

# TESTE ECOTOXICOLÓGICO ANTES E APÓS A MINERALIZAÇÃO DOS COMPOSTOS GLIFOSATO, CIHEXATINA E CIPERMETRINA, UTILIZANDO O ORGANISMO-TESTE *Daphnia similis*

Rissi, T. A.; Rodrigues-Pinto, M.; Cavalcante, N. O.; Goddoy, E. F.; De-Almeida, G.; Attili-Angelis, D.

Universidade Estadual de Campinas – Centro Superior de Educação Tecnológica – CESET  
CEP-13484-332, Cx.Postal 456, Limeira, SP, Brasil.  
thalita.rissi@gmail.com

Palavras-chave: toxicidade, biodegradação, agroquímicos, *Daphnia similis*.

## Introdução

Na década de 80, o Brasil tornou-se o maior produtor mundial da indústria do suco com mais de 1 milhão de hectares de plantas cítricas em seu território. O estado de São Paulo responde pela produção de 70% das laranjas e 98% do suco produzidos. O município de Limeira, localizado no Cinturão Citrícola, já recebeu o título de Capital da Laranja devido à grande produção no passado. Apesar da importância no setor econômico a citricultura possui entraves que limitam sua atuação, como a presença de inúmeras pragas e doenças que causam danos à produção.

O uso extensivo de pesticidas representa a tecnologia predominante de combate às pragas, os quais constituem substâncias tóxicas e deletérias aos animais terrestres e aquáticos bem como ao restante do ambiente. Assim, a contaminação dos solos tornou-se um grave problema ambiental, devido ao uso indiscriminado e irracional destes agroquímicos que podem ser facilmente transportados aos corpos d'água, através da lixiviação ou escoamento superficial, aumentando a extensão da contaminação. A duração do efeito de um pesticida e sua permanência no meio estabelece a persistência desse composto, sendo esta influenciada por sua estrutura química e pelas condições ambientais. O conhecimento e a compreensão do comportamento desses compostos e dos processos do solo que os afetam, tornam-se necessários, pois o estabelecimento de métodos para controlar a persistência do defensivo e minimizar seus efeitos deletérios ao meio é ecologicamente importante. Dados ecotoxicológicos relacionados à toxicidade de uma substância para um organismo, como um pesticida, são obtidos mais facilmente através de testes de toxicidade aguda, que refere-se ao início rápido de sintomas. Sabendo-se da importância da microbiota do solo para os processos de degradação, o presente trabalho teve como objetivo avaliar o grau de biodegradação de agroquímicos em uma plantação de laranja, localizada próximo à cidade de Limeira. Em virtude do intenso uso de aplicação, os seguintes agroquímicos foram escolhidos para este estudo: glifosato (herbicida) com taxas de aplicação do produto de 2% e 4%, cihexatina (acaricida), cipermetrina (inseticida) e uma associação dos dois últimos. As técnicas utilizadas para alcançar os objetivos propostos foram o método respirométrico de Bartha, e os ensaios toxicológicos com o organismo-teste *Daphnia similis*, verificando-se a toxicidade anterior e posterior ao ensaio respirométrico.

## Materiais e Métodos

A amostra de solo foi coletada a uma profundidade de até 20 cm, ao acaso em uma área de plantação de laranja próxima ao município de Limeira, SP, de acordo com a Norma Técnica CETESB L6.245/84 – "Solos- Coleta e Preparação de Amostras-Procedimento". Na mesma localidade foram obtidas as amostras dos agroquímicos estudados. A amostra foi transportada até o Laboratório de Ecotoxicologia Aquática e Limnologia (LEAL) no

CESET/UNICAMP, onde realizaram-se as análises.

No laboratório uma parte da amostra foi mantida à temperatura ambiente, e após peneirada em malha 2 mm, determinou-se o peso seco e a capacidade de campo. O restante foi armazenado em sacos plásticos, refrigerados à 4°C.

### *Respirometria*

A taxa de biodegradação da matéria orgânica presente no solo coletado, foi calculada através do método de respirometria, Norma Técnica CETESB L6.350/90 – "Resíduos-Método Respirométrico de Bartha". Para o ensaio foi necessário estimar a capacidade de campo do solo. Assim, cerca de 30g de solo úmido foi seco em estufa a 104°C por 24 horas e após uma nova pesagem calculou-se a porcentagem de umidade.

Na determinação da capacidade de campo (estimada), uma quantidade de solo úmido foi seca em estufa à 104°C por 24 horas. Em seguida, adicionou-se 2 mL de água destilada a 100 g de solo seco, em duplicata. O torrão formado foi pesado e levado à estufa a 104°C por 18 horas e pesado novamente. A porcentagem da capacidade de campo foi determinada pela diferença dos pesos. Para a montagem dos respirômetros em duplicata, pesou-se 50 g de solo e pipetou-se 2 mL de resíduo diluído, exceto no frasco controle. As concentrações das substâncias foram preparadas de acordo com a dose recomendada no Sistema de Informações sobre Agrotóxicos – S.I.A./ ANVISA, em função da cultura e da praga existente. As concentrações preparadas foram as seguintes: glifosato 2% e 4%, cihexatina 0,5 mL/L e cipermetrina 0,65 mL/L. Após a adição dos resíduos os respirômetros foram aerados e em seguida, no braço lateral adicionou-se 10 mL de solução de hidróxido de potássio (KOH) 0,2N por injeção. Os frascos foram incubados a  $20 \pm 2$  °C e submetidos a fotoperíodo de 12 horas. A determinação da quantidade de CO<sub>2</sub>, em cada respirômetro, foi realizada conforme Norma CETESB L6.350/90.

### *Teste de toxicidade*

O teste foi realizado em duas etapas: 1. antes e 2. depois da biodegradação. Para a realização da etapa 1 preparou-se a fração solúvel em água conforme a quantidade de resíduo utilizado nos respirômetros, deixando-as em repouso à temperatura ambiente por 22 horas. Pesou-se 25 g da mistura, adicionando 100 mL de água destilada, em duplicata e manteve-se em agitação por 24 horas. Deixou-se em repouso por 30 minutos, levando o sobrenadante à centrifugação por 10 minutos a 2500 rpm.

Para a montagem do teste, segundo a Norma Técnica ABNT - NBR 12713/04 – "Ecotoxicologia Aquática – Toxicidade aguda – Método de ensaio com *Daphnia* spp", prepararam-se as concentrações de 100, 10, 1, 0,1, 0,01 e 0,001% e controle, em triplicata, para cada resíduo, incubadas por 48 horas à 20°C. O teste após a biodegradação ainda está em andamento e para o mesmo, realizou-se o procedimento acima utilizando-se a mistura solo-resíduo contida nos respirômetros.

## **Resultados e Discussão Preliminares**

### *Determinação da umidade e capacidade de campo do solo*

Os resultados mostraram 14,5% de umidade e 30,5% de capacidade de campo (estimado). De acordo com a faixa de umidade do solo, entre 50% e 70% da capacidade de campo estabelecida pela Norma CETESB L6.350/90, a quantidade de resíduo utilizada em cada respirômetro foi de 2 mL, obtendo-se assim um solo com umidade de 16,5%.

### Determinação da toxicidade aguda antes da biodegradação (etapa 1)

Os valores de  $CE_{50}$  48h dos ingredientes ativos utilizados no teste estão apresentados na Tabela 1. Determinaram-se os resultados através do método estatístico Trimmed Spearman-Kärber Methods for Estimating Median Lethal Concentration in Toxicity Bioassays - Jsphear, (apud Oliveira-Neto, 2002) a partir do número de organismos imóveis presentes em cada diluição.

Tabela 1. Resultados da  $CE_{50}$  48 h das amostras de solo.

| Tipo       | Amostras            | Ocorrência de Toxicidade | $CE_{50}$ 48h (%) |
|------------|---------------------|--------------------------|-------------------|
| -          | Solo sem aplicação  | NÃO                      | -                 |
| Herbicida  | Solo + Glifosato 2% | NÃO                      | -                 |
| Herbicida  | Solo + Glifosato 4% | NÃO                      | -                 |
| Acaricida  | Solo + Cihexatina   | NÃO                      | -                 |
| Inseticida | Solo + Cipermetrina | SIM                      | 42,17             |
| -          | Solo + Associação   | SIM                      | 34,33             |

### Respiração

Após quinze dias de incubação determinou-se, para cada respirômetro, a produção acumulada de dióxido de carbono resultante da biodegradação do resíduo. A quantidade de  $CO_2$  acumulada em função do tempo de incubação encontra-se na Tabela 2 e a sua representação gráfica na Figura 1.

Tabela 2. Quantidade de  $CO_2$  acumulado durante 15 dias.

| Leituras realizadas | Data<br>Leitura | $CO_2$ ACUMULADO (mg/L) |         |        |       |         |          |
|---------------------|-----------------|-------------------------|---------|--------|-------|---------|----------|
|                     |                 | GLIZ 2%                 | GLIZ 4% | CIHEX. | CIP.  | SIP+CIP | CONTROLE |
| 0                   | 15/mai/08       |                         |         |        |       |         |          |
| 1                   | 17/mai/08       | 9,11                    | 10,98   | 0,67   | 3,75  | 7,63    | 0,80     |
| 2                   | 19/mai/08       | 17,30                   | 26,03   | 3,49   | 5,76  | 5,89    | 3,36     |
| 3                   | 22/mai/08       | 21,09                   | 32,06   | 6,30   | 7,03  | 7,01    | 5,60     |
| 4                   | 25/mai/08       | 25,45                   | 38,66   | 8,01   | 9,01  | 10,31   | 6,39     |
| 5                   | 27/mai/08       | 26,26                   | 41,25   | 9,24   | 9,69  | 11,54   | 10,07    |
| 6                   | 30/mai/08       | 28,86                   | 41,97   | 9,67   | 11,27 | 14,27   | 11,08    |

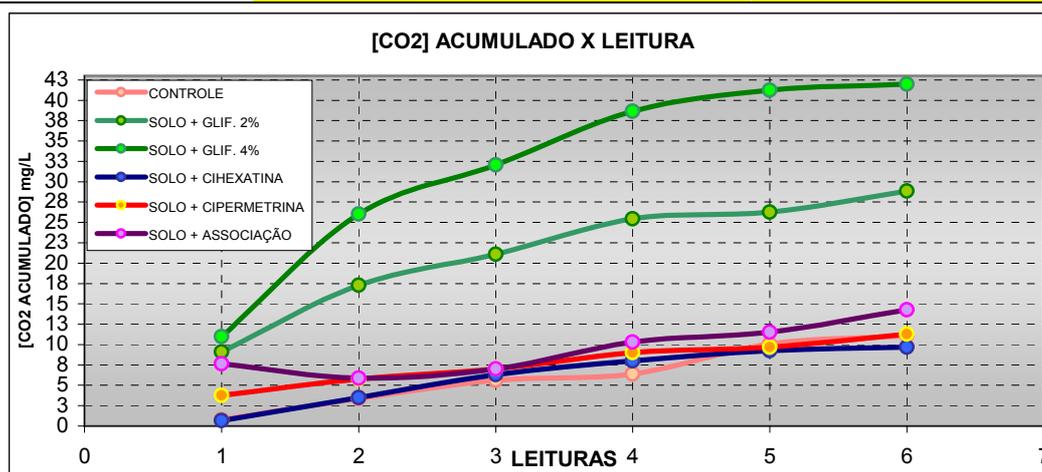


Figura 1. Quantidade de  $CO_2$  acumulado durante um período de 15 dias.

Finalizado o ensaio de biodegradação, realizar-se-á o teste de toxicidade com o solo utilizado nos respirômetros, para que possam ser feitas comparações entre a toxicidade antes e após a biodegradação.

Conforme pode-se observar no ensaio ecotoxicológico, antes da biodegradação o herbicida glifosato não apresentou toxicidade para o organismo *Daphnia similis* nas proporções de 2% e 4% (como recomendado pelo fabricante), este comportamento pode ser devido ao fato do glifosato ser um composto orgânico dipolar, apresentando assim uma alta taxa de adsorção aos óxidos e hidróxidos de alumínio e ferro e à matéria orgânica, como evidenciado em solos brasileiros. A cihexatina também não apresentou níveis tóxicos detectáveis. Acredita-se que da mesma forma que o glifosato, o agroquímico cihexatina possa ter sido adsorvido pelo solo, e por não se encontrar prontamente biodisponível, não afetou o organismo testado.

O ensaio realizado mostrou indícios de toxicidade aguda para *Daphnia similis* pelo inseticida cipermetrina (CE<sub>50</sub> 42,17%) e pela associação cipermetrina e cihexatina (CE<sub>50</sub> 34,33%). A associação apresentou maior toxicidade para organismo *Daphnia similis* do que quando aplicados separadamente; demonstrando que a sinergia entre as substâncias potencializou o efeito tóxico para o organismo.

Nos ensaios de biodegradação, o glifosato 4% apresentou maior produção de CO<sub>2</sub> acumulado (41,97 mg/L) seguido pela taxa de 2% (28,86 mg/L), revelando a melhor degradabilidade em relação ao composto cihexatina + cipermetrina (14,27 mg/L CO<sub>2</sub> acumulado), cipermetrina (11,27 mg/L CO<sub>2</sub> acumulado) e cihexatina (9,67 mg/L CO<sub>2</sub> acumulado). Até o momento a relação entre toxicidade e biodegradação demonstrou que a cipermetrina e associação (cihexatina + cipermetrina) apresentaram baixa respiração e indício de toxicidade aguda, confirmando o efeito potencialmente tóxico destas substâncias sobre a microbiota do solo e ao organismo-teste.

### **Referências bibliográficas**

CETESB - Companhia de Tecnologia de Saneamento Ambiental. **Resíduos - Método Respirométrico de Bartha**. L6.350, 15p,1990.

CETESB - Companhia de Tecnologia de Saneamento Ambiental. **Solos- Coleta e Preparação de Amostras- Procedimento**. L6.245, 1984.

ABNT – Associação Brasileira de Norma Técnicas, **Ecotoxicologia aquática – Toxicidade aguda – Método de ensaio com *Daphnia spp* (Cladocera, Crustácea)**. NBR 12713, 2004.

OLIVEIRA-NETO, A. L.; BOTTA-PASCHOAL, C. M. R. – **Sensibilidade do Cladóceras Lacustre Planctônico *Ceriodaphnia silvestri* (Família Daphnidae) ao metais cádmio, cromo e chumbo**. In: ESPINDOLA, E.L.G.; *et al.* – **Ecotoxicologia: Perspectivas para o século XXI**. Editora Rima, São Carlos, SP, p.537-543, 2002.

ZAGATTO, P. A.; BERTOLETTI, E.- **Ecotoxicologia Aquática – Princípios e Aplicações**. Editora Rima, 464p, 2006.

ARAÚJO, A. S. F.- **Biodegradação, extração e análise de glifosato em dois tipos de solo**. Tese de Mestrado- Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”. Universidade de São Paulo, Piracicaba, SP, 2002.

ANVISA. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Disponível em: <[www4.anvisa.gov.br/agrosia/asp/default.asp](http://www4.anvisa.gov.br/agrosia/asp/default.asp)>. Acesso em 06/06/08.

ALICITROS. Associação de Citricultura da Região de Limeira. Disponível em: <[www.alicitros.com.br](http://www.alicitros.com.br)>. Acesso 06/06/08.

FUNDECITRUS. Fundo de Defesa da Citricultura. Disponível em: <[www.fundecitrus.com.br](http://www.fundecitrus.com.br)>. Acesso 06/06/08.