

# TESTES ECOTOXICOLÓGICOS BASEADOS NA EXPOSIÇÃO DE ANELÍDEOS E SEMENTES DE ALFACE ATRAVÉS DA ADIÇÃO DE DIFERENTES CONCENTRAÇÕES DE SURFACTANTES AO SOLO

Labre <sup>1</sup>, J.C. C.; Silva, J. M de A<sup>2</sup>.; Millioli, V.S<sup>3,4</sup>, Carvalho, D.D, de<sup>4</sup>

1 – Biologia – UFRRJ; 2 - Biologia – UFRJ; 3 - CETEM/MCT; PRH 13/ANP

4 – Escola de química – EQ/UFRJ

julianalabre@click21.com.br

Palavras-chave: Toxicidade, *Eisenia andrei*, *Lactuca sativa*, solo, surfactantes

## Introdução

A ecotoxicologia é um dos novos campos da ciência que busca compreender a forma como os ecossistemas metabolizam, transformam, degradam, eliminam, acumulam e sofrem ação da toxicidade das diversas substâncias químicas neles introduzidas (AZEVEDO & CHASIN, 2003). Desta forma, testes ecotoxicológicos são metodologias que permitem avaliar a toxicidade de substâncias sobre um ambiente através da exposição de organismos vivos (bioindicadores). Minhocas são essencialmente cosmopolitanas e vulneráveis a maioria dos fatores que especialmente afetam os ecossistemas do solo. Dessa forma, as espécies recomendadas pelo padrão OECD (1984) são *Eisenia fetida* e *E. andrei* que podem ser cultivadas facilmente no laboratório. Contudo, as plantas são muitas vezes sensíveis a substâncias tóxicas e podem ser utilizadas também como bioindicadores. Muitos estudos têm demonstrado a eficiência de espécies como pepino e agrião, alface e soja em testes de toxicidade (GUNDERSSON *et al.*, 1997; HELFRICH *et al.*, 1998), sendo que a fitotoxicidade pode ser determinada pela germinação das sementes, alongamento da raiz e crescimento da muda (OECD; 1984b).

## Materiais e Métodos

### *Solo e surfactantes*

Neste trabalho foi utilizado um solo da região Nordeste do Brasil e foram utilizados dois surfatantes disponíveis no comércio, sendo um de origem microbiana (ramnolipídio) e outro químico SDS (dodecil sulfato de sódio).

### *Teste de mortalidade de minhocas*

O método empregado foi uma adaptação da metodologia descrita no Guia para Testes Químicos nº207 (OECD, 1984) e baseou-se na taxa de mortalidade de minhocas em solos com diferentes concentrações de ambos surfactantes (0,001 a 1,5%p/p de ingrediente

ativo). Todos os testes foram realizados em recipientes de vidro contendo 200 gramas de solo, 20 gramas de esterco, 10 minhocas sexualmente maduras (com clitelo aparente) e água suficiente para gerar um índice de umidade de 35%. Todos os potes foram revestidos com papel pardo, para reduzir a incidência de luz direta, cobertos com tecido poroso e etiquetados para especificação da data de montagem, concentração e tipo de biosurfactante (ramnolipídio ou dodocil sulfato de sódio). Cada experimento foi realizado em duplicata e monitorado, respectivamente, após sete e quatorze dias, quando foi quantificada a taxa de mortalidade.

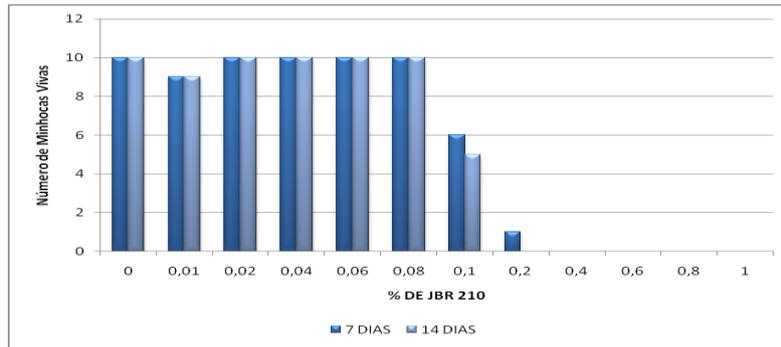
#### *Germinação com Lactuca sativa*

O método de germinação e crescimento das raízes, sugerido por YERUSHALMI et al. (2003) foi aplicado utilizando-se sementes de alface da espécie *Lactuca sativa*. Inicialmente o solo virgem foi contaminado com diferentes concentrações de surfatantes que variaram de 0,01 a 1,5% de ingrediente ativo. Uma das maneiras mais utilizadas de se caracterizar o composto segundo sua fitotoxicidade, foi através do cálculo do índice de germinação. O índice de germinação (%IG) pode ser calculado através da seguinte fórmula: %IG = (% germinação das sementes) x (% crescimento das raízes): 100, onde: % Germinação de sementes = (% germinação no extrato): (% germinação no controle) x 100.

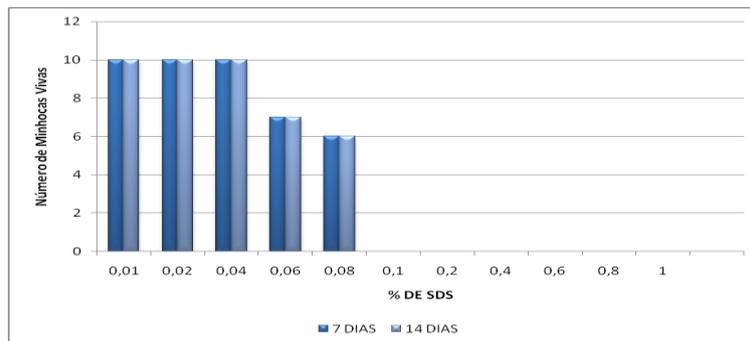
### **Resultados e Discussão**

#### *Testes com ramnolipídio e SDS utilizando Eisenia andrei*

Nos experimentos realizados com o ramnolipídio foi possível observar que a mortalidade de minhocas apresentou-se de forma significativa em concentrações acima de 0,08 % (v/m). Segundo DORN et al. (1998), um parâmetro importante para o teste de mortalidade de minhocas é a determinação da concentração letal para 50% da população (CL50), que neste caso foi 0,1% (v/m) em 14 dias. No entanto, já a partir da concentração 0,2% (v/m), após 14 dias, todos os indivíduos estavam mortos. A Figura 1 apresenta de forma ordenada todos os resultados obtidos com adição de diferentes concentrações de ramnolipídio ao solo. Em relação aos experimentos realizados com SDS, observou-se que a mortalidade das minhocas teve início em concentrações acima de 0,04 % (v/m). A concentração letal para 50% da população (CL50) foi atingida entre 0,06 e 0,08% (v/m), entretanto, nas concentrações subseqüentes, nenhum organismo sobreviveu. Na Figura 2 é apresentada a análise das diferentes concentrações de SDS em 7 e 14 dias de experimento.



**Figura 1:** Minhocas vivas em diferentes concentrações de ramnolipídio após 7 e 14 dias

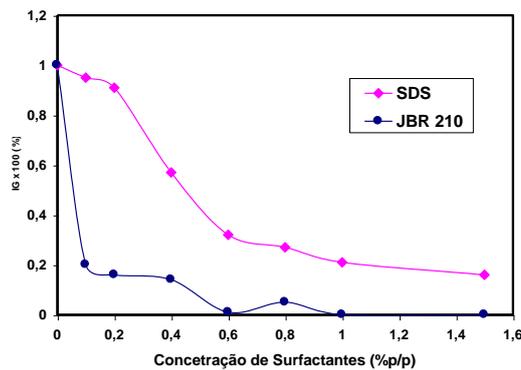


**Figura 2:** Minhocas vivas em diferentes concentrações de SDS após 7 e 14 dias

#### *Germinação com Lactuca sativa*

A Figura 3 mostra o comportamento dos surfatantes quanto ao índice de germinação. Segundo análise feita, percebeu-se que nas concentrações entre 0,1 a 0,6 %p/p, o SDS apresenta IG (índice de greminação) superior ao ramnolipidio embora o uso de SDS pareça menos impactante a biota local, ocorre uma inversão na média de crescimento do eixo hipocótilo-radícula a partir de 0,8 %p/p, de modo que o ramnolipídio passa a ter maiores médias de crescimento. Percebe-se ainda, que o ramnolipidio tendeu a uma constância nas diluições a partir de 1,0% p/p e o SDS a partir de 0,8 % p/p. Vale a pena salvaguardar que na concentração de 0,1% houve incremento no índice de germinação. Isso pode ter ocorrido por erro procedimental ou pela possibilidade de que baixas concentrações desses surfatantes contribuam para aumentar a fertilidade do solo e conseqüentemente, o índice de germinação da *L. sativa*. Todavia, ressalta-se que exceto nesta concentração de 0,1%p/p, a adição das demais concentrações foram inibitórias à germinação da *L. sativa*. Os experimentos mostraram que ambos surfactantes foram impactantes para as espécies analisadas mesmo em baixas concentrações. Entretanto, ao se pensar em adicionar ambos ao como auxiliares num processo de biorremediação de solo contaminado com óleo cru, as menores adições, ou seja, abaixo de 0,1% p/p devem ser testadas para verificar se estas adições melhorariam a taxa de

degradação do óleo aderido ao solo.



**Figura 3:** Índice de germinação (IG) de solo com diferentes concentrações de surfatantes em relação à massa do solo

### Referências:

AZEVEDO, F. A.; CHASIN, A. A. M. **As bases toxicológicas da ecotoxicologia**. São Carlos: ed.Rima, 2003. 322p.

DORN, P.B., VIPOND, T.E., SALANITRO, J.P, WISNIEWSKI, H.L. **Assessment oh the acute toxicity of crude oils in soils using earthworms, microtox, and plants**. *Chemosphere*, v. 37 (37) pp. 845-860,1998.

GUNDERSSON, C.A.; KOSTUK, J.M.; MITCELL, H.G.; NAPOLITANO, G.E.; WICKER, L.F.; RICHMOND, J.E.; STEWART, A.J. Multispecies toxicity assessment of compost produced in bioremediation of an explosives-contaminated sediment. **Environmental Toxicology and Chemistry**, v.16, p.2529-2537, 1997.

HELFRICH, P.; CHEFETZ, B.; HADAR, Y.; CHEN, Y.; SCHNABL, H. A novel method for determining phytotoxicity in compost. **Compost Science and Utilization**, v.6, p.6-13, 1998.

MULLIGAN, C.N. Environmental applications for biosurfactants. **Environmental Pollution**. vol.133, pp.183-198. 2005

NITSCHKE, M. PASTORE,G.M. "Biosurfactantes: propriedades e aplicações". **Quimica Nova** , vol. 25, No. 5, pp. 772-776.2002.

NOORDMAN, W.H.;WACHER, J.J.J.;BOER, G.L. de; JANSSEN,D.B. The enhancement by biosurfactants of hexacade degradation by *Pseudomonas aeruginosa* varies with substrate availability. **Journal of Biotechnology**, vol. 94; pp. 195-121. 2002.

OECD(Organization for Economic Cooperation and Development. Guideline 208: Terrestrial Plants, Growth Test. OECD Guidelines for testing of chemical. OECD Paris. (1984)

OECD – Organization for Economic Cooperation and Development. Guideline for testing of chemicals n°207, 1984b.

YERUSHALMI, L. ROCHELEAU, S. CIMPOIA, R. SARRAZIN, M. SUNAHARA, G. PEISAJOVICH, A. LECLAIR, G. GUIOT, S.R. Enhanced biodegradation of petroleum hydrocarbons in contaminated soil. **Bioremediation Journal**, vol. 7, pp. 37-51, 2003.