

# MACROINVERTEBRADOS COMO BIOINDICADORES DE ECOSSISTEMAS AQUÁTICOS CONTAMINADOS POR AGROTÓXICOS

*Darcílio Fernandes Baptista*

*Daniel Forsin Buss*

*Mariana Egler*

## INTRODUÇÃO

Em muitas bacias hidrográficas, a poluição não pontual excede os efeitos gerados por fontes pontuais. Poluição não pontual é aquela que atinge o corpo d'água receptor e é lançada de forma difusa ou indireta, sendo, portanto, de difícil detecção. Dentre as fontes não pontuais de poluição, a agricultura representa o maior desafio, pois é amplamente disseminada no país, ocupa grandes extensões do território e inclui grande variedade de atividades. Vários trabalhos demonstram que bacias hidrográficas que percorrem áreas agriculturáveis são alvos de impactos múltiplos, dentre os quais, contaminação por fertilizantes e agrotóxicos, desmatamento e assoreamento.

Os principais contaminantes de origem agrícola são os resíduos de fertilizantes e os agrotóxicos. Esses produtos, quando aplicados sobre os campos de cultivo, podem atingir os corpos d'água, diretamente, através da água da chuva e da irrigação ou, indiretamente, através da percolação no solo, chegando aos lençóis freáticos. Outra forma de contaminação indireta ocorre com a pulverização de agrotóxicos, que podem ser transportados por correntes aéreas e se depositarem no solo e na água, distantes das áreas onde foram originalmente usados. O transporte atmosférico também ocorre por volatilização dos compostos aplicados nos cultivos e pela formação de poeira do solo

contaminado (Cooper, 1993). Portanto, para a melhoria da qualidade da água dos rios, faz-se necessária uma abordagem que considere a bacia hidrográfica como unidade de estudo.

Os métodos analíticos tradicionais capazes de avaliar agrotóxicos organofosforados e carbamatos em água são realizados por cromatografia gasosa (GC), cromatografia líquida de alta performance (HPLC) ou espectrofotometria de massa (MS). Devido aos problemas associados ao uso indiscriminado dos agrotóxicos, é fundamental que o monitoramento ambiental seja realizado constantemente. No entanto, esses métodos de análise exigem mão-de-obra especializada e apresentam alto custo operacional, o que torna inviável sua aplicação em larga escala (Alves, 2000). Além disso, a poluição ambiental associada ao uso de agrotóxicos é especialmente difícil de ser avaliada, pois os eventos de contaminação obedecem a uma dinâmica espacialmente difusa e temporalmente variável. O resultado é um quadro de contaminação baixa e contínua, que nem sempre é captado pelos métodos de *screening* químicos, pois esses registram apenas o instante exato em que foram coletadas as amostras e não acompanham a variação temporal e espacial da contaminação.

Desde a década de 70, pesquisadores e gestores de recursos hídricos da Europa Ocidental e América do Norte (Cairns Jr. & Pratt, 1993; Armitage & Pardo, 1995) argumentam que as metodologias tradicionais de classificação de águas, baseadas em características físicas, químicas e bacteriológicas, não são suficientes para atender aos usos múltiplos da água, sendo particularmente deficientes na avaliação da qualidade estética, de recreação e ecológica do ambiente. Outra desvantagem é que se as medições químicas forem feitas longe da fonte poluente, não serão capazes de detectar perturbações sutis sobre o ecossistema (Rosenberg & Resh, 1993).

Para a realização de avaliações eficientes, é de fundamental importância a aplicação de análises integradas da qualidade da água, unindo as repostas das metodologias tradicionais de avaliação aos aspectos biológicos do sistema (ver revisões em Metcalfe, 1989; Rosenberg & Resh, 1993; Buss et al., 2003).

Organismos aquáticos vêm sendo utilizados no monitoramento ambiental há aproximadamente um século e têm como base o conceito de indicadores biológicos. A premissa básica do uso de indicadores biológicos

para avaliar a qualidade da água é que a presença de uma espécie em números elevados significa que suas necessidades físicas, químicas e nutricionais estão sendo supridas. Assim, os organismos refletem a qualidade do ambiente e podem ser utilizados para indicar efeitos específicos ou complexos, sendo particularmente vantajosos por registrarem continuamente as condições ambientais (Johnson, Wiederholm & Rosenberg, 1993). As metodologias de monitoramento biológico podem ser empregadas como ferramentas de vigilância, isto é, para acompanhamento contínuo das condições dos ecossistemas de maneira a detectar impactos acidentais ou decorrentes da implantação de empreendimentos produtivos. Podem servir ainda como instrumento regulador, sendo utilizadas como prova cientificamente aceita das alterações ambientais provocadas por ações criminosas.

Atualmente, o objetivo dos estudos relacionados à avaliação dos impactos em áreas agriculturáveis é desenvolver e aperfeiçoar metodologias e ferramentas que permitam determinar de forma realista e exequível a condição ambiental. Além disso, deve-se considerar a importância do tratamento e transmissão da informação a diferentes públicos, inclusive o leigo. Portanto, um dos desafios é tornar os dados científicos mais facilmente utilizáveis por técnicos, gestores, cientistas, políticos, grupos de interesse (associações não-governamentais, cooperativas) e pelo público em geral.

## USO DE INDICADORES BIOLÓGICOS

Uma vez definido o objetivo do monitoramento, deve-se pensar em selecionar qual o indicador apropriado para atingi-lo. Cairns Jr., McCormick & Niederlehner (1993) afirmam que basicamente, tudo é um indicador de alguma coisa, mas nada é um indicador de tudo. A escolha do organismo teste depende da questão que se quer responder. A avaliação da toxicidade, o controle das descargas de efluentes ou o registro de um novo produto químico requerem a coleta de dados consistentes e comparáveis.

Assim, um indicador biológico 'ideal' deve ter as seguintes características (Johnson, Wiederholm & Rosenberg, 1993: 1) ser taxonomicamente bem definido e facilmente reconhecível por não-especialistas; 2) apresentar distribuição geográfica ampla; 3) ser abundante, ou de

fácil coleta; 4) ter baixa variabilidade genética e ecológica; 5) preferencialmente possuir tamanho grande; 6) apresentar baixa mobilidade e longo ciclo de vida; 7) dispor de características ecológicas bem conhecidas; e 8) ter possibilidade de uso em estudos em laboratório.

No uso de indicadores, considera-se que a avaliação da qualidade ambiental será efetuada com as variáveis que respondam aos objetivos mais adequadamente, e não com todas aquelas que podem ser medidas. Ao selecionar um indicador e/ou ao construir um índice, tal como ao adotar um parâmetro estatístico, ganha-se clareza e operacionalidade. A necessidade de comunicar os resultados das avaliações da qualidade ambiental constitui uma exigência básica nos processos de gestão ambiental. Um índice é projetado para simplificar a informação sobre fenômenos complexos de forma a melhorar a comunicação.

Apesar do desenvolvimento de metodologias de avaliação com diversos organismos, vários autores afirmam que o grupo de macroinvertebrados bentônicos é o mais testado e utilizado, pois são relativamente fáceis de coletar e identificar, possuem natureza sedentária (refletindo as condições ambientais locais com precisão), têm um grande número de espécies e distribuição ampla (Plafkin et al., 1989; Rosenberg & Resh, 1993; Kerans & Karr, 1994; Armitage & Pardo, 1995; Barbour et al., 1999).

## **MONITORAMENTO BIOLÓGICO: de ecossistemas a biomoléculas**

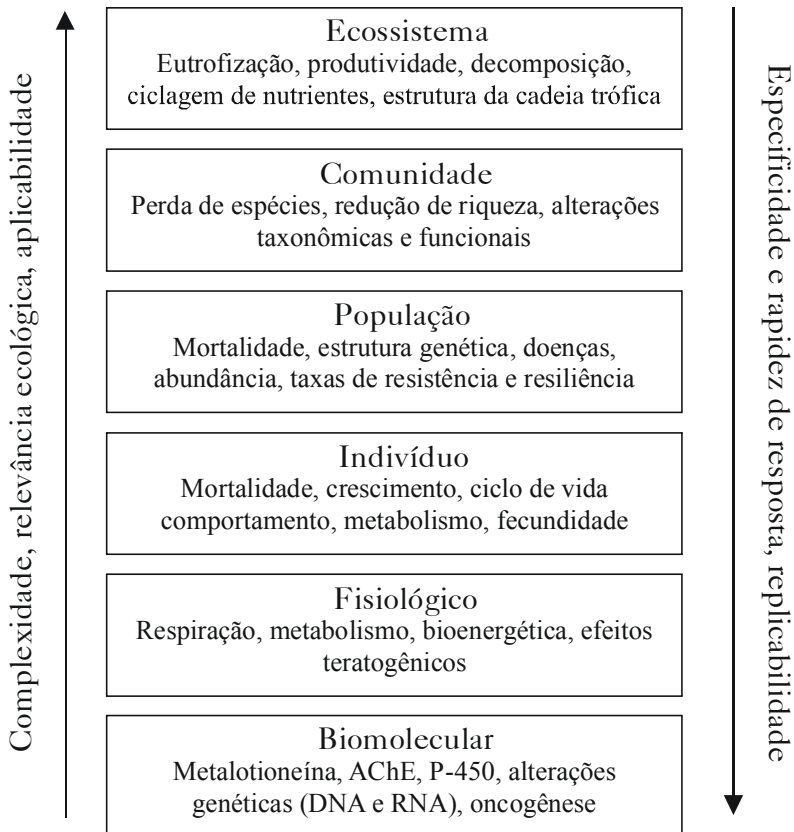
Indicadores em diferentes níveis de organização biológica fornecem informações complementares, necessárias para a análise de risco ecológico. Os impactos da contaminação por agrotóxicos nos macroinvertebrados variam de acordo com os tipos de substâncias empregadas, com a sua toxicidade e com a estabilidade nos ambientes aquáticos. Os efeitos sobre a fauna incluem desde alterações fisiológicas em alguns organismos até a morte maciça de populações, afetando toda a estrutura da comunidade (Clements, 2000).

Em geral, quanto maior a concentração de agrotóxicos e mais longo o tempo de exposição, maiores as chances dos impactos negativos atingirem níveis superiores de organização biológica, como comunidades e ecossistemas. Se um estresse dura tempo suficiente para levar à morte uma população de organismos, afetando as taxas de crescimento e de

reprodução e impedindo o recrutamento de novas espécies, ela é então capaz de alterar a estrutura da comunidade (Cairns Jr. & Pratt, 1993).

Os efeitos dos contaminantes em níveis de organização biológica mais baixos (por exemplo, respostas moleculares e bioquímicas) ocorrem mais rapidamente, além do que a especificidade das respostas e nossa compreensão sobre os efeitos dos contaminantes são geralmente maiores nos níveis mais baixos de organização (Figura 1). Geralmente, os efeitos em tais níveis podem ser diretamente ligados à exposição aos agentes contaminantes. Por exemplo, a presença de resíduos químicos e metabólitos é um indicador direto da disponibilidade de contaminantes para os organismos.

Figura 1 – Respostas a contaminantes químicos nos diferentes níveis de organização biológica



Apesar da maior compreensão sobre os mecanismos de funcionamento e da maior especificidade efeito-resposta, os efeitos nos níveis mais baixos de organização têm limitações. A real significância ecológica das respostas bioquímicas é geralmente desconhecida. Níveis residuais e metabólitos são excelentes indicadores de exposição, mas a ligação direta com os efeitos ecológicos é geralmente tênue (Clements, 2000). Outra limitação é que os resultados de experimentos realizados em laboratório podem ter pequena relevância para as populações naturais em campo.

Em geral, a proteção à integridade ecológica enfatiza a preservação dos níveis mais altos de organização biológica (populações, comunidades) e, assim, a demonstração de respostas bioquímicas e fisiológicas pode não ser suficiente. Portanto, alguns pesquisadores têm argumentado que as respostas em níveis mais altos de organização medidos em campo são mais relevantes ecologicamente do que os efeitos nos níveis mais baixos (Cairns et al., 1993).

Neste trabalho serão apresentadas as propriedades e as respostas de macroinvertebrados aos efeitos do uso de agrotóxicos nos dois níveis de organização biológica mais utilizados, comunidade e organismo.

### **Utilizando comunidades como bioindicadores**

Os indicadores biológicos são muito úteis devido à sua especificidade a certos tipos de impacto já que inúmeras espécies são comprovadamente sensíveis a um tipo de poluente, mas tolerantes a outros (Washington, 1984). Assim, índices podem ser criados especificamente para detectar lançamento de agrotóxicos, considerando as respostas de diversas espécies da comunidade de macroinvertebrados. Os índices que têm as comunidades como unidade de estudo são eficientes para o monitoramento rápido de grandes áreas, apresentando relativo baixo custo (Watzin & McIntosh, 1999). Sua metodologia baseia-se em pesquisas de campo, analisando as alterações estruturais e funcionais das comunidades nos sistemas ecológicos. Serão apresentadas quatro abordagens utilizando índices biológicos de comunidade e a aplicação na avaliação de agrotóxicos: Índices Bióticos, Modelos de Predição de Impacto, Protocolos de Avaliação Rápida e Sistemas Especialistas.

## Índices bióticos

A primeira abordagem visando à determinação de indicadores biológicos da qualidade das águas, com bases científicas, foi feita com bactérias, fungos e protozoários, na Alemanha, por Kolkwitz & Marsson (1909). Esse método ficou conhecido como índice de saprobidade e enfatizava que a abundância de organismos nas áreas poluídas ocorria por características fisiológicas e comportamentais que os permitia tolerar estas condições. Assim, localidades onde eram encontrados números elevados desses organismos eram classificadas como poluídas.

No final da década de 60, iniciaram-se esforços conjuntos na Europa para testar a aplicabilidade do índice de saprobidade. Atualmente, a maioria dos países europeus utiliza metodologias baseadas na mesma filosofia, sendo chamadas de índices bióticos. Esses índices consistem em atribuir uma pontuação para cada espécie, baseada em sua tolerância ao impacto, e o somatório desses valores determina a qualidade da água do local.

Diversos índices bióticos surgiram e foram testados (ver revisões em Metcalfe, 1989; Cairns Jr. & Pratt, 1993), mas um índice em especial ganhou destaque, o BMWP. Em 1976, um grupo de trabalho foi criado para discutir e sintetizar o conhecimento sobre os índices na Grã-Bretanha, originando o sistema conhecido por Biological Monitoring Working Party Score System (BMWP). Nos anos subseqüentes esse índice foi revisto e ampliado (Hawkes, 1997), e considera macroinvertebrados identificados no nível taxonômico de família, com valores entre 1 e 10 atribuídos com base na sensibilidade a poluentes orgânicos. Famílias sensíveis a altos níveis de poluentes recebem valores mais altos enquanto famílias tolerantes recebem valores mais baixos. Quanto maior o somatório, mais íntegra a localidade.

A aplicação do índice ASPT (Average Score Per Taxon), que é a média dos valores de cada família encontrada (Balloch, Davis & Jones, 1976), tornou o processo ainda mais eficiente (Armitage et al., 1983; Walley & Hawkes, 1997). Recentemente, o índice passou a ser aplicado em um programa nacional, sendo integrado a modelos de predição de impacto (Wright, 1995; Walley & Hawkes, 1996).

Raven et al. (1998), utilizando o BMWP, avaliaram o impacto do derramamento acidental do inseticida organofosforado (Chlorpyrifos) sobre a fauna de macroinvertebrados no rio Roding em Londres. Com a aplicação do índice, os gestores foram capazes de avaliar as consequências do acidente, realizando o acompanhamento da recuperação da fauna pela recolonização e comparando os trechos impactados com seções do rio a montante do acidente.

Outro exemplo da aplicação de índices bióticos ocorreu na bacia do rio Mills, que abastece boa parte da população do oeste da Carolina do Norte (Lenat & Crawford, 1994). O programa local de biomonitoramento da qualidade da água, conduzido há mais de 15 anos pela Agência Ambiental Estadual, utilizava a fauna de macroinvertebrados e em especial, o índice EPT – índice que avalia a porcentagem de insetos das ordens Ephemeroptera, Plecoptera e Trichoptera – (Barbour et al., 1999). A qualidade da água era sempre classificada como boa ou excelente, mas surpreendentemente, em agosto de 1994, as amostras dos macroinvertebrados durante o monitoramento de rotina apresentaram um declínio drástico na riqueza da fauna e na abundância das populações. No entanto, não foi constatada nenhuma mudança visível no hábitat, nem nas comunidades de peixes ou de moluscos, e as amostras da água não forneceram informação útil acerca do que havia ocorrido. Após um período de investigações, a agência ambiental concluiu que como o verão de 1994 foi excepcionalmente úmido, houve um aumento da aplicação de inseticidas nas fazendas de tomates, sendo essa a fonte primária do problema. Nesse caso, tanto a detecção do impacto quanto o diagnóstico foram baseados na bioavaliação das comunidades de macroinvertebrados e pelo padrão do uso da terra.

### **Modelos de predição de impacto**

Na década de 90, países como Inglaterra, Escócia e Austrália investiram na construção de modelos preditivos baseados em conceitos matemáticos e estatísticos. O sistema britânico de predição e classificação foi denominado RIVPACS (River InVertebrate Prediction And Classification System). Para a construção desse modelo, 268 trechos de rio ‘referência’ (não poluídos) foram analisados, sendo identificadas 16



comunidades de macroinvertebrados através de análises multivariadas (Armitage et al., 1983). Utilizando a análise discriminante múltipla, buscou-se correlacionar 28 variáveis ambientais a esses grupos de espécies (Wright et al., 1984), obtendo-se assim as 'comunidades esperadas' associadas a essas variáveis ambientais.

Para avaliar o grau de impacto de uma localidade 'teste', os parâmetros ambientais e a fauna de macroinvertebrados (comunidade observada) devem ser analisados. As variáveis ambientais determinam o grupamento de localidades do qual o local teste faz parte. Comparando as comunidades esperadas com as observadas, pode-se medir o grau de impacto da localidade (Moss et al., 1987).

Atualmente o RIVPACS III é o mais moderno e o principal instrumento de bioavaliação utilizado pelas autoridades do Reino Unido e da Austrália em seus programas nacionais de avaliação da qualidade da água (Wright et al., 1993; Walley & Hawkes, 1996, 1997; Walley & Fontana, 1998).

### Protocolos de Avaliação Rápida da qualidade da água (PAR)

Enquanto nos países europeus predominaram as abordagens surgidas a partir do índice de saprobidade, na América do Norte houve uma preferência por métodos de similaridade entre comunidades e de estatística multivariada. Esses métodos são conhecidos por Protocolos de Avaliação Rápida (PAR) e são baseados na classificação ambiental *a priori* a partir de parâmetros físicos e químicos (Barbour et al., 1999). Tais protocolos se baseiam em comparações entre locais 'referência' (áreas que apresentam excelentes condições de integridade ambiental) e as áreas a serem analisadas.

Nos PAR, uma ou mais medidas bioindicadoras podem ser utilizadas. Essas medidas podem estar associadas a diferentes níveis hierárquicos de organização biológica (espécie, populações ou comunidades) e podem ser divididas em cinco categorias: número de espécies (riqueza), enumerações (abundância dos grupos taxonômicos), similaridade entre comunidades, medidas tróficas e índices bióticos. Por integrarem as respostas de várias medidas biológicas, esses índices são genericamente tratados por índices multimétricos.

A aplicação desses métodos tem ganhado ampla divulgação e vem sendo testada amplamente na América do Norte, com finalidades diversas. No estado da Virgínia (EUA), o MAIS (Macroinvertebrate Aggregated Index for Streams) comprovou ser uma ferramenta eficiente na avaliação de agrotóxicos (Voshell et al., 1997).

### **Sistema especialista**

O sistema LIMPACT (Limnology and Impact) foi elaborado para pequenos rios em áreas agriculturáveis na Alemanha para estimar a contaminação da água por agrotóxicos. Sistemas especialistas são sistemas computacionais que devem apresentar um comportamento semelhante a um especialista em um determinado domínio. Esse sistema foi desenvolvido a partir de estudos realizados em 104 rios entre os anos de 1992 e 2000. Foram analisadas 555 amostras de agrotóxicos químicos, 660 amostras de macroinvertebrados bentônicos e a caracterização dos rios de acordo com 9 parâmetros de qualidade da água e aspectos geomorfológicos. De acordo com a abundância de macroinvertebrados são aplicadas regras de conhecimento heurístico do tipo “SE a abundância de uma determinada espécie é X, ENTÃO para uma contaminação Y de agrotóxicos, dá-se o valor Z”. Neuman et al. (2002a, 2002b) listam 921 regras elaboradas para 39 espécies com o objetivo de estabelecer 4 classes de contaminação (Não Detectada, Baixa, Moderada e Alta). O sistema está disponível na Internet (<http://www.d3web.de>) para consulta e aplicação.

### **Utilizando organismos como bioindicadores**

O uso de organismos como indicadores da qualidade da água é relativamente recente e vem sendo muito utilizado nos últimos anos devido à exigência de medidas cada vez mais específicas na análise dos poluentes. As primeiras respostas à contaminação ambiental ocorrem nos níveis mais baixos de organização biológica (bioquímico e fisiológico dos organismos), e por essa razão elas representam medidas rápidas e de maior sensibilidade na análise da contaminação ambiental (Buckler & Tiliti, 1996). Nesse nível de organização biológica, grande parte do

conhecimento sobre os efeitos de substâncias ou sedimento contaminados provém de estudos em laboratório.

O nível de organização biológica de organismo pode ser subdividido em duas abordagens, a individual – que trata de alterações comportamentais, malformações, mudanças nas taxas de crescimento, reprodução e alimentação – e a bioquímica e fisiológica – que inclui alterações na integridade da membrana celular, no transporte de íons, no metabolismo celular e em atividades enzimáticas. Os componentes dessa abordagem são chamados de biomarcadores e são definidos como componentes biológicos, células, processos bioquímicos, estruturas e funções biológicas, que se alteram em contato com compostos xenobióticos (Kendall et al., 1996). O uso de biomarcadores é especialmente útil no diagnóstico inicial da contaminação, podendo captar mudanças sutis no ambiente, que somente tempos depois seriam detectadas em populações e comunidades (Hyne & Maher, 2000).

Há uma grande variedade de testes direcionados para avaliação específica de agrotóxicos. São discutidas neste artigo as duas principais abordagens que utilizam macroinvertebrados no nível de organismos, a individual e os biomarcadores.

## Individual

- Deformidades morfológicas

A ocorrência de deformidades morfológicas em macroinvertebrados bentônicos decorrentes da exposição a ambientes poluídos é um fato conhecido há pelo menos três décadas (Brinckhurst, Chapman & Farrel, 1968) e vem sendo utilizada no monitoramento ambiental desde então. Os grupos mais testados e analisados são os insetos e os anelídeos aquáticos, sendo o gênero *Chironomus* (Chironomidae, Diptera, Insecta) o mais utilizado. Esse grupo parece especialmente suscetível a deformidades morfológicas, apresentando algumas vantagens, como ampla distribuição e altas densidades populacionais, além de ter taxonomia e biologia bem conhecidas, podendo ser mantido em laboratório.

A dificuldade de estabelecer uma relação de causa e efeito entre os agentes contaminantes e as deformidades encontradas em espécies coletadas no campo representa uma das principais deficiências dessa metodologia.

Isso é agravado pela ocorrência natural de deformidades nas populações. Como a maior parte dos estudos é pouco controlada, a atribuição de deformidades a um contaminante é incerta (Johnson, Wiederholm & Rosenberg, 1993). Mas ainda assim alguns autores reportaram aumento da incidência de malformações com o aumento da contaminação em amostras de campo (Milbrink, 1983; Wiederholm, 1984; Warwick et al., 1987). Outros autores têm utilizado os bioensaios em laboratório para a determinação do impacto de efluentes (Kosalwat & Knight, 1987).

Em relação à contaminação por agrotóxicos, alguns estudos obtiveram sucesso em estabelecer uma relação entre exposição e ocorrência de deformidades. A maior parte dos autores detectou deformidades nos segmentos da cabeça – como antena, mento, mandíbulas –, em brânquias e no processo de pigmentação (Warwick, 1985; Camargo, 1991). Um claro padrão de dose-resposta foi registrado entre deformidades no mento de espécies do gênero *Chironomus* e diferentes graus de poluição em sedimento contaminado com agentes orgânicos persistentes, entre eles agrotóxicos e hexaclorobenzeno (Hudson & Ciborowski, 1996).

Muitos estudos já foram realizados em campo, analisando os efeitos sinérgicos de origem agrícola e ou industrial (ver revisão em Johnson, Wiederholm & Rosenberg, 1993). A maior parte desses trabalhos foi realizada com material proveniente de lagos, provavelmente devido ao maior potencial de acumulação dos contaminantes nesses sistemas. Atualmente, a análise de deformidades morfológicas em macroinvertebrados bentônicos é uma medida qualitativa da presença de contaminantes em um ecossistema, ainda estando restrita a alguns grupos taxonômicos. Para ampliar os estudos e incluir abordagens quantitativas, é necessário expandir o número de espécies estudadas e aprofundar os estudos experimentais. As deformidades provocadas por agentes químicos ou classes de contaminantes específicos devem ser identificadas, e as relações entre dose e tempo de exposição e a frequência e severidade das deformidades devem ser estabelecidas. Um banco de dados organizado com essas informações permitiria aumentar a eficiência desses estudos.

- Respostas comportamentais

O uso de respostas comportamentais de macroinvertebrados na avaliação da contaminação ambiental também é uma medida recente e vem

sendo empregado em estudos de toxicidade crônica em laboratório. Também é parte da iniciativa dos pesquisadores de ampliar o número de espécies de macroinvertebrados aquáticos utilizados, pois esses estudos já vêm usando peixes desde a década de 70 (Johnson, Wiederholm & Rosenberg, 1993).

A alteração no comportamento normal de um organismo é o primeiro reflexo de distúrbios fisiológicos e pode ser utilizada como indicador inicial da contaminação e de toxicidade subletal. Outra vantagem é que as medidas comportamentais permitem integrar os efeitos no nível bioquímico e fisiológico com as mudanças no nível individual, servindo como uma ligação entre diferentes níveis de organização biológica. Muitas funções comportamentais são essenciais para a viabilidade de populações naturais e, dessa forma, podem comprometer seu equilíbrio ecológico.

A resposta comportamental ocorre quando um agente químico, ou outra condição estressante, induz alterações que excedem a variação comportamental normal do organismo. As respostas comportamentais mais utilizadas são aquelas relacionadas às funções vitais como locomoção, alimentação, respiração, comportamento de caça, fuga e proteção.

Os estudos comportamentais são usados principalmente para avaliação de toxicidade de sedimentos, sendo comuns os testes em laboratório em que há exposição a agentes químicos em doses conhecidas (Johnson, Wiederholm & Rosenberg, 1993). Os principais efeitos observados são alterações no hábito alimentar, locomoção, respiração e no comportamento de deriva. Alguns exemplos reportam alterações do comportamento natatório de *Chironomus tentans* expostos ao paration (organofosforado), sendo correlacionados ao grau de inibição da enzima acetilcolinesterase, ao tempo de exposição e à concentração do agrotóxico (Detra & Collins, 1991). Indivíduos da ordem Trichoptera apresentaram mudanças no padrão de construção de redes quando expostos a um piretróide em condições de laboratório.

Há uma vasta literatura sobre estudos de mesocosmo, incluindo uma recente revisão realizada pela Agência Ambiental da Dinamarca (Danish Protection Agency, 2001). Nesse trabalho foram comparadas 112 publicações e constatou-se que a deriva de macroinvertebrados foi a resposta mais sensível ao impacto da contaminação por agrotóxicos, destacando a importância desses estudos na análise da contaminação ambiental.

- Mudanças na história de vida

A história de vida de macroinvertebrados bentônicos é definida por fatores que governam a sobrevivência, fecundidade, taxa de crescimento, estágio de desenvolvimento, tamanho, longevidade e ciclo reprodutivo. Alterações desses parâmetros vêm sendo utilizadas como medidas de estresse provocadas pela contaminação ambiental.

A maior parte dos estudos realizados com essa metodologia avalia a contaminação por metais pesados ou acidificação de ambientes aquáticos (Johnson, Wiederholm & Rosenberg, 1993). Reynoldson, Thompson & Bamsey (1991) avaliaram mudanças na reprodução de *Tubifex tubifex* (Oligochaeta) em testes de toxicidade de sedimento, criando um bioensaio para análise de sedimento. As principais respostas utilizadas em estudos de contaminação por agrotóxicos são mudanças nas taxas de emergência e taxas de crescimento. Estudos de mesocosmo e *in situ* demonstraram que a aplicação de agrotóxicos em concentrações subletais ocasiona uma redução na taxa de emergência de insetos e diminuição do peso de macroinvertebrados (Schulz & Liess, 1999, 2000, 2001; Liess & Schulz, 1996). Da mesma forma que os inseticidas podem aumentar a taxa de mortalidade, eles podem diminuir ou prolongar as taxas de emergência de insetos aquáticos. Entretanto, muitas populações de insetos aquáticos influenciadas por contaminação ambiental apresentam variação na taxa de emergência quando comparadas a populações naturais, o que dificulta o estabelecimento da relação de causa e efeito entre o contaminante e a resposta biológica observada.

Para utilizar medidas associadas à história de vida de macroinvertebrados é desejável compreender todos os mecanismos envolvidos. A falta de conhecimento básico pode dificultar a interpretação de dados e limitar o uso dessas variáveis em estudos de biomonitoramento no campo.

## Biomarcadores

Alguns biomarcadores são particularmente bem conhecidos e amplamente utilizados na avaliação da contaminação por agrotóxicos. Por exemplo, a inibição da enzima acetilcolinesterase (AChE) é utilizada para medir a contaminação por organofosforados e carbamatos. A ação tóxica desses produtos se baseia na inibição da enzima AChE, o que

afeta a transmissão do impulso nervoso. Uma vez que essa reação é praticamente irreversível, a percentagem da inibição da atividade da AChE pode ser usada como um indicador de exposição.

A maior dificuldade na utilização de medidas da AChE é o fato de existirem várias formas dessa enzima, o que pode dificultar a correlação entre os sintomas e a inibição da atividade anticolinesterásica (Hynes & Maher, 2000). O teste do efeito de três organofosforados em diversas espécies de macroinvertebrados indicou suscetibilidades distintas (Day & Scott, 1990), sendo possível utilizar esse método para avaliar a exposição aguda a esses agrotóxicos.

Outro biomarcador com potencial de ser usado com macroinvertebrados é o complexo de enzimas do tipo P-450. Genericamente conhecidas como monooxigenases, ou oxidases de função mista (*mixed function oxidase*), essas enzimas têm a atividade associada com processos de biotransformação e detoxificação de agentes xenobióticos. A indução de P-450 pode servir como indicador de exposição a altas concentrações de contaminantes. O uso do citocromo P-450 na avaliação da contaminação de organismos marinhos foi detalhado em algumas revisões (James, 1989; Livingstone, 1993).

## CONCLUSÃO

Uma vez que é improvável que respostas em um único nível de organização biológica satisfaçam os critérios de especificidade, os mecanismos de compreensão e a relevância ecológica, uma abordagem alternativa é estudar respostas em diferentes níveis de organização simultaneamente. Além disso, é também improvável que um só pesquisador tenha recursos ou conhecimentos técnicos para examinar respostas nos diferentes níveis de organização. Dessa forma, integrar os efeitos dos contaminantes através dos diferentes níveis de organização apresenta benefícios adicionais de promover pesquisas interdisciplinares.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ALVES, S. R. *Avaliação dos resíduos de agrotóxicos organofosforados e carbamatos por metodologia enzimática no Córrego de São Lourenço, Nova Friburgo-RJ, Brasil*, 2000. Dissertação de mestrado, Rio de Janeiro: Escola Nacional de Saúde Pública/Fiocruz.
- BUSS, D. F.; BAPTISTA, D. F. & NESSIMIAN, J. L. Bases conceituais para a aplicação de biomonitoramento em programas de avaliação da qualidade da água de rios. *Cadernos de Saúde Pública*, 19 (2): 465-474, 2003.
- ARMITAGE, P. D. & PARDO, I. Impact assessment of regulation at the reach level using mesohabitat information. *Regulated Rivers: Research & Management*, 10: 147-158, 1995.
- ARMITAGE, P. D. et al. The performance of a new biological water quality score based on macroinvertebrates over a wide range of unpolluted running-water sites. *Water Research*, 17: 333-347, 1983.
- BALLOCH, D.; DAVIS, C. E. & JONES, F. H. Biological assessment of water quality in three British rivers, the North Esk (Scotland), the Ivel (England) and the Tass (Wales). *Water Pollution Control*, 75: 92-100, 1976.
- BARBOUR, M. T. et al. *Rapid Bioassessment Protocols for Use in Streams and Wadeable Rivers: periphyton, benthic macroinvertebrates and fish*. 2.ed. Washington: U.S. Environmental Protection Agency/Office of Water (EPA 841-B-99-002), 1999.
- BRINCKHURST, R. O.; CHAPMAN, P. M. & FARREL, M. A. *Components of the bottom fauna of St. Lawrence, Great Lakes*. Toronto: Great Lakes Institute, University of Toronto (No PR 33): Toronto, 1968.
- BUCKLER, D. F. T. & TILLITT, D. E. Problems of aquatic toxicology and water quality management. In: SCHOETGER, R. A (Ed.) *Proceedings of USA-Russia Symposium*. Ecosystem Research Division. Atenas: Usepa, 1996.
- CAIRNS, J. Jr. & PRATT, J. R. A history of biological monitoring using benthic macroinvertebrates. In: ROSENBERG, D. M. & RESH, V. H. (Eds.) *Freshwater Biomonitoring and Benthic Macroinvertebrates*. Nova Iorque: Chapman & Hall, 1993.
- CAIRNS, J. Jr.; MCCORMICK, P. V. & NIEDERLEHNER, B. R. A proposal framework for developing indicators of ecosystem health. *Hydrobiologia*, 263: 1-44, 1993.
- CAMARGO, J. A. Toxic effects of residual chlorine on larvae of *Hydropsyche pullucidula* (Trichoptera: Hydropsychidae): a proposal of biological indicator. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*, 47: 261-265, 1991.
- CLEMENTS, W. H. Integrating effects of contaminants across levels of biological organization: an overview. *J Aquat Eco Stress Recov*, 7:113-116, 2000.
- COOPER, C. M. Biological effects of agriculturally derived surface-water pollutants on aquatic systems: a review. *Journal of Environmental Quality*, 22: 402-408, 1993.



- DANISH PROTECTION AGENCY. 2001. Disponível em: [http://www.mst.dk/udgiv/Publications/2001/87-7944-634-5/html/helepubl\\_eng.htm](http://www.mst.dk/udgiv/Publications/2001/87-7944-634-5/html/helepubl_eng.htm).
- DAY, K. E. & SCOTT, I. M. Use of acetylcholinesterase activity to detect sub-lethal toxicity in stream invertebrates exposed to low concentrations of organophosphate insecticides. *Aquatic Toxicology*, 18: 101-113, 1990.
- DETRA, R. L. & COLLINS, W. J. The relationships of parathion concentration exposure time, cholinesterase inhibition and symptoms of toxicity in midge larvae (Chironomidae: Diptera). *Environmental Toxicology and Chemistry*, 10: 1089-1095, 1991.
- HAWKES, H. A. Origin and development of the Biological Monitoring Working Party Score System: technical note. *Water Research*, 32: 964-968, 1997.
- HUDSON, L. A. & CIBOROWSKI, J. H. Teratogenic and genotoxic responses of larval *Chironomus salinarius* group (Diptera: Chironomidae) to contaminated sediment. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 15: (8): 1375-1381, 1996.
- HYNE, R. V. & MAHER, W. A. *Macroinvertebrate biomarkers: links to toxicosis and changes in population or communities*. Australia: University of Canberra, Cooperative Research Centre for Freshwater Ecology. Technical Report ScD52000. Disponível em: <http://enterprise.canberra.edu.au/WWW/www-directreps.nsf/996f439750a23457ca2567fc001c75ae/049a5fed126ae62cca256a000013555a>.
- JAMES, M. O. Cytochrome P450 monooxygenases in crustaceans. *Xenobiotica*, 19: 1063-1076, 1989.
- JOHNSON, R. K.; WIEDERHOLM, T. & ROSENBERG, D. M. Freshwater bio-monitoring using individual organisms: populations and species assemblages of benthic macroinvertebrates. In: ROSENBERG, D. M. & RESH, V. H. (Eds.) *Freshwater Biomonitoring and Benthic Macroinvertebrates*. Nova Iorque: Chapman & Hall, 1993.
- KENDALL, R. J. et al. Aquatic and terrestrial ecotoxicology. In: CASARETTI, L. J. & DOULL, J. (Eds.) *Toxicology: the basic science of poisons*. 5.ed. Nova Iorque: McGraw-Hill, 1996.
- KERANS, B. L. & KARR, J. R. A benthic index of biotic integrity (B-IBI) for rivers in the Tennessee valley. *Ecological Applications*, 4: 768-785, 1994.
- KOLKWITZ, R. & MARSSON, M. Oekologie der tierischen saprobien. *Internationale Revue der Gesamten Hydrobiologie und Hydrographie*, 2:126-152, 1909.
- KOSALWAT, P. & KNIGHT, A. W. Chronic toxicity of copper to a partial life cycle of the midge, *Chironomus decorus*. *Archives of Environmental Contamination and Toxicology*, 16: 283-290, 1987.
- LENAT, D. R. & CRAWFORD, J. K. Effects of land use on water quality and fauna of three North Carolina streams. *Hydrobiologia*, 294: 185-199, 1994.
- LIESS, M. & SCHULZ, R. Chronic effects of short-term contamination with the pyrethroid insecticide fenvalerate on the caddisfly *Limnephilus lunatus*. *Hydrobiologia*, 324: 99-106, 1996.

- LIVINGSTONE, D. R. Biotechnology and pollution monitoring: use of molecular biomarkers in the aquatic environment. *J Chem Tech Biotechnol*, 57: 195-211, 1993.
- METCALFE, J. L. Biological water quality assessment of running waters based on macroinvertebrates communities: history and present status in Europe. *Environmental Pollution*, 60:101-139, 1989.
- MILBRINK, G. Characteristic deformormaties in tubificid oligochaetas inhabiting polluted bays of Lake Vänern, southern Sweden. *Hydrobiologia*, 106: 169-184, 1983.
- MOSS, D. et al. The prediction of the macroinvertebrate fauna of unpolluted running-water sites in Great Britain using environmental data. *Freshwater Biology*, 17: 41-52, 1987.
- NEUMAN, M. et al. *An expert system to estimate the pesticide contamination of small stream using benthic macroinvertebrate as bioindicators*. I – The database of LIMPACT. Ecological Indicators, 2000a.
- NEUMAN, M. et al. *An expert system to estimate the pesticide contamination of small streams using benthic macroinvertebrate as bioindicators*. II – The knowledge base of LIMPACT. Ecological Indicators, 2002b.
- PLAFKIN, J. L. et al. *Rapid Bioassessment Protocols for Use in Streams and Rivers: benthic macroinvertebrates and fish*. Washington: U.S. Environmental Protection Agency (EPA-444/4-89-001), 1989.
- RAVEN, P. J. et al. *River Habitat Quality: the physical character of rivers and streams in the UK and Isle of Man*. Bristol: Environment Agency, 1998.
- REYNOLDSON, T. B., THOMPSON, S. P. & BAMSEY, J. L. A sediment bioassay using the tubificid oligochaeta worm *Tubifex tubifex*. *Environmental Toxicology and Chemistry* 10: 1061-1072, 1991.
- ROSENBERG, D. M. & RESH, V. H. (Eds.) *Freshwater Biomonitoring and Benthic Macroinvertebrates*. Nova Iorque: Chapman & Hall, 1993.
- SCHULZ, R. & LIESS, M. Validity and ecological relevance of an active in situ bioassay using *Gammarus pulex* and *Limnephilus lunatus*. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 18: 2243-2250, 1999.
- SCHULZ, R. & LIESS, M. Toxicity of fenvalerate to caddisfly larvae: chronic effects of 1- vs. 10-h pulse-exposure with constant doses. *Chemosphere*, 41: 1511-1517, 2000.
- SCHULZ, R. & LIESS, M. Runoff simulation with particle-bound fenvalerate in multispecies stream microcosms: importance of biological interactions. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 20: 757-762, 2001.
- VOSHELL, J. R. et al. Effective and scientifically sound bioassessments: opinions and corroboration from academe. *Human Ecology Risk Assessment*, 3: 941-954, 1997.
- WALLEY, W. J. & FONTAMA, V. N. Neural network predictors of average score per taxon and number of families at unpolluted river sites in Great Britain. *Water Research*, 32: 613-622, 1998.

- WALLEY, W. J. & HAWKES, H. A. A computer-based reappraisal of the Biological Monitoring Working Party scores using data from the 1990 river quality survey of England and Wales. *Water Research*, 30: 2086-2094, 1996.
- WALLEY, W. J. & HAWKES, H. A. A computer-based development of the Biological Monitoring Working Party Score System incorporating abundance rating, site type and indicator value. *Water Research*, 31: 201-210, 1997.
- WARWICK, W. F. Morphological abnormalities in Chironomidae (Diptera) larvae as measures of toxic stress in freshwater ecosystems: indexing antennal deformities in *Chironomus* Meigen. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, 42: 1881-1914, 1985.
- WARWICK, W. F. et al. The incidence of deformities in *Chironomus* spp. from Port Harbour, Lake Ontario. *Journal of Great Lakes Research*, 13: 88-92, 1987.
- WATZIN, M. C. & MACINTOSH, A. W. Aquatic ecosystems in agricultural landscapes: a review of ecological indicators and achievable ecological outcomes. *Journal of Soil and Water Conservation*, 4: 636-644, 1999.
- WASHINGTON, H. G. Diversity, biotic and similarity indices: a review with special relevance to aquatic ecosystems. *Water Research*, 18: 653-694, 1984.
- WHITTIER, T. R.; HUGUES, R. M. & LARSEN, D. P. Correspondence between ecoregions and spatial patterns in stream ecosystem in Oregon. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, 45: 1264-1278, 1988.
- WIEDERHOLM, T. Incidence of deformed chironomid larvae (Diptera: Chironomidae) in Swedish lakes. *Hydrobiologia*, 109: 243-249, 1984.
- WRIGHT, J. F. Development and use of a system for predicting the macroinvertebrate fauna in flowing waters. *Australian Journal of Ecology*, 20: 181-197, 1995.
- WRIGHT, J. F. et al. A preliminary classification of running-water sites in Great Britain based on macro-invertebrate species and the prediction of community type using environmental data. *Freshwater Biology*, 14: 221-256, 1984.
- WRIGHT, J. F. et al. New procedures for identifying running-water sites subject to environmental stress and for evaluating. *Hydrobiologie*, 127: 319-326, 1993.

