomia)- Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, RS.

REUNIÃO TÉCNICA DA CULTURA DO ARROZ IRRIGADO. **Arroz irrigado: recomendações técnicas da pesquisa para o Sul do Brasil**. 28. Reunião Técnica da Cultura do Arroz Irrigado, 11 a 13 de agosto de 2010, Bento Gonçalves, RS. - Porto Alegre: SOSBAI, 2010. 188 p.

RODRIGUEZ, B. K. **Caracterização ambiental da bacia do alto Jacaré-Gauçu (experimentos laboratoriais e *in situ*): elaboração de sedimentos sintéticos para a avaliação da toxicidade do cádmio.** 2011. 221f. Tese (Doutorado em Ecologia e Recursos Naturais). – Universidade Federal de São Carlos, São Carlos, SP.

RODRIGUES, B. N.; ALMEIDA, F. S. **Guia de Herbicidas.** 5 ed. Londrina, 2005.

SARTORI, G. M. S. Manejo da adubação e seus efeitos na ocorrência de algas e na produtividade de arroz irrigado em áreas com residual de imidazolinonas. **Ciência Rural**, v.41, n. 8, p. 1323-1330, 2011.

SAWYER, C. N., MCCARTY, P. L. PARKIN, G. F. “Chemistry For Environmental Engineering”. 4th Edition. New York, **Mcgraw-Hill Book Company**, 1994.

SILVA, J. M.; SANTOS, J. R. Toxicologia de agrotóxicos em ambientes aquáticos. **Oecologia Brasiliensis**, v. 11, n. 4, p. 565-573, 2007.

SINDICATO NACIONAL DA INDÚSTRIA DE PRODUTOS PARA DEFESA AGRÍCOLA (SINGAG, 2009). **Defensivos Agrícolas no Brasil.** Disponível em: <http://www.sindag.com.br/upload/OSetordeDefensivosagricolasnoBrasil.doc>. Acessado em: 10 abr. 2011.

SIPAÚBA-TAVARES, L. H, **Limnologia aplicada a aquicultura.** Jaboticabal: FUNEP, Boletim Técnico n. 1, p. 70, 1994.

STEELE, G. L. et al. Control of red rice (*Oryza sativa*) in imidazolinone-tolerant rice (*O. sativa*). **Weed Technology**., v. 16, n. 3, p. 627-630, 2002.

SUÁREZ-SERRANO, A. et. al. Ecotoxicological effects of rice field waters on selected planktonic species: comparison between conventional and organic farming. **Ecotoxicology**, v. 19, p. 1523-1535, 2010.

ter BRAACK, C. J. F.; SMILAUER. 2002. **CANOCO Reference manual and CanocoDraw for Windows user's guide.** Software for canonical community ordination (version 4.5). Ithaca, Microcomputer Power, 500p.

THOMAS, R. L. A. Protocol for selection of process-oriented remedial options to control *in situ* sediment contaminants. Ecological effects of *in situ* sediment contaminants. **Hydrobiology**. v. 49, p. 247-258, 1987.

TONISSI, F. B.; ESPÍNOLA, E. L. G. Utilização de bioensaios agudos, crônico-parcial e *in situ* com *Danio rerio* para avaliação ecotoxicológica do reservatório de Salto Grande (Americana, SP). In: ESPÍNOLA, E. L. G. ET. AL. **Ecotoxicologia**. São Carlos: RiMa, p. 483-500, 2002.

UEHLINGER, V. Etude statistique des methods de denobrement planctonique. **Archaeological Science**, v. 17, n. 2, p. 121 – 123, 1964.

USEPA – **United States Environmental Protection Agency**. Ecological Risk Assessment Guidance for Superfund: Process for designing and conducting ecological risk assessments – EPA540-R-97-006. 1997.

UTERMÖHL, H. Zur Vervollkommung der quantitativen PHYtoplankton – Methodic. Verhandlungen der Internationalen Vereinigung für Theoretische und Angewandte **Limnologie**, v. 9, p. 1-38, 1958.

van DEN BRINK, P. J. et. al. Impact of the fungicide carbendazim in freshwater microcosms. II. Zooplankton, primary producers and final conclusions. **Aquatic Toxicology**, v. 48, p. 251–264, 2009.

van DEN BRINK, P. J.; TER BRAAK C. J. F. Ordination of responses to toxic stress in experimental ecosystems. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, n. 4, p. 174-178, 1997.

VIEIRA, B. H. **Efeito do agrotóxico Vertimec<sup>®</sup> no fitoplâncton: um estudo laboratorial e “*in situ*”**. 2010. 181f. . Dissertação (Ciências da Engenharia Ambiental) – Universidade Federal de São Carlos, São Carlos, SP.

WANG, X. et al. Degradation and metabolism of imazapyr in soils under aerobic and anaerobic conditions. **Environmental Chemistry**, n. 8, p. 541-551, 2006.

WEBER, L. **Consumo da água e cultivares de arroz irrigado em diferentes sistemas de cultivares de arroz irrigado em diferentes sistemas de cultivo**. Dissertação. 2001. (Mestrado em Agronomia) – Universidade de Santa Maria, Santa Maria, RS.

WEI, L. et. al. The effects of three sulfonylurea herbicides and their degradation products on the green algae *Chlorella pyrenoidosa*. **Chemosphere**, v. 37, p. 747-751, 1998.

WENDT-RASCH, L.; PIRZADEH, P.; WOIN, P. Effects of metsulfuron methyl and cypermethrin exposure on freshwater model ecosystems. **Aquatic Toxicology**, v. 63, p. 243-256, 2003.

WENDT-RASCH, L. ET. AL. The effects of a pesticide mixture on aquatic ecosystems differing in trophic status: responses of the macrophyte *Myriophyllum spicatum* and the periphytic algal community. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 57, p. 383–398, 2004.

ZANELLA, R.; KURZ, M. H. S.; Mistura C. M. Development and validation of a high-performance liquid chromatographic procedure for the determination of herbicide residues in surface and agriculture waters. **Journal of Separation Science** v. 26, p. 935-938, 2003.

## SUGESTÕES PARA FUTURAS PESQUISAS

- Para esclarecimento de quais os fatores, ou conjuntos de fatores responsáveis pela influência sobre a resposta de algumas espécies nesse estudo, recomenda-se um teste de toxicidade em laboratório para os herbicidas imazapir+imazapique (Kifix<sup>®</sup>), a fim de isolar o efeito dos agroquímicos sobre a comunidade fitoplanctônica. Também, é interessante confrontar a mistura herbicida imazapir+imazapique (Kifix<sup>®</sup>) e o produto técnico, a fim de constatar se há diferenças entre estes mecanismos.
- Para compreender o efeito residual do herbicida imazapir+imazapique (Kifix<sup>®</sup>), na comunidade fitoplanctônica são necessários estudos mais prolongados (mínimo duas safras) já que, em longo prazo pode haver seleção de algumas espécies devido à residualidade destes compostos.
- O papel do banhado na natureza é de garantir a sobrevivência do seu ecossistema vizinho, normalmente lagoas e rios. Quando há uma seca, o banhado fornece água para o entorno e, quando há cheia, retém. Como os banhados são muito ricos em matéria-orgânica, em decorrência da decomposição de juncos e gramíneas, também têm uma vida extremamente rica. Entretanto este ecossistema vem sendo destruído para construção de áreas agrícolas, principalmente lavouras de arroz; todavia não há registros da ecologia de algas destes sistemas, o que é fundamental para um entendimento destes ambientes e compará-los com o ecossistema lavoura de arroz irrigado.

## **APÊNDICES**

**Apêndice 1.** Variáveis da Análise de Componentes Principais (PCA) dos pontos de amostragem: 1°, 13°, 50° 84° e 113° DAAH.

Variáveis Ambientais	PC1	PC2	PC3	PC4	PC5
Acalinidade	0,525	0,098	0,082	-0,04	0,288
pH	0,034	0,297	0,551	0,724	0,17
Turbidez	0,493	0,228	0,144	0,213	0,164
Cond. Elétrica	0,462	0,09	0,312	0,17	0,042
Dureza	0,437	0,014	0,419	0,129	0,177
Nitrato	0,032	0,669	0,067	0,408	0,487
Fosfato	0,089	0,623	0,218	0,154	0,648
DBO	0,258	0,072	0,587	0,441	0,413

**Apêndice 2.** Valores da variância dos eixos principal e horizontal e teste de permutação de Monte Carlo da Curva de Resposta Principal (PRC).

<b>Summary</b>					
<b>Axes</b>	<b>1</b>	<b>2</b>	<b>3</b>	<b>4</b>	<b>Total variance</b>
Eigenvalues	0.049	0.038	0.027	0.021	1000
Species-environment correlations	0.881	0.832	0.804	0.713	
Cumulative percentage variance of species data	7.1	12.5	16.4	19.3	
of species-environment relation	23.5	41.6	54.4	64.2	
Sum of all eigenvalues					0.695
Sum of all canonical eigenvalues					0.209
<b>Percentage of variance accounted for by</b>					
Time	30,5				
Differences between replicates	48,6				
Treatment	20,9				
Percentage of treatment variance displayed in first PRC	23.5				
<b>Summary of Monte Carlo test</b>					
Test of significance of first canonical axis: eigenvalue =	0.049				
F-ratio =	4.561				
P-value =	0.0020				

		Tukey HSD test; variable DV_1 (Spreadsheet1) Approximate Probabilities for Post Hoc Tests Error: Between; Within; Pooled MS = 1.2068, df = 58.964																				A
Cell No.	Tratamentos	TIME	{1}	{2}	{3}	{4}	{5}	{6}	{7}	{8}	{9}	{10}	{11}	{12}	{13}	{14}	{15}	{16}	{17}	{18}	{19}	{20}
1	KI	1	0.0000	3.4748	2.0935	2.1985	4.1743	0.0000	3.1187	1.1850	2.5334	4.3587	0.0000	1.6668	1.9452	4.0542	3.4010	3.5428	4.7884	5.4657	1.4595	4.5509
2	KI	13	0.004021		0.941123	0.971013	0.999987	0.005143	1.000000	0.293969	0.999483	0.999783	0.005143	0.708466	0.901709	1.000000	1.000000	1.000000	0.973974	0.042415	0.521311	0.997103
3	KI	50	0.393883	0.941123		1.000000	0.404544	0.451337	0.998419	0.999682	1.000000	0.311724	0.451337	1.000000	1.000000	0.571374	0.975119	0.936376	0.093488	0.892961	0.999999	0.190299
4	KI	84	0.310906	0.971013	1.000000		0.497605	0.362880	0.999621	0.998644	1.000000	0.394099	0.362880	1.000000	1.000000	0.666827	0.989531	0.967524	0.129622	0.829756	0.999984	0.251597
5	KI	113	0.000343	0.999987	0.404544	0.497605		0.000388	0.997709	0.034054	0.837164	1.000000	0.000388	0.165296	0.338868	1.000000	0.999969	0.999999	0.999999	0.002744	0.087698	1.000000
6	IM	1	1.000000	0.005143	0.451337	0.362880	0.000388		0.016373	0.986162	0.124754	0.000247	1.000000	0.819505	0.585622	0.000552	0.006943	0.003891	0.000182	1.000000	0.932533	0.000203
7	IM	13	0.021074	1.000000	0.998419	0.999621	0.997709	0.016373		0.536346	0.999999	0.978072	0.021074	0.935408	0.992009	0.999526	1.000000	1.000000	0.817408	0.136758	0.824765	0.942464
8	IM	50	0.991094	0.293969	0.999682	0.998644	0.034054	0.986162	0.536346		0.952140	0.013240	0.991094	1.000000	0.999076	0.052198	0.348095	0.248186	0.003031	0.999998	1.000000	0.007999
9	IM	84	0.153311	0.999483	1.000000	1.000000	0.837164	0.124754	0.999999	0.952149		0.636929	0.153311	0.999835	1.000000	0.906032	0.999833	0.998713	0.319252	0.547394	0.997173	0.519325
10	IM	113	0.000253	0.999783	0.311724	0.394099	1.000000	0.000247	0.978072	0.013240	0.636929		0.000253	0.094405	0.214485	1.000000	0.999351	0.999931	1.000000	0.001309	0.046997	1.000000
11	IZ	1	1.000000	0.005143	0.451337	0.362880	0.000388	1.000000	0.021074	0.991094	0.153311	0.000253		0.774326	0.525733	0.000478	0.005413	0.003891	0.000182	1.000000	0.932533	0.000203
12	IZ	13	0.819505	0.708466	1.000000	1.000000	0.165296	0.819505	0.935408	1.000000	0.999835	0.094405	0.774326		1.000000	0.190938	0.718351	0.648651	0.020832	0.995305	1.000000	0.049544
13	IZ	50	0.585622	0.901709	1.000000	1.000000	0.338868	0.585622	0.992009	0.999976	1.000000	0.214485	0.525733	1.000000		0.380970	0.909989	0.864552	0.057092	0.953280	1.000000	0.123547
14	IZ	84	0.000552	1.000000	0.571374	0.666827	1.000000	0.000552	0.999526	0.052198	0.906032	1.000000	0.000478	0.190938	0.380970		0.999995	1.000000	0.999986	0.004501	0.127768	1.000000
15	IZ	113	0.006943	1.000000	0.975119	0.989531	0.999969	0.006943	1.000000	0.348995	0.999833	0.999351	0.005413	0.718351	0.909989	0.999995		1.000000	0.956532	0.025930	0.588933	0.993639
16	CO	1	0.003891	1.000000	0.936376	0.967524	0.999999	0.003891	1.000000	0.248186	0.999813	0.003891	0.648651	0.864552	1.000000	1.000000		0.977071	0.054930	0.025950	0.000298	0.999387
17	CO	13	0.000182	0.973974	0.093488	0.129622	0.999999	0.000182	0.817408	0.003031	0.319252	1.000000	0.000182	0.020832	0.057092	0.999986	0.956532	0.977071		0.000298	0.007212	1.000000
18	CO	50	1.000000	0.042415	0.892961	0.829756	0.002744	1.000000	0.136758	0.999998	0.547394	0.001309	1.000000	0.995305	0.953280	0.004501	0.054930	0.025950	0.000298		0.999387	0.000560
19	CO	84	0.932533	0.521311	0.999999	0.999984	0.087698	0.932533	0.824765	1.000000	0.997173	0.046997	0.932533	1.000000	1.000000	0.127768	0.588933	0.402466	0.007212	0.999387		0.018152
20	CO	113	0.000203	0.997103	0.190299	0.251597	1.000000	0.000203	0.942464	0.007999	0.519325	1.000000	0.000203	0.049544	0.123547	1.000000	0.993639	0.997802	1.000000	0.000560	0.018152	

		Tukey HSD test; variable DV_1 (Spreadsheet1) Approximate Probabilities for Post Hoc Tests Error: Between; Within; Pooled MS = 1.0599, df = 59.980																				B
Cell No.	Tratamentos	TIME	{1}	{2}	{3}	{4}	{5}	{6}	{7}	{8}	{9}	{10}	{11}	{12}	{13}	{14}	{15}	{16}	{17}	{18}	{19}	{20}
1	KI	1	0.0000	1.000000	0.999977	0.703014	0.000701	1.000000	1.000000	0.353584	0.683598	0.000774	1.000000	0.999810	0.005977	0.001275	0.000843	0.000250	0.000292	0.541852	0.007401	0.000452
2	KI	13	1.000000		0.999977	0.703014	0.000701	1.000000	1.000000	0.353584	0.683598	0.000774	1.000000	0.999810	0.005977	0.001275	0.000843	0.000250	0.000292	0.541852	0.007401	0.000452
3	KI	50	0.999977	0.999977		0.997221	0.011482	0.999980	0.999980	0.933677	0.998858	0.015556	0.999980	1.000000	0.097195	0.025956	0.017075	0.002958	0.004226	0.985559	0.114673	0.008174
4	KI	84	0.703014	0.703014	0.997221		0.322735	0.697126	0.697126	1.000000	0.422819	0.697126	0.999460	0.855616	0.542675	0.443790	0.151586	0.193703	1.000000	0.886236	0.294667	
5	KI	113	0.000701	0.000701	0.011482	0.322735		0.000485	0.000485	0.644390	0.319826	1.000000	0.000485	0.014393	0.999998	1.000000	1.000000	1.000000	1.000000	0.447347	0.999992	1.000000
6	IM	1	1.000000	1.000000	0.999980	0.697126	0.000485		1.000000	0.367488	0.689876	0.001139	1.000000	0.999810	0.005977	0.001275	0.000843	0.000250	0.000292	0.541852	0.007401	0.000452
7	IM	13	1.000000	1.000000	0.999980	0.697126	0.000485	1.000000		0.367488	0.689876	0.001139	1.000000	0.999810	0.005977	0.001275	0.000843	0.000250	0.000292	0.541852	0.007401	0.000452
8	IM	50	0.353584	0.353584	0.933677	1.000000	0.644390	0.367488	0.367488		1.000000	0.770800	0.353584	0.970006	0.987391	0.861226	0.785599	0.404227	0.479298	1.000000	0.992200	0.627107
9	IM	84	0.683598	0.683598	0.998858	1.000000	0.319826	0.689876	0.689876	1.000000		0.448767	0.683598	0.999329	0.865065	0.556888	0.457375	0.158658	0.202105	1.000000	0.894425	0.305788
10	IM	113	0.000774	0.000774	0.015556	0.422819	1.000000	0.001139	0.001139	0.770800	0.448767		0.000774	0.024945	1.000000	1.000000	1.000000	1.000000	1.000000	0.577092	1.000000	1.000000
11	IZ	1	1.000000	1.000000	0.999980	0.697126	0.000485	1.000000	1.000000	0.353584	0.683598	0.000774		0.999794	0.007994	0.001863	0.001241	0.000250	0.000292	0.541852	0.007401	0.000452
12	IZ	13	0.999810	0.999810	1.000000	0.999460	0.014393	0.999810	0.999810	0.970006	0.999329	0.024945	0.999794		0.155092	0.047949	0.032937	0.004923	0.006994	0.995506	0.165831	0.013360
13	IZ	50	0.005977	0.005977	0.097195	0.855616	0.999998	0.005977	0.005977	0.987391	0.865065	1.000000	0.007994	0.155092		1.000000	1.000000	0.999606	0.999900	0.939525	1.000000	0.999996
14	IZ	84	0.001275	0.001275	0.025956	0.542675	1.000000	0.001275	0.001275	0.861226	0.556888	1.000000	0.001863	0.047949	1.000000		1.000000	1.000000	1.000000	0.697906	1.000000	1.000000
15	IZ	113	0.000843	0.000843	0.017075	0.443790	1.000000	0.000843	0.000843	0.785599	0.457375	1.000000	0.001241	0.032937	1.000000	1.000000	1.000000	1.000000	1.000000	0.599191	1.000000	1.000000
16	CO	1	0.000250	0.000250	0.002958	0.151586	1.000000	0.000250	0.000250	0.404227	0.158658	1.000000	0.000250	0.004923	0.999606	1.000000	1.000000		1.000000	0.257791	0.999115	1.000000
17	CO	13	0.000292	0.000292	0.004226	0.193703	1.000000	0.000292	0.000292	0.479298	0.202105	1.000000	0.000292	0.006994	0.999900	1.000000	1.000000	1.000000		0.315915	0.999743	1.000000
18	CO	50	0.541852	0.541852	0.985559	1.000000	0.447347	0.541852	0.541852	1.000000	1.000000	0.577092	0.541852	0.995506	0.939525	0.697906	0.599191	0.257791	0.315915		0.956018	0.443303
19	CO	84	0.007401	0.007401	0.114673	0.886236	0.999992	0.007401	0.007401	0.992200	0.894425	1.000000	0.007401	0.165831	1.000000	1.000000	1.000000	0.999115	0.999743	0.956018		0.999986
20	CO</																					



Tukey HSD test; variable DV_1 (Spreadsheet1)																						
Approximate Probabilities for Post Hoc Tests																						
Error: Between; Within; Pooled MS = 1.7884, df = 59.879																						
Cell No.	Tratamentos	TIME	{1}	{2}	{3}	{4}	{5}	{6}	{7}	{8}	{9}	{10}	{11}	{12}	{13}	{14}	{15}	{16}	{17}	{18}	{19}	{20}
			0.0000	0.0000	3.0578	6.4081	5.8279	0.0000	0.0000	1.8063	4.4031	4.5498	0.0000	0.0000	9.1289	5.8460	3.5547	4.4659	2.9001	3.3568	7.1192	5.2967
1	KI	1		1.000000	0.157919	0.000175	0.000187	1.000000	1.000000	0.923048	0.002829	0.001732	1.000000	1.000000	0.999981	0.000181	0.043476	0.002290	0.232838	0.076086	0.000174	0.000253
2	KI	13	1.000000		0.157919	0.000175	0.000187	1.000000	1.000000	0.923048	0.002829	0.001732	1.000000	1.000000	0.999981	0.000181	0.043476	0.002290	0.232838	0.076086	0.000174	0.000253
3	KI	50	0.157919	0.157919		0.076118	0.292786	0.163110	0.163110	0.998382	0.996034	0.987260	0.163110	0.163110	0.747655	1.000000	0.993261	1.000000	0.993261	1.000000	0.008918	0.681934
4	KI	84	0.000175	0.000175	0.076118		1.000000	0.000174	0.000174	0.001460	0.833566	0.903646	0.000174	0.000174	0.000207	1.000000	0.257047	0.866270	0.049781	0.165592	1.000000	0.999664
5	KI	113	0.000187	0.000187	0.292786	1.000000		0.000181	0.000181	0.010165	0.992304	0.997879	0.000181	0.000181	0.000572	1.000000	0.656916	0.995413	0.219284	0.508410	0.997593	1.000000
6	IM	1	1.000000	1.000000	0.163110	0.000174	0.000181		1.000000	0.912872	0.003174	0.001985	1.000000	1.000000	0.999981	0.000181	0.043476	0.002290	0.232838	0.076086	0.000174	0.000253
7	IM	13	1.000000	1.000000	0.163110	0.000174	0.000181	1.000000		0.912872	0.003174	0.001985	1.000000	1.000000	0.999981	0.000181	0.043476	0.002290	0.232838	0.076086	0.000174	0.000253
8	IM	50	0.923048	0.923048	0.998382	0.001460	0.010165	0.912872	0.912872		0.401746	0.308411	0.923048	0.923048	0.999986	0.009581	0.941394	0.374151	0.999730	0.981013	0.000248	0.052364
9	IM	84	0.002829	0.002829	0.996034	0.833566	0.992304	0.003174	0.003174	0.401746		1.000000	0.002829	0.002829	0.052385	0.991142	0.999994	1.000000	0.986241	0.999855	0.337355	0.999986
10	IM	113	0.001732	0.001732	0.987260	0.903646	0.997879	0.001985	0.001985	0.308411	1.000000		0.001732	0.001732	0.034097	0.997479	0.999930	1.000000	0.965188	0.999131	0.436432	0.999999
11	IZ	1	1.000000	1.000000	0.163110	0.000174	0.000181	1.000000	1.000000	0.923048	0.002829	0.001732		1.000000	0.999973	0.000186	0.043491	0.002290	0.232838	0.076086	0.000174	0.000253
12	IZ	13	1.000000	1.000000	0.163110	0.000174	0.000181	1.000000	1.000000	0.923048	0.002829	0.001732	1.000000		0.999973	0.000186	0.043491	0.002290	0.232838	0.076086	0.000174	0.000253
13	IZ	50	0.999981	0.999981	0.747655	0.000207	0.000572	0.999981	0.999981	0.999986	0.052385	0.034097	0.999973	0.999973		0.000643	0.371682	0.043700	0.843229	0.528823	0.000175	0.003020
14	IZ	84	0.000181	0.000181	0.293576	1.000000	1.000000	0.000181	0.000181	0.009581	0.991142	0.997479	0.000186	0.000186	0.000643		0.624324	0.994648	0.210726	0.494964	0.997978	1.000000
15	IZ	113	0.043476	0.043476	1.000000	0.257047	0.656916	0.043476	0.043476	0.941394	0.999994	0.999930	0.043491	0.043491	0.371682	0.624324		0.999981	1.000000	1.000000	0.042247	0.943214
16	CO	1	0.002290	0.002290	0.993261	0.866270	0.995413	0.002290	0.002290	0.374151	1.000000	1.000000	0.002290	0.002290	0.043700	0.994648	0.999981		0.975034	0.999563	0.364151	0.999994
17	CO	13	0.232838	0.232838	1.000000	0.049781	0.219284	0.232838	0.232838	0.999730	0.986241	0.965188	0.232838	0.232838	0.843229	0.210726	1.000000	0.975034		1.000000	0.005742	0.545861
18	CO	50	0.076086	0.076086	1.000000	0.165592	0.508410	0.076086	0.076086	0.981013	0.999855	0.999131	0.076086	0.076086	0.528823	0.494964	1.000000	0.999563	1.000000		0.023762	0.853391
19	CO	84	0.000174	0.000174	0.008918	1.000000	0.997593	0.000174	0.000174	0.000248	0.337355	0.436432	0.000174	0.000174	0.000175	0.997978	0.042247	0.364151	0.005742	0.023762		0.906645
20	CO	113	0.000253	0.000253	0.681934	0.999664	1.000000	0.000253	0.000253	0.052364	0.999986	0.999999	0.000253	0.000253	0.003020	1.000000	0.943214	0.999994	0.545861	0.853391	0.906645	

Tukey HSD test; variable DV_1 (Spreadsheet1)																						
Approximate Probabilities for Post Hoc Tests																						
Error: Between; Within; Pooled MS = 4.2546, df = 53.855																						
Cell No.	Tratamentos	TIME	{1}	{2}	{3}	{4}	{5}	{6}	{7}	{8}	{9}	{10}	{11}	{12}	{13}	{14}	{15}	{16}	{17}	{18}	{19}	{20}
			0.0000	0.0000	5.6617	4.0599	6.2954	0.0000	1.0555	5.2210	3.8268	4.4546	0.0000	1.2269	4.8723	5.4501	3.3300	6.1973	5.0452	0.0000	5.1224	5.4240
1	KI	1		1.000000	0.012145	0.246607	0.002928	1.000000	1.000000	0.073113	0.501847	0.242016	1.000000	0.999998	0.130719	0.048514	0.736848	0.011223	0.098712	1.000000	0.086688	0.050892
2	KI	13	1.000000		0.012145	0.246607	0.002928	1.000000	1.000000	0.073113	0.501847	0.242016	1.000000	0.999998	0.130719	0.048514	0.736848	0.011223	0.098712	1.000000	0.086688	0.050892
3	KI	50	0.012145	0.012145		0.999460	1.000000	0.032645	0.195702	1.000000	0.999110	0.999998	0.032645	0.248597	1.000000	0.984841	1.000000	0.984841	1.000000	0.032645	1.000000	1.000000
4	KI	84	0.246607	0.246607	0.999460		0.973996	0.394499	0.861853	0.999999	1.000000	1.000000	0.394499	0.910550	1.000000	0.999983	1.000000	0.994130	1.000000	0.394499	1.000000	0.999987
5	KI	113	0.002928	0.002928	1.000000	0.973996		0.009162	0.070741	1.000000	0.973144	0.999072	0.009162	0.094961	0.999975	1.000000	0.874082	1.000000	0.999997	0.009162	0.999999	1.000000
6	IM	1	1.000000	1.000000	0.032645	0.394499	0.009162		0.999999	0.031038	0.339867	0.132045	1.000000	0.999998	0.130719	0.048514	0.736848	0.011223	0.098712	1.000000	0.086688	0.050892
7	IM	13	1.000000	1.000000	0.195702	0.861853	0.070741	0.999999		0.210670	0.848563	0.550166	1.000000	1.000000	0.506631	0.262282	0.988321	0.083867	0.425786	1.000000	0.391409	0.271459
8	IM	50	0.073113	0.073113	1.000000	0.999999	1.000000	0.031038	0.210670		0.999922	1.000000	0.073113	0.423808	1.000000	1.000000	0.998689	1.000000	1.000000	0.073113	1.000000	1.000000
9	IM	84	0.501847	0.501847	0.999110	1.000000	0.973144	0.339867	0.848563	0.999922		1.000000	0.501847	0.956474	1.000000	0.999631	1.000000	0.982035	0.999998	0.501847	0.999994	0.999866
10	IM	113	0.242016	0.242016	0.999998	1.000000	0.999072	0.132045	0.550166	1.000000	1.000000		0.242016	0.780154	1.000000	1.000000	0.999999	0.999550	1.000000	0.242016	1.000000	1.000000
11	IZ	1	1.000000	1.000000	0.032645	0.394499	0.009162	1.000000	1.000000	0.073113	0.501847	0.242016		0.999988	0.061989	0.019201	0.586448	0.011223	0.098712	1.000000	0.086688	0.050892
12	IZ	13	0.999998	0.999998	0.248597	0.910550	0.094961	0.999998	1.000000	0.423808	0.956474	0.780154	0.999988		0.424296	0.192739	0.985888	0.111658	0.505937	0.999998	0.489371	0.336678
13	IZ	50	0.130719	0.130719	1.000000	1.000000	0.999975	0.130719	0.506631	1.000000	1.000000	1.000000	0.061989	0.424296		1.000000	0.999676	0.999992	1.000000	0.130719	1.000000	1.000000
14	IZ	84	0.048514	0.048514	1.000000	0.999983	1.000000	0.048514	0.262282	1.000000	0.999831	1.000000	0.019201	0.192739	1.000000		0.984666	1.000000	1.000000	0.048514	1.000000	1.000000
15	IZ	113	0.736848	0.736848	0.984841	1.000000	0.874082	0.736848	0.988321	0.998689	1.000000	0.999999	0.586448	0.985888	0.999676	0.984666		0.901825	0.999638	0.736848	0.999345	0.995374
16	CO	1	0.011223	0.011223	1.000000	0.994130	1.000000	0.011223	0.083867	1.000000	0.982035	0.999550	0.011223	0.111658	0.999992	1.000000	0.901825		0.999996	0.003658	0.999999	1.000000
17	CO	13	0.098712	0.098712	1.000000	0.999997	1.000000	0.098712	0.425786	1.000000	0.999998	1.000000	0.098712	0.505937	1.000000	1.000000	0.999638	0.999996		0.044258	1.000000	1.000000
18	CO	50	1.000000	1.000000	0.032645	0.394499	0.009162	1.000000	1.000000	0.073113	0.501847	0.242016	1.000000	0.999998	0.130719	0.048514	0.736848	0.003658	0.044258		0.037923	0.020298
19	CO	84	0.086688	0.086688	1.000000	1.000000	0.999999	0.086688	0.391409	1.000000	0.999994	1.000000	0.086688	0.469371	1.000000	1.000000	0.999345	0.999999	1.000000	0.037923		1.000000
20	CO	113	0.050892	0.050892	1.000000	0.999987	1.000000	0.050892	0.271459	1.000000	0.999866	1.000000	0.050892	0.336678	1.000000	1.000000	0.995374	1.000000	1.000000	0.020298	1.000000	

Apêndice 4. Teste de comparação de médias de Tukey dos tratamentos Imazapir+imazapique (Kifix®) (KI), Imazapir (IM), Imazapique (IZ) e controle (CO) para os gêneros *Spirogyra* (A) e *Anabaena* (B).