

Seminário de Pós-Graduação na Embrapa Amazônia Ocidental: Integrando Esforços para o Desenvolvimento da Amazônia

Cleci Dezordi
Wenceslau Geraldes Teixeira
Editores-Técnicos



*Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária
Embrapa Amazônia Ocidental
Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento*

Seminário de Pós-Graduação na Embrapa Amazônia Ocidental: Integrando Esforços para o Desenvolvimento da Amazônia

*Cleci Dezordi
Wenceslau Geraldes Teixeira*
Editores-Técnicos

*Embrapa Amazônia Ocidental
Manaus, AM
2008*

Exemplares desta publicação podem ser adquiridos na:

Embrapa Amazônia Ocidental

Rodovia AM-010, Km 29, Estrada Manaus/Itacoatiara

Caixa Postal 319, 69010-970, Manaus - AM

Fone: (92) 3303-7800

Fax: (92) 3303-7820

www.cpa.embrapa.br

Comitê Local de Publicações

Presidente: *Celso Paulo de Azevedo*

Secretária: *Gleise Maria Teles de Oliveira*

Membros: *Carlos Eduardo Mesquita Magalhães*

Cheila de Lima Boijink

Cintia Rodrigues de Souza

José Ricardo Pupo Gonçalves

Luis Antonio Kioshi Inoue

Marcos Vinícius Bastos Garcia

Maria Augusta Abtibol Brito

Paula Cristina da Silva Ângelo

Paulo César Teixeira

Regina Caetano Quisen

Revisor de texto: *Síglia Regina dos Santos Souza*

Normalização bibliográfica: *Maria Augusta Abtibol Brito*

Diagramação e arte: *Gleise Maria Teles de Oliveira*

Webdesign: *Doralice Campos Castro*

1ª edição (2008): 50 CDs

Todos os direitos reservados.

A reprodução não autorizada desta publicação, no todo ou em parte, constitui violação dos direitos autorais (Lei nº 9.610).

CIP-Brasil. Catalogação-na-publicação.

Embrapa Amazônia Ocidental.

Seminário de Pós-Graduação na Embrapa Amazônia Ocidental (1. : 2008 : Manaus).

Integrando esforços para o desenvolvimento da Amazônia / editores Cleci Dezordi e Wenceslau Geraldes Teixeira. Manaus: Embrapa Amazônia Ocidental, 2008.

124 p.

ISBN 978-85-89111-05-8

1. Pesquisa. 2. Congresso. I. Dezordi, Cleci. II. Teixeira, Wenceslau Geraldes. III. Título.

CDD 630.72

© Embrapa 2008

Editores

Cleci Dezordi

Bolsista CNPq, Embrapa Amazônia Ocidental,
Manaus, AM, cleci.dezordi@cmaa.embrapa.br

Wenceslau Geraldes Teixeira

Engenheiro Agrônomo, D.Sc. em Física e Manejo do
Solo, pesquisador da Embrapa Amazônia Ocidental,
Manaus, AM, wenceslau@cmaa.embrapa.br

Toxicidade Aguda e Rejeição do Fungicida Oxicloreto de Cobre para *Eisenia fetida* e *Pontoscolex corethrurus* (Oligochaeta)

C. C. Mestrinho¹; M. V. T. de Brito²; M. V. B. Garcia³; S. H. S. Pinheiro⁴

¹Mestranda do Curso de Pós-Graduação em Agronomia Tropical - Ufam, Bolsista CNPq, Universidade Federal do Amazonas (Ufam), Manaus, AM, milamest@hotmail.com; ²Graduando em Biologia, Bolsista CNPq, Ulbra, Manaus, AM, marcus.brito@cpaa.embrapa.br; ³Pesquisador Embrapa Amazônia Ocidental, Manaus, AM, marcos.garcia@cpaa.embrapa.br; ⁴Graduanda em Biologia, Bolsista Fapeam, Uninorte, Manaus, AM, suzi_nha_hevellyn@hotmail.com

Resumo

Os organismos do solo, sobretudo as minhocas, são essenciais para a manutenção dos processos químicos e biológicos do solo. Entretanto, as minhocas são incapazes de desempenhar essa função essencial, se expostas em solos contaminados por substâncias químicas orgânicas e inorgânicas estranhas (xenobióticos). Neste estudo, foram avaliados os efeitos do fungicida oxicloreto de cobre nos parâmetros mortalidade e rejeição ao solo contaminado de duas espécies de minhoca, *Eisenia fetida* (espécie-teste padrão) e *Pontoscolex corethrurus* (espécie nativa), como organismo indicador. Ensaios de toxicidade foram desenvolvidos com base em métodos padronizados em protocolos internacionais (OECD e ISO). Além da taxa de mortalidade, avaliou-se o efeito sobre o comportamento, i.e., a capacidade que as minhocas têm de evitar solos contaminados com esse fungicida. Os testes foram feitos em laboratório, usando solo natural coletado em várzea e em terra firme. O fungicida oxicloreto de cobre apresenta baixa toxicidade aguda para minhocas. Entretanto, os ensaios de rejeição mostraram que as minhocas evitam solos contaminados com esse fungicida, mesmo quando em baixas concentrações, o que implica provável efeito sobre a atividade desses organismos no solo.

Palavras-chave: ecotoxicologia, pesticidas, ambiente.

Introdução

Com o aumento da população humana e com o rápido desenvolvimento industrial, a presença de substâncias contaminantes no ambiente vem se tornando um grave problema. Além dos impactos causados à saúde dos que produzem e dos que consomem alimentos contaminados, o uso intensivo dos agroquímicos tem provocado a formação e a deposição de grandes quantidades de resíduos, resultando em efeitos adversos sobre organismos não-alvo, bioconcentração e biomagnificação nas cadeias biológicas (MURTY, 1986).

Os fungicidas cúpricos, que são à base de um metal pesado, o cobre, quando usados sem critérios, podem se acumular no solo e causar toxicidade aos organismos nele presentes. Um exemplo disso é o oxicloreto de cobre, amplamente utilizado nas várzeas próximas de Manaus para o controle de doenças em plantas cultivadas (WAICHMAN et al., 2002).

A toxicidade do oxiclureto de cobre é normalmente baixa (THOMSON, 1978; EDWARDS; BOHLEN, 1992), entretanto ainda existem poucos estudos sobre a toxicidade dessas substâncias sobre a fauna do solo (KULA, 1994).

Tentativas têm sido elaboradas para padronizar as condições de testes, permitindo, assim, que os resultados de diferentes laboratórios possam ser comparados. Logo, alguns testes têm sido propostos para avaliar o efeito de poluentes potencialmente perigosos para as minhocas, organismos representativos da fauna do solo. Testes como o de toxicidade aguda e crônica (KOKTA, 1992; VAN GESTEL; VAN STRAALLEN, 1994), bem como os de rejeição, que é alternativa para uma rápida avaliação da toxicidade, têm sido recomendados na avaliação de solos contaminados que estejam em processo de remediação (YEARDLEY et al., 1996; HUND-RINKE et al., 2003).

O objetivo deste estudo foi avaliar o risco ecotoxicológico da contaminação por oxiclureto de cobre na taxa de mortalidade e rejeição ao solo contaminado de duas espécies de minhoca, *Eisenia fetida* e *Pontoscolex corethrurus*.

Material e Métodos

Os estudos foram desenvolvidos na Embrapa Amazônia Ocidental, localizada no Km 29 da AM-010, norte da cidade de Manaus, cujas coordenadas geográficas são 02°53'sul e 59°59'oeste.

As espécies testadas foram *E. fetida* (Oligochaeta, Lumbricidae), espécie teste-padrão, atualmente recomendada em protocolos internacionais (OECD, 1984), e *P. corethrurus* (Oligochaeta, Glossoscolecidae), abundante na Região Amazônica. Ambas foram previamente

mantidas no Laboratório de Entomologia da Embrapa.

Os testes de toxicidade foram feitos em solo natural da Região Amazônica das classes Gleissolo e Latossolo. As características físico-químicas desses solos serão determinadas.

A substância usada como ingrediente ativo (i.a.) foi o oxiclureto de cobre, cuja formulação comercial denominada Fungitol azul, do grupo químico cúprico contém 588g/kg do ingrediente ativo com equivalente a 35% de cobre metálico.

O sistema para determinação da toxicidade aguda de fungicidas foi baseado nos protocolos internacionais OECD nº207. Para *E. fetida*, foram testadas cinco concentrações (tratamentos): 175, 350, 700, 1.400 e 2.800 mg/kg de Cu para solo artificial e 100, 200, 400, 800 e 1.200 mg/kg de Cu para solo natural. Cada concentração foi testada em quatro repetições, com 10 indivíduos por repetição. Minhocas com peso superior a 300 mg foram selecionadas para o teste. Potes de vidro de 750 mL foram utilizados como recipiente-teste, onde foram pesados 590 g do solo já contaminado em cada pote. Posteriormente eram levadas para serem incubadas à temperatura de 28°C ± 2°C. E para *P. corethrurus*, as concentrações testadas foram 70, 140, 280, 560 e 1.120 mg /kg de Cu para solo natural. Cada concentração foi testada com quatro repetições, com cinco indivíduos por repetição. As minhocas com peso superior a 290 mg foram selecionadas para o teste. Potes de vidro de 1,3 L foram utilizados como recipiente-teste, onde foram pesados 500 g de solo em cada pote. Após a contaminação, foram retiradas amostras para determinação da umidade e do pH do substrato. A primeira avaliação foi feita após sete dias, para se observar mudanças na biomassa, bem como o número de

letalidades encontrado. A segunda avaliação foi feita aos 14 dias, quando o teste foi encerrado. Os ensaios de toxicidade aguda foram feitos em delineamento inteiramente casualizado com cinco tratamentos (concentrações) e controle, em quatro repetições, diferenças entre o controle e tratamentos foram avaliadas através da análise de variância (Anova) e para comparação de médias foi utilizado o teste de Dunnett, a 5% de significância. Para a estimativa da concentração letal mediana (CL_{50}), foi utilizado o método Trimmed Spearman-Kärber (HAMILTON et al., 1977). O teste de rejeição foi baseado no Draft ISO-17512 (INTERNATIONAL ORGANIZATION FOR STANDARDIZATION, 2006). Neste, avaliou-se o efeito comportamental ao substrato contaminado, permitindo a migração entre ambos. Para *E. fetida* foram usadas cinco concentrações: 7, 14, 28, 56 e 112 mg/kg de Cu para solo artificial e natural. Cada concentração foi testada em quatro repetições. Caixas de plástico (área 11 cm x 15,5 cm, 6 cm de altura) foram preenchidas com 250 g de solo em cada metade, uma com substrato contaminado e outra com o não contaminado. Foi usada uma lâmina divisória para evitar a mistura dos substratos, em seguida a lâmina foi retirada, e dez indivíduos com peso superior a 300 mg foram colocados na região central do recipiente. Em seguida estes foram incubados por 48 horas a $28\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 2\text{ }^{\circ}\text{C}$, na ausência de luminosidade. Ao término da incubação, cada recipiente foi cuidadosamente examinado e as seções (controle e tratamento) separadas, onde foi registrado o número de indivíduos que migraram para o controle. A resposta de rejeição foi quantificada pela diferença entre as proporções de indivíduos em cada uma das seções, pela fórmula: $R = [(C - T) / 10] \times 100$; em que (C) é o total de indivíduos observados no solo controle; (T) é o total de indivíduos observados no solo contaminado e "10" representa o número de indivíduos

por repetição. Nesses ensaios, foi utilizado o Teste t-Student para comparação das médias do número de indivíduos entre as seções. Para *P. corethrurus*, esse teste ainda será realizado.

Resultados e Discussão

Segundo estudos de Neuhauser et al. (1985); Spurgeon et al. (1994) e Kula & Larink (1998), valores da CL_{50} para *Eisenia fetida* dependem do tipo de substrato utilizado, variando entre 100 e 1.002 mg/kg de Cu de solo. Os testes de toxicidade aguda mostraram que o fungicida oxiclreto de cobre tem baixa letalidade para minhocas. No presente estudo, a toxicidade desse fungicida para *E. fetida* foi ainda menor e considerado praticamente não tóxico, a concentração letal mediana (CL_{50}) de oxiclreto de cobre para solo artificial foi superior a 2.800 mg /kg de Cu (Tabela 1), e para solo natural mostrou-se mais sensível, pois a CL_{50} foi estimada em 1.130 mg Cu/ kg solo (Tabela2).

Entretanto, foi observado o efeito de redução da biomassa dos indivíduos quando expostos a concentrações subletais. Pesticidas com valores de concentração letal mediana (CL_{50}) maiores que 1.000 mg i.a./kg são considerados não tóxicos para minhocas no campo (KOKTA, 1992). Para *P. corethrurus*, a CL_{50} foi estimada em 792 mg /kg de Cu em solo natural tipo Latossolo, para essa espécie não existem dados disponíveis na literatura sobre a sensibilidade ao cobre. Os resultados dos testes de rejeição mostraram que as minhocas *E. fetida* evitaram solos contaminados com oxiclreto de cobre mesmo quando em baixas concentrações. Para o oxiclreto de cobre, esse efeito foi menos pronunciado no solo artificial ($EC_{50} = 97\text{ mg/kg de Cu}$), mas bastante evidente no solo natural ($EC_{50} = 21\text{ mg/kg de Cu}$), o que demonstra maior biodisponibilidade do pesticida no substrato natural (Tabela 3).

Tabela 1. Toxicidade aguda e efeito na biomassa de *Eisenia fetida* exposta em solo artificial contaminado com oxiclureto de cobre.

Concentrações (mg/kg de Cu)	Biomassa (mg)	Biomassa	Peso inicial	Mortalidade	Umidade do solo	pH
	1º dia	(mg)	(%)	(%)	(%)	
14º dia						
(Controle)	405,2	257,5	63,5	0,0	31,5	6,8
175	403,7	253,2	62,7	0,0	32,7	6,7
350	409,8	230,8	56,3 *	2,5	32,6	6,6
700	417,1	196,8	47,2 *	2,5	31,1	6,5
1.400	409,2	178,5	43,6 *	5,0	30,0	6,3
2.800	411,7	165,1	40,1 *	10,0	32,1	6,4

*Estatisticamente diferente do controle (Anova, Teste Dunnett, $P < 0,01$).

Tabela 2. Toxicidade aguda e efeito na biomassa de *Eisenia fetida* exposta em solo natural contaminado com oxiclureto de cobre.

Concentrações (mg/kg de Cu)	Biomassa (mg)	Biomassa	Peso inicial	Mortalidade	Umidade do solo	pH
	1º dia	(mg)	(%)	(%)	(%)	
14º dia						
(Controle)	403,0	256,6	63,7	2,5	17,5	5,3
100	412,3	264,3	64,1	2,5	20,3	5,9
200	398,9	229,1	57,4 *	5,0	18,9	6,0
400	402,7	210,8	52,3 *	5,0	17,9	6,1
800	408,7	n.d.	n.d.	22,5	18,9	6,4
1.200	411,0	n.d.	N.d.	55,0	18,9	6,6

*Estatisticamente diferente do controle (Anova, Teste Dunnett, $P < 0,01$); n.d. = não determinado.

Tabela 3. Efeito do fungicida oxiclureto de cobre sobre o comportamento de rejeição em *Eisenia fetida*.

Substrato	CE50 (IC – 95%) mg/kg de Cu
Solo Artificial	97
Solo Natural	21

Conclusões

Apesar da baixa toxicidade aguda para minhocas, a contaminação do solo por fungicidas como o oxiclureto de cobre pode resultar em considerável impacto ao ambiente em razão dos efeitos crônicos resultantes da bioacumulação.

O teste de rejeição é um método bastante sensível que permite avaliar o potencial tóxico de substâncias químicas para o solo. Além disso, produz informações de relevância ecológica de modo mais rápido que os testes de toxicidade aguda.

Referências

EDWARDS, C. A.; BOHLEN, P. J. The effects of toxic chemicals on earthworms. **Reviews of Environmental Contamination and Toxicology**, v. 125, p. 23-99, 1992.

HAMILTON, M. A.; RUSSO, R. C.; THURSTON, R. V. Trimmed Spearman-Kärber method for estimating median lethal concentrations in toxicity bioassays. **Environmental Science and Technology**, v. 11, p. 714-719, Correction (1978) 12, 417, 1977.

HUND-RINKE, K. et al. Avoidance test with *Eisenia fetida* as indicator for the habitat function of soils: Results of a laboratory comparison test. **Journal of Soils and Sediments**, v. 3, n. 1, p. 7-12, 2003.

INTERNATIONAL ORGANIZATION FOR STANDARDIZATION. **Draft ISO-17512**: Soil Quality e Avoidance test for evaluating the quality of soils and the toxicity of chemicals. Test with earthworms (*Eisenia fetida*/andrei). Geneve, Switzerland, 2006.

KOKTA, C. A laboratory test on sub-lethal effects of pesticides on *Eisenia fetida*. In: GREIG-SMITH, P.W. et al. **Ecotoxicology of earthworms**. Andover: Intercept, 1992. p. 213-216.

KULA, C. A prolonged laboratory test on sublethal effects of pesticides on *Eisenia fetida*. In: DONKER, M. H.; EIJSACKERS, H.; HEIMBACH, F. **Ecotoxicology of soil organisms**. Boca Raton: Lewis, 1994. p. 257-262.

KULA, H.; LARINK, O. Tests on the earthworms *Eisenia fetida* and *Aporrectodea caliginosa*. In LOKKE, H. C.; VAN GESTEL, C. A. M. (Ed.). **Handbook of soil invertebrate toxicity tests**. New York: Wiley, 1998. p. 95-112.

MURTY, A. S. **Toxicity of pesticide to fish**. Boca Raton: CRC Press, 1986. v. 1. p. 192.

NEUHAUSER, E. F. et al. Toxicity of metals to the earthworm *Eisenia fetida*. **Biology and Fertility of Soils**, 1985.

OECD Organisation for economic cooperation and development: **OECD-Guideline for testing of chemicals No. 207**. Earthworm acute toxicity test, Paris, 1984.

SPURGEON, D. J.; HOPKIN, S. P.; JONES, D. T. Effects of cadmium, copper, lead and zinc on growth, reproduction and survival of the earthworm *Eisenia fetida* (Savigny): Assessing the environmental impact of point-source metal contamination in terrestrial ecosystems. **Environmental Pollution**, v. 84, p. 123-130, 1994.

THOMSON, W. T. **Agricultural chemicals**. Fresno: Thomson, 1978. 236 p. (Book IV, Fungicides).

VAN GESTEL, C. A. M.; VAN STRAALLEN, N. M. Ecotoxicological test methods using terrestrial invertebrates. In: DONKER, M. H.; EIJSACKERS, H.; HEIMBACH, F. **Ecotoxicology of soil organisms**. Lewis: Boca Raton, 1994. p. 205-228.

WAICHMAN, A. V. et al. Use and fate of pesticides in the Amazon state, Brazil: risk to human health and the environment. **ESPR - Environmental Science and Pollution Research**, v. 9, n. 6, p. 423-428, 2002.

YEARLEY, R. B.; LAZORCHAK, J. M.; GAST, L. C. The potential of an earthworm avoidance test for evaluation of hazardous waste sites. **Environmental Toxicology and Chemistry**, v. 15, p. 1532-1537, 1996.