



## **Avaliação de toxicidade de águas impactadas pelo cultivo de cana-de-açúcar e pastagens utilizando *Daphnia similis***

**Aluno:** Dara Lazauskas Guida.

**Orientadora:** Profa. Dra. Gisela de Aragão Umbuzeiro.

**Co-orientador:** Dr. Rhaul de Oliveira.

### **Introdução**

A cana de açúcar sempre foi importante na história do Brasil, estando presente em sua história desde seu descobrimento. Em fevereiro de 2019 haviam 10,2 milhões de hectares de cana cultivados no país, sendo que mais de 50% desse cultivo está presente em São Paulo, segundo dados do IBGE.

Expandir culturas energéticas em áreas de pastagens degradadas ou subutilizadas tem sido considerado uma alternativa para evitar que haja o desmatamento da vegetação nativa do país, sendo efetuado de modo a preservar os ecossistemas. Porém, o conhecimento dos impactos ambientais causados pelo etanol de cana, principalmente no meio aquático, ainda é desconhecido no Brasil.

O aumento do cultivo de cana pode acarretar no aumento do uso de agrotóxicos nas plantações e, quando utilizados inadequadamente pode contaminar tanto o ambiente terrestre quanto o aquático. Dentre os agrotóxicos utilizados nas plantações de cana, estão o 2,4-D e o fipronil, que são considerados altamente perigosos e que foram estudados no trabalho.

Para avaliação de toxicidade aquática, testes com organismos modelo são amplamente empregados. A *Daphnia similis* é uma espécie de organismo modelo, tem entre 0,5 a 5,0 mm de comprimento, uma carapaça bivalve que encerra o corpo (com exceção da cabeça e antenas) e são organismos filtradores capazes de reter algas, bactérias e pequenas partículas de material orgânico por meio de suas pernas torácicas. São organismos muito sensíveis e, portanto, ideais para testes de toxicidade (BERTOLETTI; ZAGATTO, 2008).

O presente trabalho visou monitorar a toxicidade aguda de amostras de água em uma área de pastagem que tem sido convertida em área de cultivo de cana-de-açúcar utilizando *D. similis*.

### **Métodos**

As amostras foram coletadas na fazenda experimental do projeto temático “Environmental effects of the pasture-sugarcane conversion and pasture intensification”, nº 2015/18790-3 localizada em Brotas, onde há 15 *plots*, cada um contendo um mesocosmo, que foram divididas em 3 áreas, como mostra a figura 1:

- C1 a C5: canavial;
- P1 a P5: pastagem extensiva;
- PI1a PI5: pastagem intensiva.

Houve uma complicação no mesocosmo do *plot* P5, não sendo mais possível realizar a coleta e os testes de suas amostras, a partir de abril de 2019 (6ª coleta). Junto aos testes, também foram realizados 2 controles negativos (LAB1 e LAB2) para cada coleta, todos seguindo a norma OECD nº 202 (OECD, 2004).



### Área experimental em Brotas

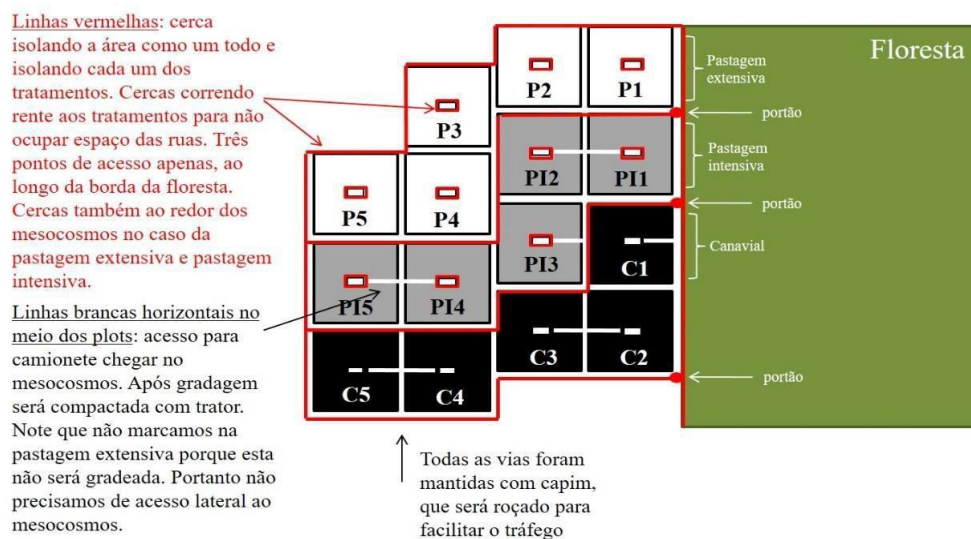


Figura 1: Esboço da fazenda de conversão de pastagem em campos de cultivo de cana localizada em Brotas - SP. No centro de cada plot há um mesocosmo (retângulos).

A metodologia utilizada para a averiguação dos parâmetros físico-químicos foi baseada no Standard Methods, 2012. Para a dureza foi utilizado o método 2340 C. EDTA Titrimetric Method, para a condutividade o método 2520 B. Electrical Conductivity Method, para o pH o método 4500-H+ B. Electrometric Method e para o oxigênio dissolvido (OD) o método 4500-O G. Membrane Electrode Method. Foram utilizados o condutivímetro e o phmetro da marca Thermo Scientific e o oxímetro da marca YSI.

Os testes foram realizados segundo a norma OECD nº 202 (OCDE, 2004) pa *D. similis* de até 24h de idade, contidos em tubos com 10 mL de amostra, sem alimentação, temperatura de  $21 \pm 1^\circ\text{C}$  e fotoperíodo de 16 horas de luz e 8 horas de escuro, utilizando-se 4 réplicas por amostra e para o controle, com 5 organismos por réplica. Após 48 horas, é realizada a leitura dos testes, no qual foi observada a imobilidade dos organismos, indicativo de toxicidade aguda. Apenas os testes em que o número de organismos imóveis no controle não excedeu 10% foram validados. Também foram realizados testes de toxicidade independentes com substância de referência, NaCl, mensalmente para avaliar a sensibilidade do cultivo.

### Resultados e discussões

Foram realizados testes agudos com as amostras de dezembro de 2018 a agosto de 2019 e os resultados estão apresentados na Figura 2. Na primeira coleta não houve mortalidade superior a 10%, não sendo consideradas tóxicas, provavelmente por não ter havido aplicação de agrotóxicos antes dessa coleta. Após o início das aplicações de agrotóxicos, a mortalidade de algumas amostras começou a superar os 10% de imobilidade, caracterizando a amostra como tóxica e, o número de amostras que superaram essa porcentagem de imobilidade aumentou a cada coleta.

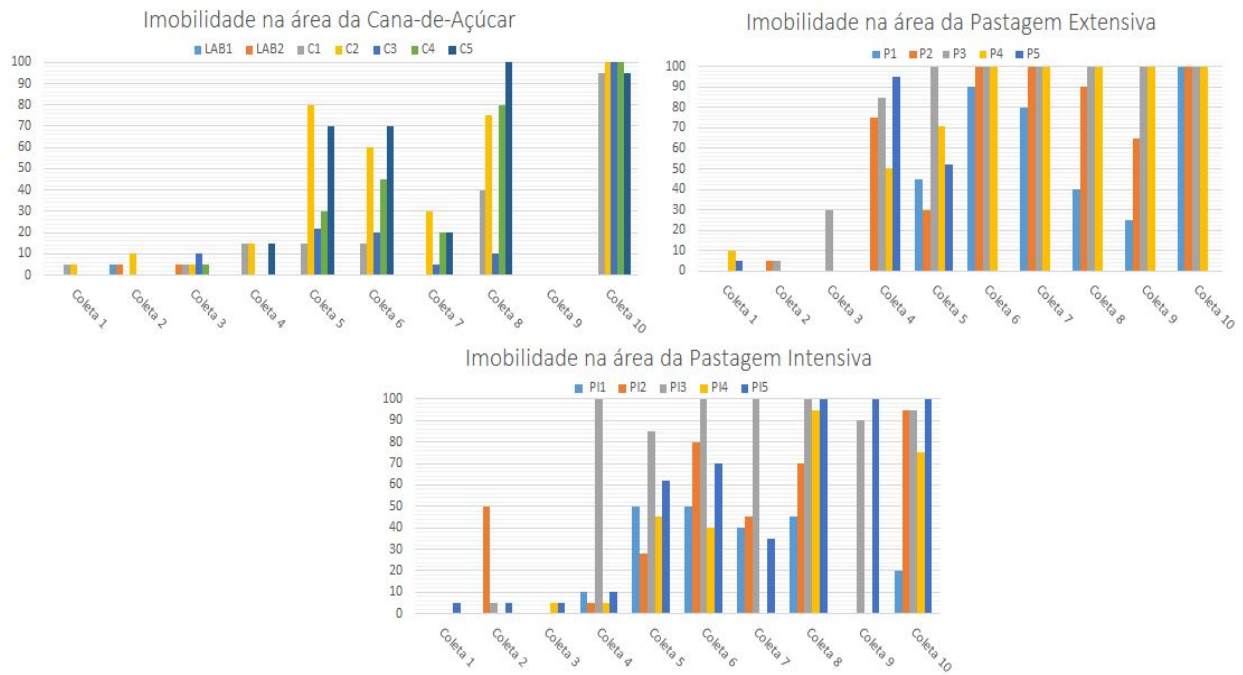


Figura 2: Gráfico da imobilidade dos organismos em cada área experimental.

Foram testados os parâmetros físico-químicos de condutividade, pH e oxigênio dissolvido das amostras antes e depois dos testes e a dureza apenas antes dos testes. O controle também teve seus parâmetros medidos como as amostras. Dentre todos os parâmetros, apenas o pH não ficou em uma faixa ideal para o organismo e estão representados na Figura 3. A condutividade dos controles é representada na escala à direita do gráfico.



Figura 3: Gráficos dos parâmetros físico-químicos iniciais dos controles negativos e das amostras ambientais coletadas entre dezembro de 2018 e agosto de 2019.



As concentrações de 2,4-D e fipronil nas amostras foram testadas pelo Laboratório de Química Ambiental da Unicamp (IQ) e as maiores concentrações encontradas nas amostras foram 5307,49 ng/L de 2,4-D, 50,60 ng/L de fipronil, 1,30 ng/L de sulfeto de fipronil e 9,16 ng/L de fipronil sulfona e, as menores concentrações não foram detectadas pelo equipamento.

A toxicidade dos agrotóxicos citados foram investigados na literatura, onde foi encontrada que a maior concentração de 2,4-D que causou imobilidade (LC50) em *Daphnia Magna* é de 417,8 mg/L (Présing, 1981) e a menor é de 36,4 mg/L (Alexander, Gersich e Mayes, 1985). Já para o fipronil, a maior concentração que causou LC50 em *Ceriodaphnia* foi de 0,27 mg/L e a menor concentração foi de 0,0103 mg/L (Wilson, 2007). O sulfeto de fipronil causa imobilidade em *Daphnia Magna* em concentrações de 0,1 mg/L e o fipronil sulfona em concentrações de 0,029 mg/L (Gunasekara, 2007).

As concentrações encontradas nos mesocosmos do projeto apresentaram concentrações muito inferiores às citadas na literatura, o 2,4-D é cerca de mil vezes menor e o fipronil é aproximadamente duzentas vezes menor. Os metabólitos do fipronil nomeadamente fipronil sulfona e sulfeto de fipronil também foram encontrados em concentrações inferiores às encontradas na literatura, em torno de três mil vezes e setenta mil vezes menores, respectivamente. Portanto, é possível concluir que, devido a essa inferior concentração de agrotóxicos nas amostras, eles não são a causa da mortalidade dos organismos.

Foi possível observar que o pH possui correlação com a mortalidade das *Daphnias similis* e, com o decréscimo do pH ao decorrer das coletas, sua faixa passa a ser não ótimas para a sobrevivência desses organismos. Na Figura 4, é possível observar a correlação entre o pH e a imobilidade das *daphnias*. Com isso, podemos concluir que os efeitos observados podem estar relacionados a acidificação dos mesocosmos.

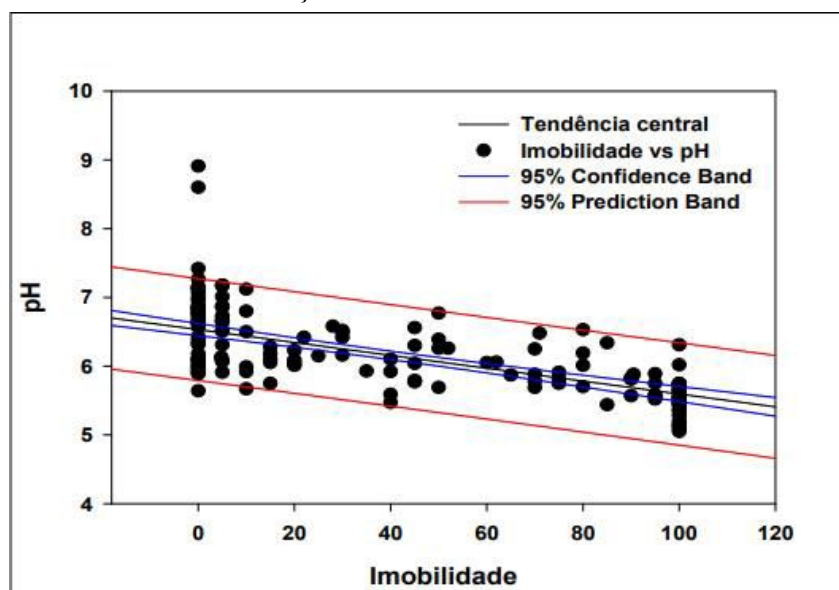


Figura 4: Correlação entre pH e mortalidade (Spearman -0.728,  $p < 0.0000002$ ; pearson - 0.672,  $p < 0.0021$ )



## Bibliografia

APHA, 2012. Standard Methods For The Examination Of Water And Wastewater, 22nd Ed.: American Public Health Association, American Water Works Association, Water Environment Federation. Washington, DC

BERTOLETTI, E.; ZAGATTO, P. A. Ecotoxicologia aquática: princípios e aplicações. 2.ed. São Carlos: RiMa, 2008

Gunasekara, A. S., Truong, T., Goh, K. S., Spurlock, F., & Tjeerdema, R. S. (2007). Environmental fate and toxicology of fipronil. *Journal of Pesticide Science*, 32(3), 189–199. doi:10.1584/jpestics.r07-02

OECD, 2004. Test No. 202: OECD Guidel. Test. Chem. <http://dx.doi.org/10.1787/9789264069947-3n>, 12pp.

Présing, M. (1981). On the effects of Dikonirt (sodium salt of 2,4-Dichlorophenoxy-acetic acid) on the mortality and reproduction of *Daphnia magna*. *Hydrobiologia*, 83(3), 511–516. doi:10.1007/bf02187048

Alexander, H. C., Gersich, F. M., & Mayes, M. A. (1985). Acute toxicity of four phenoxy herbicides to aquatic organisms. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*, 35(1), 314–321. doi:10.1007/bf01636516

Wilson, W. A., Konwick, B. J., Garrison, A. W., Avants, J. K., & Black, M. C. (2007). Enantioselective Chronic Toxicity of Fipronil to *Ceriodaphnia dubia*. *Archives of Environmental Contamination and Toxicology*, 54(1), 36–43. doi:10.1007/s00244-007-9003-7