UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
ESCOLA ENGENHARIA DE SÃO CARLOS
PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS DA ENGENHARIA AMBIENTAL

NATALIA COSTA DE LIMA

Avaliação do impacto da contaminação do solo de áreas agrícolas de Bom Repouso (MG) por meio de ensaios ecotoxicológicos

São Carlos - SP
2010

NATALIA COSTA DE LIMA

AVALIAÇÃO DO IMPACTO DA CONTAMINAÇÃO DO SOLO DE ÁREAS AGRÍCOLAS DE BOM REPOUSO (MG) POR MEIO DE ENSAIOS ECOTOXICOLÓGICOS

Dissertação apresentada à Escola de Engenharia de São Carlos, da Universidade de São Paulo, para obtenção do título de Mestre em Ciências da Engenharia Ambiental

Orientador: Prof. Dr. Evaldo L. G. Espíndola

São Carlos - SP
2010

AUTORIZO A REPRODUÇÃO E DIVULGAÇÃO TOTAL OU PARCIAL DESTE TRABALHO, POR QUALQUER MEIO CONVENCIONAL OU ELETRÔNICO, PARA FINS DE ESTUDO E PESQUISA, DESDE QUE CITADA A FONTE.

Ficha catalográfica preparada pela Seção de Tratamento
da Informação do Serviço de Biblioteca – EESC/USP

L732a

Lima, Natalia Costa
Avaliação do impacto da contaminação do solo de áreas agrícolas de Bom Repouso (MG) por meio de ensaios ecotoxicológicos / Natalia Costa Lima ; orientador Evaldo Luiz Gaeta Espíndola. -- São Carlos, 2010.

Dissertação (Mestrado-Programa de Pós-Graduação e Área de Concentração em Ciências da Engenharia Ambiental) -- Escola de Engenharia de São Carlos da Universidade de São Paulo, 2010.

1. Pesticidas. 2. Ecotoxicologia terrestre. 3. Bom Repouso. 4. Eisenia Andrei. I. Título.

FOLHA DE JULGAMENTO

Candidato(a): Engenheiro **NATÁLIA COSTA DE LIMA.**

Dissertação defendida e julgada em 01.10.2010 perante a Comissão Julgadora:

APROVADA

Prof. Associado **EVALDO LUIZ GAETA ESPINDOLA – (Orientador)**
(Escola de Engenharia de São Carlos/USP)

APROVADA

Profª. Drª. **MARA MERCEDES DE ANDRÉA**
(Instituto Biológico – Secretaria de Agricultura e Abastecimento do Estado de São Paulo)

Ana Lúcia Brandimarte

APROVADA

Profª. Drª. **ANA LUCIA BRANDIMARTE**
(Instituto de Biociências/USP)

Prof. Associado **EVALDO LUIZ GAETA ESPINDOLA**
Coordenador do Programa de Pós-Graduação em
Ciências da Engenharia Ambiental

Prof. Titular **GERALDO ROBERTO MARTINS DA COSTA**
Presidente da Comissão da Pós-Graduação da EESC

À cidade de São Carlos/SP,
por todas as experiências vividas e pelos
novos caminhos que me foram abertos.

AGRADECIMENTOS

A ***Deus*** primeiramente, por todas as ótimas oportunidades que tive em minha vida, pela possibilidade de aproveitá-las e pelos maravilhosos amigos que muito me ajudaram na conclusão desta pesquisa;

Ao ***Prof. Dr. Evaldo Luiz Gaeta Espíndola***, por todas as oportunidades oferecidas, pela confiança em mim depositada, pelo grande incentivo à realização desta pesquisa, pela grande amizade e pela melhor orientação que eu poderia ter;

À ***Maria Edna Tenório Nunes***, agradeço imensamente por todo o auxílio técnico e contribuição na discussão desta pesquisa, mas acima de tudo, agradeço pela grande amizade, incentivo, companhia e orientação.

Aos ***meus pais, José Geraldo e Denise,*** e ***minha irmã Adriana***, por todo apoio, exemplo, carinho e incentivo, que foram imprescindíveis para toda minha formação pessoal e profissional;

Ao amigo, ***Augusto H. Mendonça,*** por todo o apoio pessoal e prático, desde o processo seletivo para o mestrado até a conclusão do trabalho, mas acima de tudo pela melhor amizade do mundo.

Aos ***funcionários, pesquisadores e estagiários do NEEA e CRHEA***, pelo suporte logístico à pesquisa e pelo apoio nas atividades laboratoriais, principalmente a ***Amândio***, ***Marcelo, Pedro, Laurence, Thiago Decina e Sara;***

Às amigas, ***Helena Capparelli e Naiara Matielo,*** por compartilharem todos os momentos e fases de desenvolvimento de nossos Mestrados, além da valiosa amizade;

Às ***amigas de São Carlos, Naiara, Daiane, Nayara, Rayani e Leonara,*** por sempre me acolherem nas necessárias idas a São Carlos;

Aos ***professores Vitor E. L. Ranieri*** e ***Liliane Lazzari***, pela compreensão e flexibilidade durante o oferecimento de suas disciplinas;

À amiga ***Cláudia Perroud***, pelo grande auxílio prestado.

Aos ***amigos*** que desenvolveram suas pesquisas no CRHEA, do ***NEEA*** e do ***NEPA***, pelo prazeroso convívio;

Ao **CNPQ** (Processo 132007/2008-8 e Processo 134428/2008-0), pela concessão da bolsa de Mestrado e a **Petrobras**, pelo apoio ao desenvolvimento do **Projeto Mogi-Guaçu**.

"Para ser grande, sê inteiro: nada
teu exagera ou exclui.
Sê todo em cada coisa. Põe quanto és
no mínimo que fazes.
Assim em cada lago a lua toda
brilha, porque alta vive".

Fernando Pessoa

RESUMO

LIMA, N. C. **Avaliação do impacto da contaminação do solo de áreas agrícolas de Bom Repouso (MG) por meio de ensaios ecotoxicológicos.** 2010. 127 f. Dissertação (Mestrado) - Escola de Engenharia de São Carlos, Universidade de São Paulo, São Carlos, 2010.

Nas últimas décadas tem-se verificado um significativo aumento na quantidade de contaminantes que são liberados no ambiente, destacando-se os agrotóxicos como um dos mais utilizados e nocivos. Os agrotóxicos são utilizados para o controle de doenças, pragas e plantas invasoras e, apesar de sua eficiência, seus efeitos em nível de ecossistema e saúde humana são preocupantes. No município de Bom Repouso/MG, devido à prática agrícola há intenso uso de agrotóxicos, os quais são aplicados nas lavouras de morango e batata sem controle mais efetivo, não sendo verificada nenhuma avaliação ambiental física, química e biológica, ou que incluísse os testes de toxicidade terrestres. Dentro desse contexto, o presente estudo procurou avaliar a aplicabilidade dos testes ecotoxicológicos padronizados internacionalmente para organismos terrestres, além de avaliar os impactos ambientais decorrentes das atividades agrícolas no município de Bom Repouso. Para tanto, ensaios de toxicidade (testes de evitamento, toxicidade aguda e crônica) com a espécie *Eisenia andrei* (ANNELIDA, OLIGOCHAETA), além de análises físicas e químicas, foram realizados com amostras de solo coletadas nas monoculturas de morango e batata, e em área de mata preservada. Nas análises físicas e químicas dos solos foram detectadas concentrações de metais e agrotóxicos em concentrações abaixo de valores orientadores definidos em legislação vigente, ressaltando-se que ambos também ocorreram em áreas de mata preservada. Elevadas concentrações de alumínio foram detectadas nos solos, porém não existem valores orientadores estabelecidos e provavelmente são características do tipo de solo da área de estudo. Não foi verificada toxicidade aguda aos organismos-teste, enquanto que nos testes de evitamento verificou-se que os organismos evitaram os solos de área de cultivo de morango e batata, preferindo os da mata; porém não é possível afirmar se esse resultado se deve à presença de contaminantes ou às propriedades físicas e químicas dos solos. Em relação aos efeitos subletais, a perda de peso não foi caracterizada como efeito de toxicidade, e os efeitos sobre a reprodução, para a maioria dos solos testados, não foram significativos, com exceção de duas amostras coletadas em área de mata e uma amostra de área de batata. Este resultado pode ter sido influenciado pelas concentrações de agrotóxicos não detectados (mas identificados em estudos anteriores), embora as características ácidas do solo também possam ter maior representatividade. Especificamente para as áreas de mata, as concentrações de alumínio detectadas nos solos e a dificuldade de ajuste de umidade provavelmente também influenciaram os resultados. Em função dos resultados obtidos, verifica-se que ainda são necessárias alterações nos procedimentos dos testes ecotoxicológicos com organismos terrestres, com adaptações para testes com amostras de solos naturais. Em relação ao município de Bom Repouso, são evidentes os problemas ambientais decorrentes do uso de agrotóxicos, sendo necessária uma avaliação de risco que permita uma visão sistêmica da situação ambiental e de saúde dos moradores da região.

Palavras-chave: pesticidas; Ecotoxicologia Terrestre; Bom Repouso; *Eisenia andrei;*

ABSTRACT

LIMA, N. C. **Assessment of the contamination impact of the soil in agricultural áreas from Bom Repouso (MG) by ecotoxicological tests.** 2010. 127 p. Paper (Master's) - São Carlos Engineering School, São Paulo University, São Carlos, 2010.

In the last decades there has been a significant increase in the amount of contaminants that are released into the environment, especially pesticides as one of the most used and harmful. The pesticides are used to control diseases, plagues and invaded plants and, despite its efficiency, its effects on the ecosystem level and human health are disturbing. In the Bom Repouso/MG municipality, due to the agricultural practice, there is an intensive use of pesticides, which are applied in strawberry and potato crops without more effective control, and it is not checked any biological, chemical and physical environmental assessment, which would include tests for terrestrial toxicity. In this context, this current study sought to evaluate the applicability of ecotoxicological tests internacionally standardized for terrestrial organisms and to evaluate the environmental impacts of agricultural activities in the Bom Repouso/MG municipality. Therefore, toxicity tests (tests of avoidance, chronic and acute toxicity) with the species *Eisenia andrei* (ANNELIDA, OLIGOCHAETA), in addition physical and chemical analysis, were performed with soil samples collected from monocultures of strawberry and potato, in addition preserved forest. In the chemical and physical analysis of the soils were detected concentrations of metals and pesticides in concentrations below the guiding values defined in current legislation, emphasizing that both also occurred in areas of preserved forest. High concentrations of aluminum were detected in soils, but there are no established guinding values and probably these are characteristics of the soil type of the study area. It was not observed acute toxicity to the test-organisms, whereas in tests of avoidance, it was observed that the organisms avoided the soils of the cultivation of strawberry and potato, preferring the forest, but it is not possible to state whether this result is due to the presence of contaminants or the chemical and physical properties of the soils. With respect to the sub lethal effects, the weight loss was not characterized as an effect of toxicity, and the effects on reproduction, for the most soils tested, were not significant, except for the two samples collected in the forest area and one sample in the potato area. This result may have been influenced by the concentrations of pesticides not detected (but identified in previous studies), although the acid soil characteristics may also have greater representation. Specifically for the forest areas, the concentration of aluminum detected in soils and the difficulty of the moisture adjusting, probably also influenced the results. Depending on the results, it observes that are still necessary changes in the procedures ecotoxicological tests with terrestrial organisms, with adjustments for tests with samples of natural soils. With reference to the Bom Repouso municipality, are obvious the environmental problems and because of the use of pesticides, it is necessary an assessment risk that allows a systemic view of the environmental situation and of the health of region residents.

Keywords: pesticides; Terrestrial Ecotoxicology; Bom Repouso; *Eisenia andrei*;

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Localização do Município de Bom Repouso (MG). 27

Figura 2. Plantio de batata e morango no município de Bom Repouso (MG) 28

Figura 3. Áreas de mata de Bom Repouso (MG) onde foram feitas as coletas de solo (julho/2008). 32

Figura 4. Áreas de cultivo de morango em Bom Repouso (MG) onde foram feitas as coletas de solo (julho/2008). 32

Figura 5. Áreas de cultivo de batata em Bom Repouso (MG) onde foram feitas as coletas de solo (julho/2008). 32

Figura 6. Coletas de solo em área de plantio de morango, em Bom Repouso (MG) 33

Figura 7. Ensaio para determinação da capacidade de retenção do solo. 35

Figura 8. Materiais constituintes do solo artificial (TAS): à esquerda, cada material separadamente, e à direita, todos os materiais misturados, formando um solo composto. 36

Figura 9. Recipientes plásticos utilizados nos testes de toxicidade com a espécie E. andrei. 38

Figura 10. Minhoca da espécie Eisenia Andrei utilizada nos testes de toxicidade com amostras de solo de Bom Repouso (MG). Fonte: http://www.recyclaqua.agropolis.fr/dossier_presse/images/photo09.jpg 39

Figura 11. Caixas de cultivo da minhoca E. andrei, mantidas em laboratório. 41

Figura 12. Minhocas da espécie E. andrei sendo pesadas em balança analítica (à esquerda) e colocadas nos recipientes-testes (à direita).....42

Figura 13. Testes de toxicidade aguda com amostra de solo de Bom Repouso, realizados em sala climatizada. 42

Figura 14. Esquema de realização do teste de evitamento. Fonte: GARCIA (2004).44

Figura 15. Testes de toxicidade crônica utilizando a espécie E. andrei como organismo-teste, em amostras de solo de Bom Repouso (MG). 47

Figura 16. Valores de Capacidade de Retenção de cada solo coletado em Bom Repouso, MG. 50

Figura 17. Valores obtidos para umidade dos solos das áreas de Bom Repouso (MG). 52

Figura 18. Valores obtidos para umidade dos solos das áreas de Bom Repouso (MG) após ajuste de umidade. 53

Figura 19. Valores de pH obtidos em cada parcela de área selecionada em Bom Repouso (MG) 54

Figura 20. Porcentagem de matéria orgânica de cada solo amostrado em Bom Repouso, MG. 55

Figura 21. Valores de Fósforo Total para cada solo coletado em Bom Repouso, MG. 56

Figura 22. Porcentagem de Nitrogênio Orgânico Total para cada solo coletado em Bom Repouso, MG. 56

Figura 23. Granulometria de cada solo coletado em Bom Repouso, MG, nas diferentes áreas de estudo. 57

Figura 24. Porcentagem de mortalidade dos organismos-teste ao final do Teste de Toxicidade Aguda para cada amostra de solo coletada em Bom Repouso/MG. 64

Figura 25. Porcentagem de perda de peso dos organismos no Teste de Toxicidade Aguda ao 7º. e 14º. dia de teste para cada amostra de solo coletada em Bom Repouso/MG. 64

Figura 26. Número de juvenis nascidos durante o Teste de Toxicidade Crônica para cada um dos solos coletados em Bom Repouso/MG. 71

Figura 27. Porcentagem de perda de peso dos indíviduos ao 28º. dia do início do Teste de Toxicidade Crônica para cada amostra de solo de Bom Repouso/MG. 71

Figura 28. Porcentagem de matéria orgânica no início do teste de toxicidade aguda, porcentagem de perda de peso e porcentagem de mortalidade ao final da realização do teste, para cada um dos solos coletados em Bom Repouso/MG. 89

Figura 29. Porcentagem de matéria orgânica no início do teste de toxicidade crônica, porcentagem de perda de peso e mortalidade ao 28º. dia de teste para cada um dos solos coletados em Bom Repouso/MG. 89

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Métodos e referências utilizadas para análise física e química do solo das amostras das áreas de morango, batata e de mata, em Bom Repouso (MG) 33

Tabela 2. Resumo do teste de toxicidade aguda para análise ecotoxicológica das amostras de solo de Bom Repouso (MG). 43

Tabela 3. Resumo do teste de evitamento utilizado para avaliação da toxicidade de amostras de solo de Bom Repouso (MG). 45

Tabela 4. Resumo do teste de toxicidade crônica com a espécie E. andrei 48

Tabela 5. Classificação granulométrica dos solos coletados em Bom Repouso/MG. 58

Tabela 6. Valores de concentração de metais em cada amostra de solo coletada no município de Bom Repouso/MG. 59

Tabela 7. Concentração de agrotóxicos nas amostras de solo coletadas. 61

Tabela 8. Concentração dos agrotóxicos Abamectina e Carbofuran nas amostras de solo coletadas. 61

Tabela 9 – Análise de variância para os dados de perda de peso no teste de toxicidade aguda, comparando os resultados entre os tratamentos..... 65

Tabela 10 – Teste de Tukey de comparação múltipla entre os tratamentos quanto a perda de peso aos 14 dias do teste de toxicidade aguda 66

Tabela 11 – Teste de Dunnet de comparação do controle com os tratamentos quanto a perda de peso aos 14 dias do teste de toxicidade aguda..... 66

Tabela 12. Resultados do Teste de Evitamento segundo análise com Teste Exato de Fisher 67

Tabela 13. Resultados do Teste de Evitamento segundo fórmula de cálculo ISO (2007)..... 67

Tabela 14. Resumo dos resultados do Teste de Evitamento..... 70

Tabela 15 – Análise de variância para os dados de toxicidade crônica, para comparação da perda de peso resultante nos organismos de *Eisenia andrei* após 28 dias transcorridos. 72

Tabela 16 – Teste de Tukey de comparação múltipla entre os tratamentos quanto à perda de peso após 28 dias de teste de toxicidade crônica 73

Tabela 17 – Teste de Dunnet de comparação do controle com os tratamentos quanto à perda de peso após 28 dias de teste de toxicidade crônica..... 73

Tabela 18 – Análise de variância para os dados de toxicidade crônica, para comparação do número de juvenis entre os tratamentos 74

Tabela 19 – Teste de Tukey de comparação múltipla entre os tratamentos quanto ao número de juvenis durante teste de toxicidade crônica 75

Tabela 20 – Teste de Dunnet de comparação do controle com os tratamentos quanto ao número de juvenis durante teste de toxicidade crônica..... 75

Tabela 21. Propriedades físicas e químicas dos solos de área de mata, área de cultivo de batata e área de cultivo de morango coletados em Bom Repouso/MG..... 128

Tabela 22. Resultados do Teste de Toxicidade Aguda: número de número de indivíduos mortos ao 7º. e 14º. dia de realização do teste, porcentagem de mortalidade ao 14º. dia e porcentagem de perda de peso ao 14º. dia. 128

Tabela 23. Resultados do Teste de Toxicidade Crônica aos 28 dias de realização do teste: número de juvenis e porcentagem de perda de peso. 129

Tabela 24. Resultados do Teste de Evitamento utilizando o Teste Exato de Fisher. 129

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO 19

1.1 A CONTAMINAÇÃO DO AMBIENTE POR AGROTÓXICOS 19
1.2 A CONTAMINAÇÃO DOS ORGANISMOS DO SOLO 23
1.3 ESTUDOS COM ORGANISMOS TERRESTRES 25
1.4 ÁREA DE ESTUDO 27
1.5 JUSTIFICATIVA 29

2. OBJETIVOS 30

2.1 OBJETIVO GERAL 30
2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS 31

3. METODOLOGIA 31

3.1 AMOSTRAS DE SOLO 31
3.2 ANÁLISES FÍSICA E QUÍMICA DO SOLO 33
3.3 OS TESTES DE TOXICIDADE COM AMOSTRAS DE SOLOS 36

3.3.1 Solo Tropical Artificial (TAS) para testes 36

3.3.2 Recipientes de teste 37

3.3.3 Testes de toxicidade com organismos padronizados 38

3.3.4 Manutenção do organismo-teste 39

3.3.5 Teste de toxicidade aguda 41

3.3.6 Teste de evitamento 43

3.3.7 Testes crônicos 46

3.3.8 Análise de dados 48

4. RESULTADOS 49

4.1 ANÁLISES FÍSICAS E QUÍMICAS DOS SOLOS 50

4.1.1 Capacidade de retenção 50

4.1.2 Umidade 52

4.1.3 pH 53

4.1.4 Matéria orgânica 55

4.1.5 Fósforo total 55

4.1.6 Nitrogênio orgânico total 56

4.1.7 Granulometria 57

4.1.8 Metais 58

4.1.9 Agrotóxicos 60

4.2 TESTES DE TOXICIDADE 63

4.2.1 Resultados do teste de toxicidade aguda *63*

4.2.2 Resultados do teste de evitamento *67*

4.2.3 Resultados do teste de toxicidade crônica *70*

5. DISCUSSÕES **76**

5.1 UTILIZAÇÃO DE TESTES DE TOXICIDADE PARA AVALIAÇÃO DA CONTAMINAÇÃO DE SOLOS 76

5.2 ANÁLISE DA CONTAMINAÇÃO AMBIENTAL DO SOLO DO MUNICÍPIO DE BOM REPOUSO 86

6. CONSIDERAÇÕES FINAIS **116**

7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS **118**

APÊNDICE A **127**

1 INTRODUÇÃO

1.1 A contaminação do ambiente por agrotóxicos

A preocupação com a contaminação ambiental por compostos tóxicos aumentou nos últimos anos em virtude da grande quantidade dos mesmos que vem sendo lançada no ambiente. Entre as causas desse fenômeno está o aumento da densidade populacional e da atividade industrial, que tem levado a maior liberação desses compostos para o meio, incluindo atividades associadas ao uso de recursos naturais, a necessidade de produção de energia e a intensificação da agricultura (FAY; SILVA, 2004).

Em relação à agricultura, muitas alterações na forma tradicional de trabalho no campo foram acontecendo principalmente a partir de 1960, com a chamada "Revolução Verde"; porém essas mudanças provocaram diversos impactos sobre a saúde humana e o meio ambiente. Isso ocorreu devido ao advento de novas tecnologias que foram desenvolvidas para o controle de doenças, pragas e aumento da produtividade baseadas no uso intensivo de produtos químicos. Entretanto, se houve um incentivo para a busca de soluções mais imediatas para o aumento da produção, o mesmo não ocorreu para a qualificação da força de trabalho, o que levou as comunidades rurais a sérios riscos devido à utilização dessas substâncias, fato que ainda é agravado por problemas de ordem social, principalmente nos países em desenvolvimento (MOREIRA et al, 2002).

Além dos efeitos diretos à saúde humana, a introdução de contaminantes no ambiente, de forma direta ou indireta, acarreta em diversos problemas a biota, pois, segundo Rodgher (2005), os organismos presentes no solo possuem íntima, obrigatória e recíproca relação com este, ou seja, a introdução de substâncias tóxicas pode levar a alterações neste meio, que podem ser prejudiciais aos ecossistemas. Muitos desses compostos têm mostrado persistência no ambiente e alguns são capazes de se acumular

em diferentes organismos, alcançando concentrações muito altas e tóxicas (FAY; SILVA, 2004). Entre os compostos tóxicos mais utilizados e prejudiciais os agrotóxicos merecem destaque.

A Lei Federal nº. 7.802 de 11/07/89, regulamentada pelo Decreto nº. 98.816, no seu Artigo 2°, Inciso I, define 'agrotóxicos' como "produtos e componentes físicos, químicos ou biológicos destinados ao uso nos setores de produção, armazenamento e beneficiamento de produtos agrícolas, nas pastagens, na proteção de florestas nativas ou implantadas e de outros ecossistemas e também em ambientes urbanos, hídricos e industriais, cuja finalidade seja alterar a composição da flora e fauna, a fim de preservá-la da ação danosa de seres vivos considerados nocivos, bem como substâncias e produtos empregados como desfolhantes, dessecantes, estimuladores e inibidores de crescimento" (BRASIL, 1989). São, portanto, produtos aplicados às culturas para o controle de doenças, pragas e plantas invasoras, os quais podem contaminar o ambiente em função de aplicações diretas ou de resíduos de aplicações aéreas.

Agrotóxicos podem, ainda, ser facilmente espalhados para além de seus alvos, intoxicando e matando diretamente insetos benéficos e a vida selvagem, sendo também bioacumulados nesses organismos, provocando alterações indesejáveis nos ecossistemas, como por exemplo, a contaminação de corpos d'água superficiais e subterrâneos e do solo (GLIESSMAN, 2001).

Essa contaminação por agrotóxicos pode ocorrer por três diferentes vias no caso dos seres humanos. Uma delas é a via ocupacional, a qual corresponde à contaminação dos trabalhadores que manipulam as substâncias. Esta, apesar de representar um número menor de indivíduos, corresponde a 80% dos casos de intoxicação devido ao contato mais direto com os produtos. Outra via de contaminação é a via ambiental devido à dispersão e distribuição dos agrotóxicos ao longo dos componentes do meio, como água, solo e ar. A

terceira via é a alimentar, que corresponde à contaminação pela ingestão de alimentos contaminados. Em razão dessas diferentes vias, além da contaminação dos ecossistemas naturais, ocorrem impactos sobre a saúde da população, incluindo os aplicadores dos produtos, os membros da comunidade e os consumidores dos alimentos contaminados com resíduos, mas sem dúvida a primeira categoria é a mais afetada por manter o contato direto com esses produtos (MOREIRA et al, 2002).

Os efeitos à saúde humana são diversos. A exposição ao produto, por exemplo, pode causar problemas respiratórios como bronquite asmática e outras anomalias pulmonares, efeitos gastrointestinais, depressão, câncer e, para alguns compostos como organofosforados e organoclorados, os efeitos incluem distúrbios musculares, debilidade motora e fraqueza. De acordo com informações de Tocos do Mogi (município vizinho de Bom Repouso, pertencente à Bacia Hidrográfica do Rio Mogi-Guaçu e área de desenvolvimento desta pesquisa), há muitos casos de suicídios de agricultores que trabalham nas culturas de batata e morango, além de que o número de casos de câncer teve um aumento nos últimos anos (BRIGANTE et al, 2003a), o que também pode estar relacionado ao uso de agrotóxicos nas lavouras.

O Estado de São Paulo apresentou um aumento de 14% no número de intoxicações humanas por agrotóxicos de acordo com pesquisa realizada com dados obtidos no ano de 2006 e que fazem parte do Sistema Nacional de Informação Toxicológicas (Sinitox) da FioCruz, o que pode ser resultado da maior utilização de agrotóxicos e da comercialização dos produtos com excesso de resíduos, segundo Veiga (2008), no Jornal O Estado de São Paulo. Esses dados corroboram as informações apresentadas pela ANVISA (2009a), a qual destaca que o Brasil se tornou no ano de 2008 o maior consumidor mundial de agrotóxicos, posição que era ocupada anteriormente

pelos Estados Unidos. O mercado de agrotóxicos no Brasil movimentou US$ 7 bilhões em 2008, correspondente a 700 mil toneladas de produtos.

Para subsidiar as medidas de controle do uso dos produtos, foi iniciado em 2001, pela ANVISA, o Programa de Análise de Resíduos de Agrotóxicos em Alimentos (PARA), o qual tem por objetivo avaliar continuamente os níveis de resíduos de agrotóxicos nos alimentos *in natura* que chegam à mesa do consumidor. De acordo com a Nota Técnica da ANVISA (2009b), em 2008 foram analisadas 100 amostras de batata e destas, 2% (2 amostras) foram consideradas insatisfatórias, tanto pela presença de agrotóxicos acima do Limite Máximo de Resíduo (LMR), como o acefato (presente em uma amostra), quanto pela presença de resíduos de agrotóxicos não autorizados para esta cultura (como no caso do endossulfan em uma amostra). Cabe ressaltar que a detecção desses resíduos é considerada grave, pois além da reincidência, este ingrediente ativo possui uso restrito no país, sendo atualmente registrado apenas para as culturas de algodão, cacau, café, cana-de-açúcar e soja.

Ainda de acordo com a Nota Técnica da ANVISA (2009b), no caso do morango, no ano de 2008 foram analisadas 86 amostras, sendo que 36,05% (31 amostras) foram consideradas insatisfatórias. Foram detectados resíduos dos seguintes ingredientes ativos não autorizados para a cultura: endossulfan (em 10 amostras), captana (8), clorfenapir (8), metamidofós (5), acefato (3) clorotalonil (2), deltametrina (2), clorpirifós (2), folpete (2), procloraz (2) e tetradifona (1). Os resíduos acima do LMR foram: ditiocarbamatos (2), fempropatrina (1) e tebuconazol (1). Nas 31 amostras irregulares foram constatadas 49 ocorrências de resíduos, ou seja, algumas amostras apresentaram resíduos de mais de um ingrediente ativo.

Pelos resultados encontrados é possível observar que a utilização de agrotóxicos na cultura do morango é muito intensa, com ampla utilização de ingredientes ativos não

autorizados. O percentual de irregularidades em 2007 foi de 43,62% contra 36,05% no ano de 2008. Apesar da redução, esta porcentagem de irregularidade ainda é considerada alta.

1.2 A contaminação dos organismos do solo

A interação dos contaminantes do solo com os organismos de um ambiente é um ponto importante a se destacar, pois os contaminantes entram em contato com os organismos edáficos, com os quais interagem direta ou indiretamente (PAPINI; ANDREA, 2004). Esses organismos têm, principalmente, três vias de exposição aos contaminantes: a ingestão de alimento ou água contaminada, a inalação e o contato desses produtos com a pele ou exoesqueleto.

Os problemas com agrotóxicos estão associados às suas propriedades, como a toxicidade seletiva, a persistência no ambiente, o potencial de bioacumulação e a mobilidade (FAY; SILVA, 2004), podendo também provocar distúrbios no ecossistema do solo, afetando sua população de invertebrados (SPURGEON; HOPKIN; JONES, 1994). O armazenamento de algumas substâncias é um aspecto característico de alguns invertebrados terrestres, os quais têm sido chamados de macroconcentradores. A eliminação do composto indesejado por esses organismos pode não ocorrer na mesma proporção da ingestão, causando um problema para estes (ALVES, 2002).

Dentre os diversos organismos naturalmente presentes no solo, as minhocas merecem destaque, isto é, por meio de seus deslocamentos elas revolvem o solo misturando os horizontes e, pelos seus hábitos alimentares, influenciam as transformações da matéria orgânica em decomposição e a ciclagem de nutrientes (PAPINI; ANDREA, 2004).

Esses autores discutem que as características do solo como nutrientes, temperatura, umidade e a presença de fertilizantes e agrotóxicos influenciam a população de organismos do solo. Os contaminantes ambientais que entram no ambiente edáfico, além de se associarem às partículas que servem de alimento para as minhocas e outros invertebrados, podem ser dissolvidos na solução do solo e, desta forma, serem absorvidos diretamente através da cutícula do animal. Assim, esses organismos podem contaminar-se e até bioacumular resíduos por diferentes vias, os quais vão sendo transferidos através da cadeia alimentar.

Muitos trabalhos vêm sendo realizados para análise dos efeitos de agrotóxicos sobre organismos do solo, inclusive sobre minhocas do gênero *Eisenia,* e os resultados têm comprovado a toxicidade de agrotóxicos sobre esses organismos (GARCIA, 2004; LIMA, 2006; RAO; PAVAN; MADHAVENDRA, 2002; RÖMBKE; GARCIA, 2000).

Spurgeon, Hopkin e Jones (1994) mencionam que a proteção desses organismos envolve a necessidade de maiores conhecimentos sobre as respostas ecofisiológicas dos invertebrados frente aos contaminantes e das suscetibilidades destes as intoxicações por tais substâncias. Entretanto, poucos estudos têm sido conduzidos enfatizando os efeitos de compostos tóxicos nas minhocas que habitam solos contaminados (ALVES, 2002).

Assim, cada vez mais são requeridos estudos intensivos e a utilização de novas ferramentas para avaliar os impactos diretos e indiretos dos usos de produtos químicos sobre ecossistemas naturais terrestres. Entre estas ferramentas, têm-se destacado os testes de toxicidade, os quais devem ser considerados como uma análise indispensável, pois detectam os efeitos de poluentes sobre a biota, enquanto as análises químicas apenas identificam e quantificam as substâncias presentes nas amostras ambientais (HOFFMAN, 1995).

1.3 Estudos com organismos terrestres

A Ecotoxicologia tem se desenvolvido muito e se destacado como uma importante ferramenta para a análise de risco ambiental. Seu objetivo é a proteção dos ecossistemas frente aos impactos provocados por compostos tóxicos, uma vez que os estudos ecotoxicológicos avaliam as condições ambientais e monitoram suas tendências ao longo do tempo, predizem os efeitos dos agentes tóxicos e orientam a seleção de práticas de remediação (ISO, 2001).

Em comparação à ecotoxicologia aquática, a ecotoxicologia terrestre começou a ser pesquisada consideravelmente mais tarde, além disso, existe considerável diferença entre o número de métodos padronizados para cada um desses ambientes e entre o número de pesquisas realizadas em cada uma dessas áreas, se destacando mais a ecotoxicologia aquática (RÖMBKE; KNACKER, 2003). Römbke e Garcia (2000) também relatam que não há dados disponíveis para avaliar o risco de fungicidas e inseticidas em espécies da macrofauna decompositora terrestre, sendo encontrados, mais freqüentemente, resultados de pesquisas realizadas com organismos aquáticos. No Brasil, existe maior dificuldade ainda em se encontrar resultados de testes e pesquisas ecotoxicológicas com organismos terrestres, como vem sendo verificado nas diversas reuniões científicas da área de Ecotoxicologia no Brasil.

Segundo Adams (1995), os testes de toxicidade agudos são baseados nos efeitos severos sofridos pelos organismos, como por exemplo, mortalidade, em função de um curto período de exposição. Já os testes de toxicidade crônicos têm longa duração e medem efeitos sobre os organismos como alterações no crescimento, na reprodução e efeitos subletais (ADAMS, op cit). Além dos testes agudos e crônicos existem os testes de evitamento, os quais se caracterizam por avaliar o comportamento dos organismos mediante a presença de um contaminante.

Quanto à escolha de um organismo teste, os critérios a serem considerados incluem ampla taxa de sensibilidade; abundância e disponibilidade; se possível a espécie deve ser endógena, para a melhor representatividade dos ecossistemas; importância comercial, recreacional ou ecológica; facilidade de cultivo em laboratório; grande quantidade de informações literárias a respeito da biologia da espécie e ciclo de vida relativamente curto (RAND; PETROCELLI, 1985). Contudo, é praticamente impossível encontrar uma espécie com todas estas propriedades, o que faz com que muitos autores utilizem as espécies já padronizadas nos testes laboratoriais.

Em testes de toxicidade utilizando organismos terrestres tem sido dada maior atenção às minhocas do gênero *Eisenia* (*Eisenia foetida* e *Eisenia andrei*) por seu rápido crescimento e prodigiosa proliferação, bem como por sua adaptação às condições adversas do meio, como predação, variações de temperatura, umidade e luminosidade, formando populações numerosas em pouco tempo, desde que mantidas sob condições ótimas de criação (BORALI, 2000). As espécies do gênero apresentam acentuada sensibilidade a diversos produtos químicos, são facilmente mantidas em laboratório, além de terem sido escolhidas como organismos-teste de vários protocolos padronizados internacionalmente para verificação do potencial de contaminação do solo (PAPINI; ANDREA, 2004).

Nos últimos anos o número e a complexidade dos testes em ecotoxicologia terrestre aumentaram e iniciou-se a padronização em maior escala (RÖMBKE; KNACKER, 2003). Entretanto, Garcia (2004) ressalta que as metodologias padronizadas são desenvolvidas em países de clima temperado e deve-se ter cuidado ao utilizar dados ecotoxicológicos das regiões temperadas em regiões tropicais, já que as condições ambientais de cada local são bastante distintas e podem fornecer resultados diferentes, conforme verificou em estudo com os agrotóxicos benomyl, carbedazin e lambda-

cyalothrin sobre minhocas da Amazônia. O autor menciona ainda que poucos estudos têm sido realizados para se avaliar os impactos dos agrotóxicos em regiões tropicais por meio de ensaios ecotoxicológicos.

1.4 Área de estudo

O município de Bom Repouso possui uma área de 231 km^2 e está localizado no sudoeste do Estado de Minas Gerais, conforme mostra a Figura 1, mais especificamente no alto da Serra da Mantiqueira (ESPÍNDOLA; BRIGANTE; ELER, 2003).

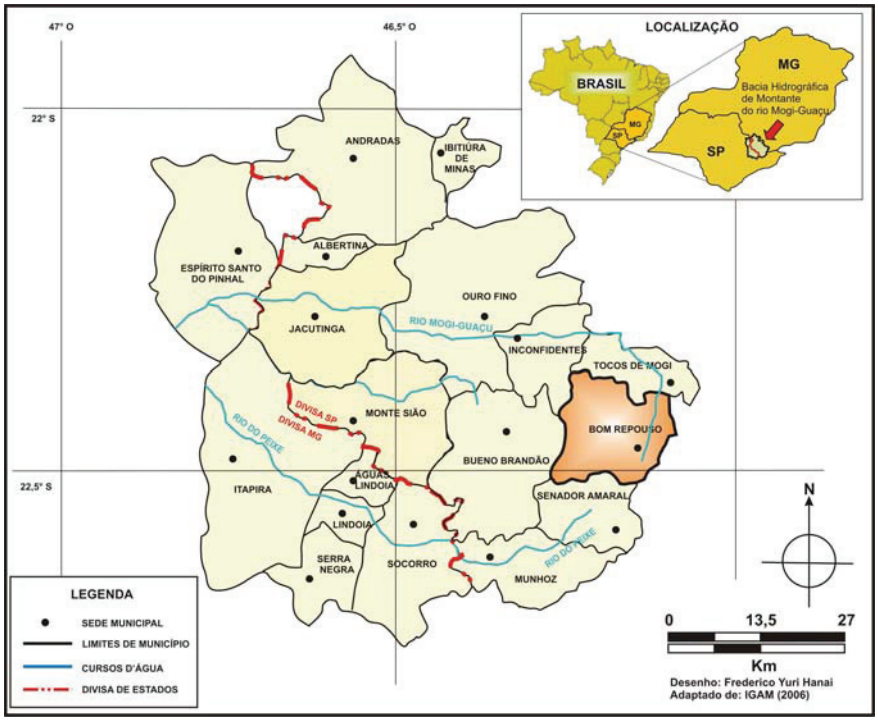

Figura 1. Localização do Município de Bom Repouso (MG).

Segundo os autores acima citados, as grandes altitudes encontradas, assim como outras características de localização, têm relevante influência sobre os aspectos físicos da região, como clima e cobertura vegetal. Os domínios fitoecológicos são formados basicamente de Mata Atlântica intercalada com agrupamentos de araucárias. Porém, a região já se apresenta bastante devastada, em função da exploração da madeira e do uso de áreas para atividades agrícolas, além da pecuária e criação de pequenos animais.

Também em decorrência das grandes altitudes, o município de Bom Repouso possui um grande número de nascentes. São 368 nascentes catalogadas, o que representa quase 2 nascentes por km², e entre elas se encontra a nascente do rio Mogi-Guaçu, a 1594 m de altitude (ESPÍNDOLA; BRIGANTE; ELER, 2003). No entanto, estudos realizados por CUNHA (2009) demonstram que o número de nascentes é bem maior (foram catalogadas mais de 900 nascentes), quando são incluídas as nascentes pontuais e difusas, muitas de difícil acesso nas encostas de morros.

A principal atividade econômica no município é a agricultura, com predominância do cultivo de batata e morango (Figura 2). A batata é cultivada no município há aproximadamente 40 anos, porém a porcentagem de terras utilizadas para o cultivo desta vem se reduzindo bastante nos últimos anos, principalmente devido ao baixo retorno financeiro para o produtor, conseqüentemente, o cultivo do morango vem aumentando (os agricultores vêm substituindo uma cultura pela outra) (ESPÍNDOLA; BRIGANTE; ELER, 2003).

Todavia, em decorrência da maior suscetibilidade dessas culturas a pragas e doenças, a utilização de agrotóxicos nessas culturas é intensa, o que as coloca na lista negra dos alimentos campeões de resíduos químicos (DAROLT, 2001).

Figura 2. Plantio de batata e morango no município de Bom Repouso (MG)

1.5 Justificativa

Estudos prévios desenvolvidos na bacia hidrográfica do Mogi-Guaçu por Brigante e Espíndola (2003) revelaram que, entre os aspectos ambientais impactantes identificados, destaca-se a agricultura, que se baseia no plantio de morango e batata na região de montante (principalmente no Estado de Minas Gerais), a qual vem contribuindo para a fragmentação das florestas nativas e perda da biodiversidade, além do despejo de efluentes industriais e domésticos que têm contribuído para a degradação dos recursos hídricos ao longo da bacia. Associado ao plantio em expansão, também se verifica o uso indiscriminado de fertilizantes e agrotóxicos, sendo este um problema não somente para a flora e fauna, mas também para a população local e consumidores distribuídos regional e nacionalmente.

Como resultado principalmente da atividade agrícola, os recursos hídricos e sedimentos do local se encontram contaminados com metais-traço, conforme mencionado por Brigante et al (2003b), destacando-se cádmio, cobalto, cromo, ferro, cobre e manganês em concentrações acima do estabelecido pela resolução vigente no período de estudo (antiga resolução CONAMA 20/86).

Em relação aos agrotóxicos, Brigante et al (2003a) mencionam a ocorrência de organoclorados nos sedimentos como aldrin, transheptachlor, α-endosulfan, endrin, endrin-aldeído e 4,4-DDT, sendo muito deles utilizados em culturas de cana-de-açúcar, tomate, algodão, soja, citros, milho e olerícolas. Em relação aos organofosforados, os autores verificaram a presença de paration etil e metil em três nascentes do rio Mogi-Guaçu, na região de Bom Repouso.

Conforme outros estudos desenvolvidos no local, essa contaminação verificada especificamente no município de Bom Repouso é mais preocupante quando se associa ao fato de que os produtores rurais da região têm práticas não adequadas quanto ao uso de

agrotóxicos, de utilização de EPIs e de destinação de embalagens vazias, conforme foi verificado em entrevistas aplicadas a esses produtores (LIMA, 2006; NUNES et al, 2009).

Deve-se lembrar também que o desenvolvimento de pesquisas na área de ecotoxicologia terrestre é de grande interesse em razão da escassez de estudos nessa área, além de que, por ser uma nova linha de pesquisa que ainda está sendo desenvolvida, deve-se ter grande preocupação de que os testes padronizados com organismos terrestres sejam bem aplicáveis e eficazes para avaliação de áreas contaminadas.

Por outro lado, a realização de testes ecotoxicológicos terrestres no Brasil deve ser estimulada a fim de se desenvolver essa linha de pesquisa. Os testes padronizados internacionalmente devem ser aplicáveis à análise da contaminação de áreas naturais, sendo importante que informações obtidas através de ensaios ecotoxicológicos em laboratório forneçam condições de se realizar uma melhor análise do grau de contaminação de um local visando a Avaliação do Risco Ambiental de uma área e uma posterior tomada de decisão para recuperação desta.

2. OBJETIVOS

2.1 Objetivo geral

O objetivo geral da pesquisa foi avaliar os impactos ambientais decorrentes das atividades agrícolas do município de Bom Repouso, MG, notadamente as monoculturas de morango e batata, por meio de ensaios ecotoxicológicos com a espécie *Eisenia andrei*.

2.2 Objetivos específicos

a) Analisar a contaminação ambiental do solo do município de Bom Repouso (MG) por meio de análises físicas, químicas e ensaios ecotoxicológicos com *Eisenia andrei* (testes de evitamento, toxicidade aguda e crônico) utilizando solos de áreas de mata (preservada) e de plantio de morango e batata, a fim de verificar os riscos referentes à atividade agrícola.

b) Avaliar a aplicabilidade dos testes ecotoxicológicos padronizados internacionalmente para análise de áreas contaminadas.

3. METODOLOGIA

3.1 Amostras de solo

As coletas de amostras de solo no município de Bom Repouso foram realizadas em julho de 2008. Para realização de todos os ensaios do presente estudo, foram feitas coletas de solo de três diferentes tipos de áreas no município, incluindo áreas de produção de morango, de produção de batata e de área não cultivada, com mata preservada. No total foram selecionadas nove áreas para análise, sendo três representativas de cada situação: mata preservada (Figura 3), plantio de morango (Figura 4) e plantio de batata (Figura 5). Em cada área de coleta sub-amostras de solo foram sendo coletadas em diferentes pontos ao longo dessa área, constituindo assim uma única amostra mais representativa da situação a ser avaliada.

As amostras de solo foram coletadas com auxílio de escavadeiras manuais (Figura 6), sendo colocadas em sacos plásticos escuros e transportadas para os laboratórios do

Núcleo de Estudos em Ecossistemas Aquáticos (NEEA), do Centro de Recursos Hídricos e Ecologia Aplicada (CRHEA), do Departamento de Hidráulica e Saneamento (SHS), da Escola de Engenharia de São Carlos (EESC), da Universidade de São Paulo (USP). No laboratório as amostras foram separadas para análises físicas, químicas e para a realização de testes de toxicidade, seguindo os procedimentos técnicos para cada análise.

Figura 3. Áreas de mata de Bom Repouso (MG) onde foram feitas as coletas de solo (julho/2008).

Figura 4. Áreas de cultivo de morango em Bom Repouso (MG) onde foram feitas as coletas de solo (julho/2008).

Figura 5. Áreas de cultivo de batata em Bom Repouso (MG) onde foram feitas as coletas de solo (julho/2008).

Figura 6. Coletas de solo em área de plantio de morango, em Bom Repouso (MG)

3.2 Análises física e química do solo

As amostras de solo coletadas foram avaliadas física e quimicamente para verificação de umidade, pH, capacidade de retenção, matéria orgânica, granulometria, fósforo total, nitrogênio orgânico total, metais traço e agrotóxicos. As metodologias utilizadas são apresentadas na Tabela 1.

Tabela 1. Métodos e referências utilizadas para análise física e química do solo das amostras das áreas de morango, batata e de mata, em Bom Repouso (MG)

Variável analisada	Método	Referência
Matéria orgânica	incineração	TRINDADE (1980)
Granulometria	peneiramento e densímetro	ABNT (1968)
Fósforo total	espectrofotometricamente	ANDERSEN (1976)
Nitrogênio orgânico total	KJELDHAL	APHA (1995)
Metais biodisponíveis	espectrofotometricamente	SILVÉRIO (2003)
Agrotóxicos	cromatografia gasosa	LANÇAS (1997)

Algumas variáveis, como fósforo e nitrogênio, não são normalmente avaliados e controlados para a realização dos testes ecotoxicológicos padronizados, mas considerando sua importância nas características nutricionais do ambiente, podendo favorecer outros organismos presentes no meio, optou-se por sua inserção no presente estudo.

Além das variáveis apresentadas anteriormente na Tabela 1, outras, requeridas para os testes de toxicidade, foram realizadas, entre elas a umidade, pH e capacidade de retenção. Para verificação da umidade, o solo foi colocado em recipiente de peso conhecido, pesado e levado a uma estufa a 105-110ºC por 24 horas, o qual, após esfriado, foi novamente pesado e com a diferença de peso inicial e final foi calculada a umidade, conforme técnica descrita por Monteiro e Frigheto (2000). A análise foi realizada em duplicatas e a fórmula para o cálculo da umidade é apresentada abaixo:

$$U = \frac{W2 - W3}{W3 - W1} x100\%$$

Sendo: W1 = peso do recipiente

W2 = peso do recipiente + solo

W3 = peso do recipiente + solo seco

Ainda de acordo com os mesmos autores, 10 g de cada amostra de solo foram pesadas e 25 mL de água foram adicionadas, sendo a mistura agitada por 15 a 20 minutos. Depois de mais 30 minutos decantando foi feita a medição do pH do sobrenadante (por no mínimo 2 minutos).

Para determinação da capacidade de retenção, 20 g de solo foram pesados e colocados em um papel de filtro num funil sobre um frasco coletor (Figura 7). Ao material foram adicionados 100 mL de água destilada, sendo coberto com papel alumínio, deixando em repouso por no mínimo 10 horas. No dia seguinte, o frasco coletor foi pesado para a que capacidade de retenção pudesse ser calculada com a seguinte fórmula:

$$\% \text{ Capacidade de Retenção} = \{[(100-Wp) + Wi]/dWt\} \times 100$$

Sendo: Wp = peso da água percolada (g)

Wi = conteúdo da água (g) existente inicialmente na amostra (umidade)

dWt = peso seco do solo (peso seco em estufa a 105°C por 24 h)

Figura 7. Ensaio para determinação da capacidade de retenção do solo.

Os metais traço analisados foram cobre, cromo, cádmio, ferro, alumínio, chumbo, níquel, cobalto, manganês e zinco, os quais foram determinados nos laboratórios do NEEA/CRHEA/EESC/USP. Quanto aos agrotóxicos, foram feitas análises das concentrações de alfa-BHC, Heptacloro, gama-BHC, Aldrin, Metolacloro, alfa-Endossulfan, beta-Endosulfan, Heptacloro epóxido, Clordano, Dieldrin, Endrin, 4,4 DDT e Metoxicloro por serem análises normalmente realizadas em diversos estudos, além de Carbofuran e Abamectina. Justifica-se a análise da presença desses dois agrotóxicos porque, no caso do primeiro, durante uma das coletas (área de batata 3) o proprietário mencionou que havia aplicado o produto há 1 semana, e o segundo por ser o princípio ativo de agrotóxico mais utilizado no município de Bom Repouso (LIMA, 2006). As análises de agrotóxicos foram realizadas no Laboratório de Química Ambiental do Instituto de Química de São Carlos, Universidade de São Paulo, com certificação de padrões de pesticidas EPA; SUPELCO Lote nº. LB58241, Cat: 48998, validade 05/2009; Solvente: Hexano 85% , em HPLC Lote 710523, validade 10/2012.

3.3 Os testes de toxicidade com amostras de solos

3.3.1 Solo Tropical Artificial (TAS) para testes

Para a realização dos testes toxicológicos com a minhoca *E. andrei,* foi utilizado um solo artificial (Figura 8) preparado em laboratório, o qual se faz necessário em algumas etapas dos testes, como por exemplo, como solo controle ou para aclimatação dos organismos 24 horas antes de serem introduzidos nos solos a serem avaliados.

Figura 8. Materiais constituintes do solo artificial (TAS): à esquerda, cada material separadamente, e à direita, todos os materiais misturados, formando um solo composto.

Segundo o protocolo nº. 207 (1984), o protocolo nº. 222 (2004), ambos da OECD, a norma ISO 11268-1 (1993), a norma ISO 11268-2 (1998), ISO 17512-1 (2007) e a norma da ABNT NBR 15537 (2007), o solo artificial deve ser constituído por 70% de areia industrial, 20% de argila branca e 10% de matéria orgânica, os quais devem ser totalmente misturados.

A areia utilizada nos testes foi adquirida do Instituto de Pesquisas Tecnológicas (IPT), a qual já é peneirada e lavada. A argila branca (caolin) foi adquirida

comercialmente, na região de Diadema/SP, sendo utilizada sem nenhum tratamento adicional. Na empresa fornecedora esta argila passa por um processo de radiação.

A matéria orgânica recomendada pelas normas da OECD e da ISO, citadas anteriormente, é a turfa de esfagno, porém este material é difícil de ser obtido no Brasil, principalmente comercialmente. Assim, optou-se pela utilização de outra fonte de matéria orgânica em substituição à turfa de esfagno: o pó de fibra de côco (adquirido da Empresa Amafibra, localizada em Holambra, SP), o qual foi peneirado antes de ser utilizado. A substituição foi feita de acordo com o proposto por Garcia (2004), que em estudo sobre adaptação da metodologia de testes toxicológicos com minhocas em países tropicais, testou outros tipos de substrato e recomendou o uso do pó de fibra de côco ou do xaxim para a realização de tais testes. A norma da ABNT NBR 15537 (2007) também recomenda o uso de esfagno moído seco, turfa ou pó de fibra de côco.

O pH do solo, segundo as mesmas normas, deve ser ajustado para 6,0 ± 0,5, com a adição de $CaCO_3$ se necessário. Quanto à umidade, as normas ISO 11268-1 (1993), ISO 11268-2 (1998), ISO 17512-1 (2007) e protocolo nº. 222 (2004) da OECD determinam que seja feito o ajuste de umidade para 40% a 60% da capacidade de retenção do substrato. Já o protocolo nº. 207 (1984) da OECD e a norma da ABNT NBR 15537 (2007) indicam que a umidade seja ajustada a 35% do peso seco do substrato. Para esta pesquisa foi adotada a primeira opção.

3.3.2 Recipientes de teste

Os recipientes utilizados nos testes foram de plástico, redondos, com diâmetro de 11,5 cm, altura de 9,5 cm e tampa perfurada para permitir a entrada de ar e ao mesmo tempo retardar o ressecamento (Figura 9). Segundo Yeardley et al (1996) os recipientes

redondos são recomendados para testes toxicológicos com as minhocas a fim de evitar que elas se acumulem nas bordas e no fundo dos recipientes, em resposta à presença dos contaminantes, o que é mais difícil de ocorrer em recipientes redondos.

Figura 9. Recipientes plásticos utilizados nos testes de toxicidade com a espécie *E. andrei*.

3.3.3 Testes de toxicidade com organismos padronizados

Eisenia andrei e *Eisenia foetida* são as espécies padronizadas internacionalmente nos protocolos definidos para os testes ecotoxicológicos que utilizam minhocas (protocolo OECD nº. 207 (1984), o protocolo OECD nº. 222 (2004), norma ISO 11268-1 (1993), norma ISO 11268-2 (1998), ISO 17512-1 (2007) e norma da ABNT NBR 15537 (2007)). Elas são as espécies mais usadas para vermicompostagem, testes ecotoxicológicos e estudos genéticos, pois podem ser encontradas em todo o mundo, apesar de serem originais de países de clima temperado, além de terem um ciclo de vida curto e grande faixa de tolerância à umidade e temperatura (DOMINGUEZ; VELANDO; FERREIRO, 2005).

Segundo o protocolo nº 207 da OECD, elas são morfologicamente similares, mas uma (*Eisenia foetida*) tem uma listra ou banda transversa nos segmentos e a outra (*Eisenia andrei*) não possui essas listras e apresenta uma coloração vermelha variada.

Apesar de serem muito parecidas, são espécies diferentes, conforme verificado por Dominguez, Velando e Ferreiro (2005), já que elas possuem isolamento reprodutivo. Ainda segundo os autores, os efeitos dos contaminantes sobre cada espécie podem ser diferentes.

Ambas têm um curto ciclo de vida, saindo dos casulos em 3 a 4 semanas e se tornando adultas de 7 a 8 semanas a 20°C. Sua reprodução é intensa e cada organismo produz de 2 a 5 casulos por semana (OECD, 1984). As minhocas utilizadas nos testes são da espécie *Eisenia andrei* (Figura 10) e foram adquiridas comercialmente na cidade de Campinas/SP.

Figura 10. Minhoca da espécie *Eisenia Andrei* utilizada nos testes de toxicidade com amostras de solo de Bom Repouso (MG). Fonte: http://www.recyclaqua.agropolis.fr/dossier_presse/images/photo09.jpg

3.3.4 Manutenção do organismo-teste

Para o cultivo e manutenção dos organismos teste em laboratório, o protocolo OECD nº. 207 (1984), protocolo OECD nº. 222 (2004), norma ISO 11268-1 (1993), norma ISO 11268-2 (1998) e ISO 17512-1 (2007) indicam a utilização de 50% de esterco animal e 50% de turfa, entretanto a turfa não é encontrada comercialmente no Brasil,

conforme mencionado anteriormente. A CETESB (1990) recomenda 50% de esterco e 50% de terra vegetal. A norma da ABNT NBR 15537 (2007) sugere a utilização de 50% de esterco de cavalo ou bovino com 50% de outro material (turfa, ou esfagno, ou pó de fibra de côco), o que na verdade se assemelha às normas internacionais citadas, porém com certa adaptação às condições brasileiras de não disponibilidade comercial de turfa, a qual pode ser substituída pelo pó de fibra de côco, opção também sugerida por Garcia (2004).

Optou-se então por utilizar 50% de esterco bovino e 50% de pó de fibra de côco em cultivos que foram estabelecidos no Laboratório de Ecofisiologia e Ecotoxicologia, do NEEA/CRHEA/EESC/USP. Exemplares adultos de minhocas da espécie *Eisenia andrei* foram adquiridos comercialmente, na região de Campinas/SP, e foram mantidos em laboratório dentro de caixas de plástico. A alimentação das minhocas foi feita com a adição de flocos de aveia previamente cozidos em água destilada a cada 15 dias (OECD, 1984). Como este procedimento apresentou bons resultados, essa foi a forma de cultivo adotada.

O substrato de cultivo passou por um tratamento com dois ciclos de congelamento de 48h seguidos de descongelamento, visando a desfaunagem do solo (PESARO et al, 2003). A umidade foi controlada adicionando-se água destilada de acordo com a necessidade, de modo que o substrato não ficasse seco e nem úmido demais. A caixa de cultivo foi coberta com um tecido de tule, a fim de evitar a fuga dos organismos, já que a tampa plástica não foi utilizada para fechar totalmente a caixa, de modo a permitir a entrada de ar e ao mesmo tempo retardar o ressecamento (Figura 11).

Seguindo a recomendação de todas as normas padronizadas citadas neste item, o controle do pH do substrato também foi feito adicionando-se quantidades suficientes de $CaCO_3$ à mistura (quando necessário), buscando-se sempre ajustá-lo para 6,0 a 7,0, faixa

ideal para o desenvolvimento dos organismos. O cultivo foi mantido com fotoperíodo de 12 horas, à temperatura de 20 ± 2ºC.

Figura 11. Caixas de cultivo da minhoca *E. andrei*, mantidas em laboratório.

3.3.5 Teste de toxicidade aguda

Os testes de toxicidade aguda seguiram as recomendações do protocolo nº. 207 da OECD (1984), da NBR 15537 (2007) e da norma ISO 11268-1 (1993). Ressalta-se que alguns parâmetros dos testes definidos pelas duas primeiras normas diferem da última. Nestes casos, o critério definido pela norma ISO foi o escolhido para ser utilizado, com a justificativa de que a norma ISO é mais atual que a da OECD, e a norma da ABNT consiste apenas em uma tradução desta última.

Os recipientes usados foram redondos, de plásticos e com as tampas perfuradas, sendo que em cada um foram adicionados 500g de substrato seco. A umidade foi ajustada a 50% da capacidade de retenção de água no solo e a cada recipiente foram adicionados 10 organismos, todos adultos, com clitelo e pesando entre 300 – 600 mg, os quais foram

previamente aclimatados, no mínimo 24 horas antes, em substrato artificial (TAS) produzido em laboratório, conforme recomendação das normas acima citadas.

Na figura 12 ilustra-se o processo de pesagem e adição das minhocas nos recipientes que contém os solos testados. Foram feitas quatro réplicas para cada tipo de solo coletado e quatro réplicas como controle com o TAS. Na Figura 13 demonstra-se o teste de toxicidade aguda.

Figura 12. Minhocas da espécie *E. andrei* sendo pesadas em balança analítica (à esquerda) e colocadas nos recipientes-testes (à direita).

Figura 13. Testes de toxicidade aguda com amostra de solo de Bom Repouso, realizados em sala climatizada.

A mortalidade das minhocas foi avaliada após 7 e 14 dias, retirando-as do meio de teste e testando sua reação a estímulos mecânicos na parte frontal. Os ensaios foram

realizados sob fotoperíodo de 12 horas de luz e 12 horas de escuro e temperatura de 20 ± 2ºC. A substância de referência para este teste foi a cloroacetamida, com faixa de sensibilidade estabelecida entre 20 – 80 mg/kg (ABNT, 2007; ISO, 1993; OECD, 1984). O teste de sensibilidade foi realizado com TAS.

Como o tempo de duração do teste de toxicidade aguda é considerável (14 dias), optou-se por pesar os organismos sobreviventes ao fim de realização dos testes, pois, caso não fosse detectada toxicidade aguda, um parâmetro subletal poderia ser avaliado.

Tabela 2. Resumo do teste de toxicidade aguda para análise ecotoxicológica das amostras de solo de Bom Repouso (MG).

Características do teste	**Toxicidade aguda**
Normas	ISO 11268-1 (1993), Protocolo OECD nº 207 (1984) e NBR 15537 (2007)
Tempo de duração	14 dias
N° réplicas	4
N° organismos por recipiente	10
Quantidade de solo	500 g de solo seco (por réplica)
Peso organismos	300-600 mg
Temperatura	20 ± 2°C
Luminosidade	fotoperíodo de 12h de luz e 12h de escuro
Umidade	50% da capacidade de retenção do solo
Substância de referência	Cloroacetamida (20-80 mg/kg)

3.3.6 Teste de evitamento

Os testes de evitamento (ou *avoidance*) foram realizados baseando-se em Garcia (2004) e ISO 17512-1 (2007). O princípio do teste de evitamento é que os organismos apresentam capacidade para reconhecer o contaminante, evitando os locais contaminados. No caso das minhocas, acredita-se que por possuírem quimio-receptores na superfície do corpo, elas apresentam grande sensibilidade à presença de substâncias químicas do meio. Assim, a tendência é que elas evitem o substrato contaminado, se deslocando para a

metade do recipiente que contém o substrato puro. A Figura 14 mostra como o teste é realizado.

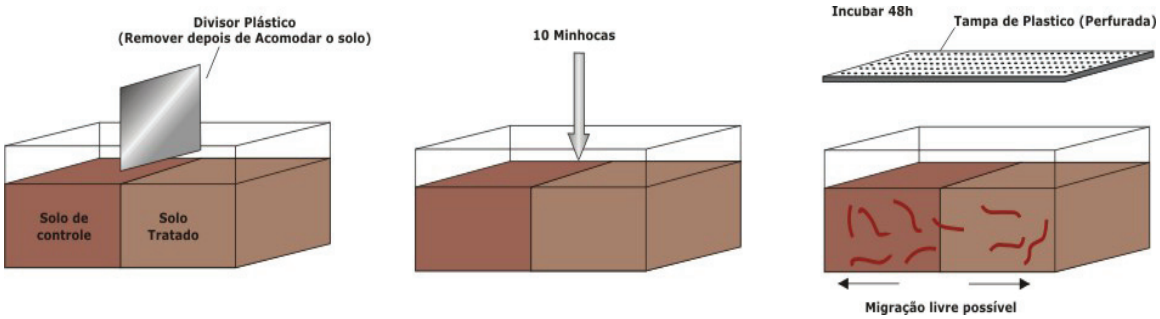

Figura 14. Esquema de realização do teste de evitamento. Fonte: GARCIA (2004).

Neste teste os solos avaliados foram colocados em um recipiente de plástico dividido ao meio por um divisor também de plástico. Em uma das metades foi colocado 250g de solo seco coletado nas áreas de culturas de batata e morango e na outra metade 250g de solo seco coletado na área de mata. Em seguida, o divisor de plástico foi retirado e 10 minhocas, todas adultas e previamente aclimatadas em TAS 24h antes do teste, com clitelo e peso entre 300 – 600 mg, foram colocadas na linha divisória entre os dois substratos. Os recipientes foram fechados com tampas de plástico perfuradas, sendo distribuídos aleatoriamente pela bancada do laboratório e posicionados de modo que os lados dos recipientes que contém o solo contaminado ficassem sempre na mesma direção.

Para a avaliação do teste, o divisor de plástico foi novamente introduzido nos potes, separando o solo das áreas de cultivo do solo controle, fazendo-se então a contagem do número de minhocas que se encontram em cada um dos lados, após 48 horas da montagem do experimento.

O experimento foi realizado a temperatura de 20 ± 2ºC, fotoperíodo de 12 horas de luz e 12 horas de escuro e umidade aproximada de 50% da capacidade de retenção do solo. Foram feitas 4 repetições para cada solo testado e quatro repetições para cada controle,

realizado com TAS e solo da área de mata conforme detalhado a seguir. A substância de referência para este teste foi o ácido bórico, sendo sua faixa de sensibilidade estabelecida entre 400 a 800 mg/Kg (ISO, 2007).

Tabela 3. Resumo do teste de evitamento utilizado para avaliação da toxicidade de amostras de solo de Bom Repouso (MG).

Tipo de teste	Evitamento
Norma	ISO 17512 (2007)
Tempo de duração	48h
N° réplicas	4
N° organismos por recipiente	10
Quantidade de solo	500 g de solo seco (por réplica)
Peso organismos	300-600mg
Temperatura	20 ± 2°C
Luminosidade	fotoperíodo de 12h de luz e 12h de escuro
Umidade	50% da capacidade de retenção do solo
Substância de referência	ácido bórico (400-800 mg/kg)

Para a realização dos testes de evitamento é necessário que se tenha o solo que se deseja avaliar quanto à toxicidade, e um solo que se considere não contaminado a ser considerado como o solo-controle do teste. O solo artificial talvez pudesse ser considerado como solo controle para esse teste, porém optou-se por não utilizá-lo como solo controle pelo fato de que as características físicas visuais entre o TAS e os solos das amostras coletadas eram muito diferentes, o que poderia acarretar em resultados que não representassem o objetivo do teste de evitamento.

Decidiu-se, portanto, em utilizar o solo de alguma amostra de área de mata do próprio município de Bom Repouso para compará-lo com o solo das áreas de cultivo de batata e morango. Entre as amostras de solo das áreas de mata 1, 2 e 3 optou-se por utilizar o solo da área de mata 1 porque o ajuste da umidade a 50% da capacidade de retenção do solo pôde ser feito, conforme é definido nas normas internacionais, e que não foi possível de ser realizado com as outras amostras de áreas de mata. As áreas de mata 2 e 3 apresentaram divergências quanto ao ajuste de umidade conforme será descrito e

discutido posteriormente. Em suma, os testes de evitamento foram realizados fazendo-se combinações do solo da área de mata 1 com os solos das áreas de cultivo de morango e batata.

Rinke e Wiechering (2001) e Yeardley et al (1996) discutem a importância de se realizar o "dual control test", que consiste em um teste de evitamento padrão em que não são aplicados contaminantes, utilizando-se apenas o solo controle nas duas metades do recipiente com o objetivo de se verificar a distribuição dos organismos nos potes. Os organismos devem estar, em média, igualmente distribuídos em ambos os lados do pote, apesar de ser comum ocorrerem exceções, com valores bem distantes dessa média. Este resultado é importante para garantir que a distribuição dos organismos nos potes não esteja sendo influenciada por outros fatores.

A norma ISO 17512-1 (2007), define este parâmetro como um critério para validação do teste de evitamento, definindo que, em média, o número de minhocas deve estar na faixa de 40% a 60% para ambos os lados do recipiente, o que corresponde a uma porcentagem de evitamento aceitável de -20% ou 20% para os recipientes controles. Seguindo essa orientação, foram feitos também dois controles, com 4 réplicas cada um, um apenas com solo de área de mata 1 e um apenas com TAS. Vale fazer a observação de que, no caso do controle, o valor negativo indica apenas que menos que 50% dos organismos estão naquele lado do recipiente para o qual o cálculo foi realizado.

3.3.7 Testes crônicos

As condições ambientais dos testes, como luz, umidade, número de réplicas, recipientes e temperatura, foram os mesmos descritos para os testes de toxicidade aguda. Os testes de reprodução foram feitos baseando-se na norma ISO 11268-2 (1998),

protocolo nº 222 da OECD (2004) e na metodologia descrita por Garcia (2004), adicionando-se a cada recipiente-teste 10 minhocas adultas, com clitelo, pesando entre 250 e 600 mg e previamente aclimatadas conforme já descrito. A cada semana, foram adicionados 5g de esterco bovino seco e triturado, o qual serviu de alimento para os organismos, assim como os recipientes também foram pesados semanalmente, adicionando-se água em quantidade correspondente a essa diferença de peso. Na Figura 15 apresenta-se o teste de toxicidade crônica.

Figura 15. Testes de toxicidade crônica utilizando a espécie *E. andrei* como organismo-teste, em amostras de solo de Bom Repouso (MG).

Após 28 dias do início do teste, os indivíduos adultos foram retirados manualmente dos potes, anotando-se as mudanças morfológicas e comportamentais e o número de sobreviventes, os quais foram pesados. Após mais 28 dias, os juvenis foram retirados dos potes através do método de extração por aquecimento em banho-maria (GARCIA, 2004) seguido pela seleção manual e contagem dos indivíduos em cada pote. A substância de referência para este teste foi o carbedazin, com a menor concentração com efeito observável (LOEC) variando entre 1mg e 5mg.

Tabela 4. Resumo do teste de toxicidade crônica com a espécie *E. andrei*

Teste	Toxicidade crônica
Norma	ISO 11268-2 (1998), Protocolo nº 222 da OECD (2004)
Tempo de duração	56 dias
N° réplicas	4
N° organismos por recipiente	10
Quantidade de solo	500 g de solo seco (por réplica)
Peso organismos	250-600mg
Temperatura	20 ± 2°C
Luminosidade	fotoperíodo de 12h de luz e 12h de escuro
Umidade	50% da capacidade de retenção do solo
Substância de referência	Carbedazin (LOEC 1-5 mg/kg)

3.3.8 Análise de dados

Para os testes de evitamento, o cálculo da resposta foi feito utilizando-se a fórmula (ISO, 2007):

$$RL = [(C - T)/10]x100\%$$

Sendo: C = soma de minhocas observadas no controle

T = soma de minhocas observadas no solo tratado

10 = número total de minhocas por repetição

RL = resposta líquida

Uma RL positiva significa evitamento e uma RL negativa significa "não resposta" ou "atração" pela substância química testada. Também foi utilizado o Teste Exato de Fisher para avaliar os dados obtidos, em que foi considerada como hipótese nula uma distribuição homogênea dos organismos, ou seja, que metade do número de organismos se encontre em apenas um lado do recipiente (LUZ *et.al*, 2007).

Para os testes de toxicidade aguda e toxicidade crônica realizados, os procedimentos para análise de normalidade e variância dos dados foram os mesmos. O

número de réplicas em cada teste era quatro, sendo dez os indivíduos em cada uma das réplicas.

Para os testes de toxicidade aguda, não havendo diferença estatisticamente significativa na mortalidade em relação ao controle, o resultado é "não tóxico", e havendo diferença significativa o resultado deve ser "tóxico" (ABNT, 2007). Quanto ao teste de toxicidade aguda, também foi comparada a perda de peso (em %) após 14 dias transcorridos do início da análise. Os testes de toxicidade crônica, por sua vez, comparavam o número de juvenis e a perda de peso (em %) para os solos coletados em Bom Repouso, após 28 dias transcorridos. Foram considerados significativos todos os resultados para $p \leq 0,05$.

Para realização das análises é necessário verificar a normalidade e homogeneidade dos dados. Para tanto, aplicou-se o teste de Shapiro-Wilks (Normalidade) seguido do teste de homogeneidade de variância de Bartlett. Uma vez que os resultados eram paramétricos, foram utilizados os testes de Dunnett e de Tukey para comparações múltiplas entre as amostras (Mata 1, Mata 2, Mata 3, Batata 1, Batata 2, Batata 3, Morango 1, Morango 2 e Morango 3) e das amostras para com o controle (TAS).

4. RESULTADOS

Para melhor visualização da apresentação dos resultados em gráficos e tabelas, as diferentes áreas de estudo foram nomeadas de forma simplificada, caracterizando cada área. Assim, optou-se pela denominação Ma para mata preservada (Ma1, Ma2 e Ma3), Ba para plantio de batata (Ba1, Ba2 e Ba3) e Mo para plantio de morango (Mo1, Mo2 e Mo3).

4.1 Análises físicas e químicas dos solos

4.1.1 Capacidade de retenção

Os resultados da avaliação da capacidade de retenção dos solos estão apresentados na Figura 16, verificando-se que esta variou bastante entre cada amostra testada. Entre os solos da área de mata a variação foi maior, sendo a capacidade de retenção do solo da área de mata 1, 2 e 3 de 78,21%, 67,72% e 53,51%, respectivamente, o que representaria, em média, valores de 66,48%. A diferença entre a capacidade de retenção dos solos das áreas de cultivo de batata também não foi pequena, variando entre 49,05% (batata 3) e 60,29% (batata 1), com valor médio de 55,75% entre as áreas, apesar de terem sido menores que a variação dos solos da área de mata. Os mesmo ocorreu para os solos das área de cultivo de morango (morango 1: 69,13%; morango 2: 62,82% e morango 3: 75,97%), com valor médio de 69,30%, sendo superior aos demais tratamentos.

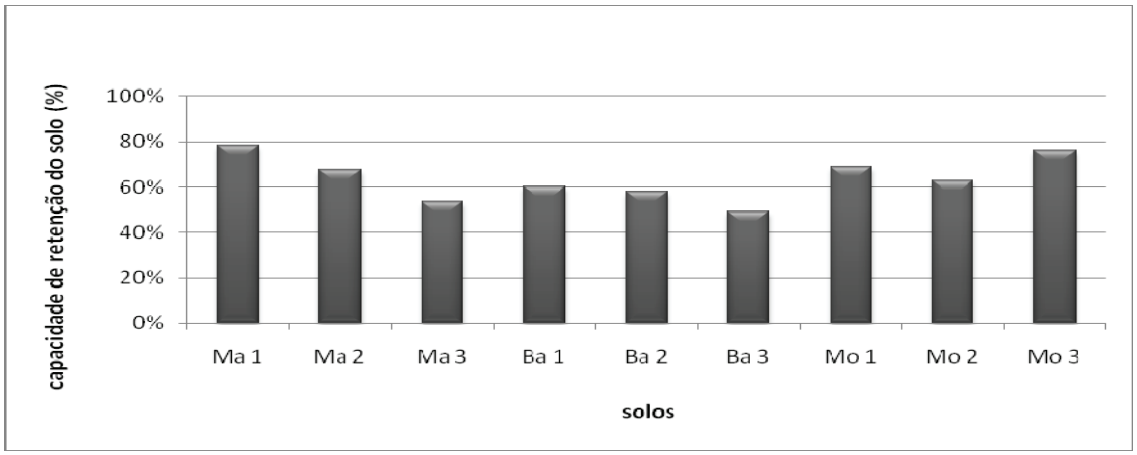

Figura 16. Valores de Capacidade de Retenção de cada solo coletado em Bom Repouso, MG.

Como, de acordo com a padronização das normas internacionais, a umidade dos solos para os testes deve ser ajustada para 40% a 60% da capacidade de rentenção dos

solos, este é um importante parâmetro para a realização dos testes ecotoxicológicos e exerce influência sobre os resultados finais.

Mesmo seguindo a padronização, visualmente era perceptível que alguns solos ficavam bem mais encharcados do que outros quando se realizou o ajuste da umidade de cada um para 50% da sua capacidade de retenção. No caso do solo da área de mata 3, os resultados apontavam que a umidade do solo (37,5%) já estava superior à 50% da sua capacidade de retenção (53,51%). No caso da área de mata 2, os resultados de umidade do solo (33,91%) apontavam que este solo já se encontrava em 50% da sua capacidade de retenção, porém, visualmente, esses dois solos não pareciam úmidos da mesma forma que os outros solos se encontravam após o ajuste de umidade. Os testes foram repetidos (tanto o de umidade do solo quanto o de capacidade de retenção), todos em duplicata, e os resultados obtidos foram os mesmos.

Em vista desses resultados, optou-se por realizar os testes ecotoxicológicos das áreas de mata 2 e 3 de duas formas: utilizando o solo da maneira como este se encontrava, ou seja, sem adicionar água, considerando que os solos já se encontravam em 50% de sua capacidade de retenção; a outra alternativa utilizada foi adicionar água a esses dois solos de forma a se fazer um ajuste visual da umidade, comparando com os outros solos. Buscou-se adicionar água de forma que ao pressionar um pouco de solo entre as mãos este ficasse consistente sem esfarelar ao mesmo tempo que não escorresse água por entre os dedos, o que resultou em uma quantidade de água adicionada à área de mata 2 correspondente a 70% de sua capacidade de retenção e uma quantidade de água adicionada à área de mata 3 correspondente a 90% de sua capacidade de retenção.

4.1.2 Umidade

Os resultados obtidos em relação à umidade dos solos coletados estão apresentados na Figura 17, verificando-se que os solos das áreas de cultivo de batata se mostraram os mais secos (em média 9,64% de umidade) e os de área de mata os mais úmidos (em média 31,35% de umidade), seguidos pelos de morango (em média 19,47%). Esses valores não influenciaram os resultados dos testes, já que a umidade do solo para os testes sempre foi ajustada, pois os organismos-teste não sobrevivem em solos muito secos. Mas os valores de umidade podem indicar diferenças em relação às características do solo em manter uma maior ou menor umidade.

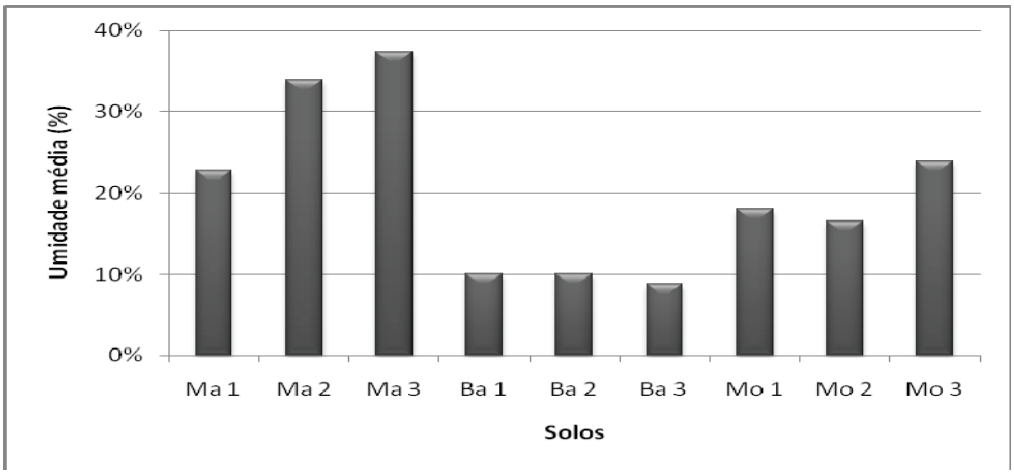

Figura 17. Valores obtidos para umidade dos solos das áreas de Bom Repouso (MG).

Os valores de umidade obtidos foram utilizados para se fazer o cálculo da quantidade de água necessária para ser acrescentada a cada tipo de solo de modo que cada um ficasse com umidade semelhante (40% a 60% da capacidade de retenção do solo), possibilitando melhor padronização dos resultados finais, conforme prevê as normas dos testes que foram utilizadas. A umidade do solo é um parâmetro que tem grande influência sobre os organismos-teste, e uma diferença grande de umidade entre cada solo poderia

trazer resultados influenciados pela umidade e não por compostos tóxicos, que são o foco da pesquisa.

Da forma que foi exposta no item anterior, que trata sobre a capacidade de retenção dos solos, a umidade de cada solo foi ajustada para 50% de sua capacidade de retenção, sendo que a umidade do solo da área de mata 2 foi ajustada a 70% de sua capacidade de retenção e a umidade do solo da área de mata 3 foi ajustada a 90% de sua capacidade de retenção. Sendo assim, a umidade final de cada solo utilizada na realização dos testes ecotoxicológicos está apresentada na Figura 18.

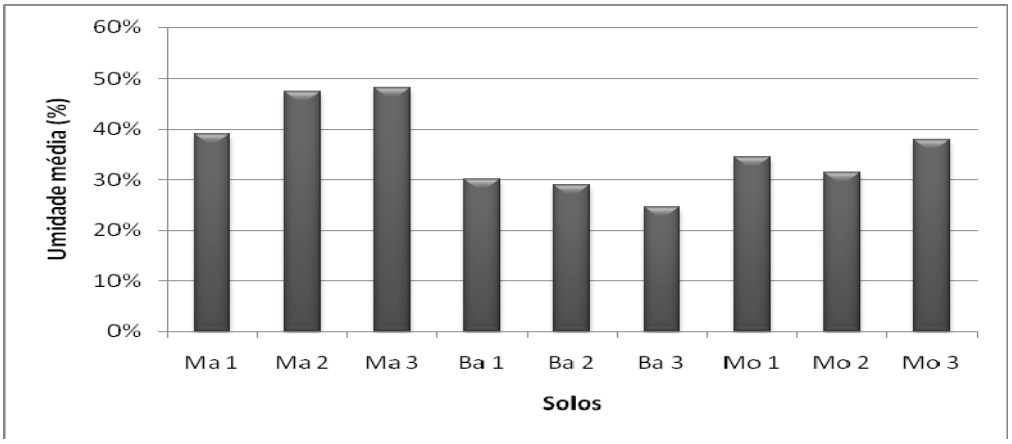

Figura 18. Valores obtidos para umidade dos solos das áreas de Bom Repouso (MG) após ajuste de umidade.

4.1.3 pH

Os valores de pH obtidos nas amostras de solo estão apresentados na Figura 19, verificando-se reduzida variação entre eles. Em geral os valores de pH indicam solos com características mais ácidas (abaixo de 6,0 em sua maioria), com valores médios de 5,04 para os solos de mata, de 5,18 para solos de área cultivada com batata e de 5,72 para os solos com plantio de morango. O valor mínimo de pH foi obtido na área 3 de cultivo de batata (pH = 4,82) e o valor máximo foi da área 3 de cultivo de morango (pH = 6,13).

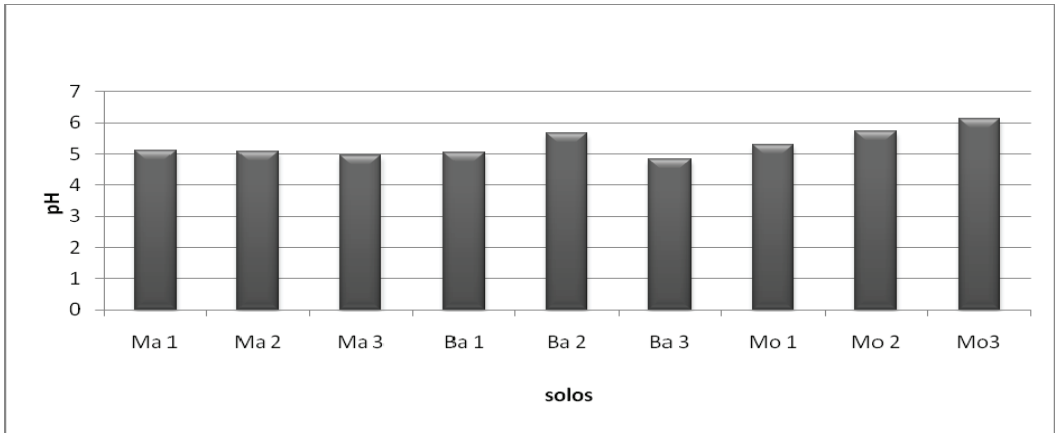

Figura 19. Valores de pH obtidos em cada parcela de área selecionada em Bom Repouso (MG)

O pH é um dos parâmetros mais importantes dos solos, pois têm influência direta sobre as minhocas. Todas as características químicas e físicas do solo habitado pelas minhocas devem estar ideais ao seu desenvolvimento, pois são organismos extremamente sensíveis a essas características do meio. Os valores de pH ideais para realização dos testes é 6,0 ± 0,5 de acordo com o protocolo OECD nº. 207 (1984), protocolo OECD nº. 222 (2004), norma ISO 11268-1 (1993), norma ISO 11268-2 (1998) e ISO 17512-1 (2007). Assim, a princípio, os valores de pH obtidos nas parcelas indicariam solos inadequados para a realização dos testes, com exceção da área de morango 2, área de morango 3 e de batata 2,

No entanto, optou-se por não fazer o ajuste do pH dos solos coletados porque a alteração do pH poderia provocar várias transformações químicas neste solo, influenciando nos resultados desejados da pesquisa, que pretende avaliar a ecotoxicidade desses solos. Portanto, os solos coletados foram utilizados para os testes sem alteração dos valores de pH.

Mesmo assim, pode-se dizer que o solo da área de cultivo de batata 2 e os solos das áreas de cultivo de morango 2 e 3 são os que possuem os valores de pH dentro da faixa indicada como ideal pelas normas internacionais.

4.1.4 Matéria orgânica

Os dados obtidos na análise da matéria orgânica dos solos estão apresentados na Figura 20, verificando-se que os solos das áreas de mata possuem a maior porcentagem de matéria orgânica (valor médio de 20,21%, 14,60% e 13,60%, respectivamente para mata, batata e morango). Os solos das áreas de mata 2 (19,78%) e 3 (23,18%) possuem mais matéria orgânica do que todos os outros, o que pode ter tido influência sobre a capacidade de retenção, conforme mencionado anteriormente. Nos solos de batata e morango os valores de matéria orgânica estiveram compreendidos entre 11,74% (batata 1) e 17,42% (batata 2) e entre 12,03% (morango 2) e 15,62% (morango 1), respectivamente.

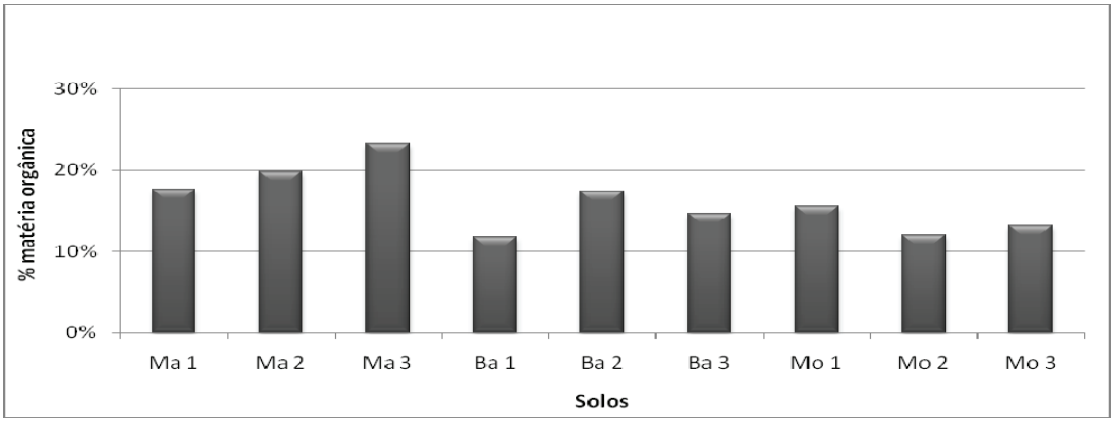

Figura 20. Porcentagem de matéria orgânica de cada solo amostrado em Bom Repouso, MG.

4.1.5 Fósforo total

Os valores de fósforo total obtidos em cada área selecionada estão apresentados na Figura 21. As maiores concentrações corresponderam à área de plantio de batata (de 0,27 a 0,59 µg/g, com valor médio de 0,44 µg/g) e posteriormente pelas áreas de plantio de morango (de 0,11 a 0,39 µg/g, com valor médio de 0,28 µg/g). Nas áreas de mata a variação foi menor entre elas (de 0,22 a 0,27 µg/g), com valor médio de 0,24 µg/g.

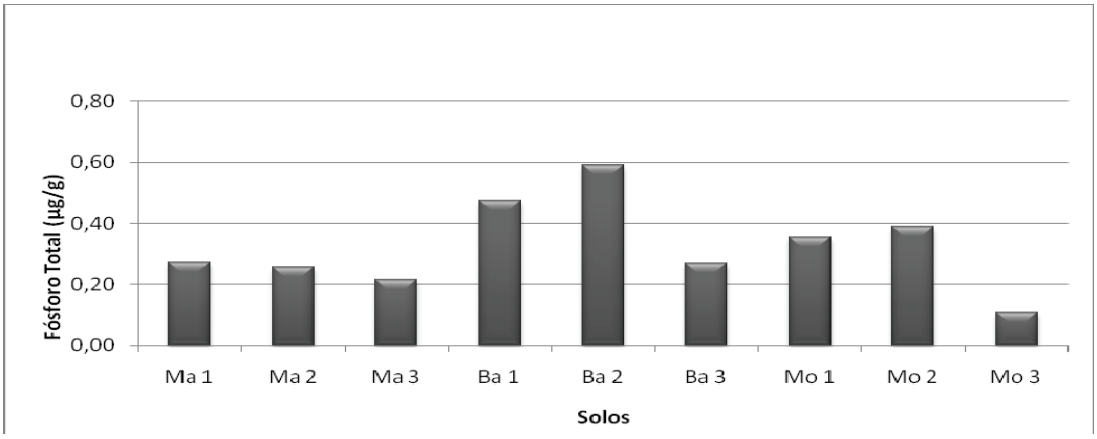

Figura 21. Valores de Fósforo Total para cada solo coletado em Bom Repouso, MG.

4.1.6 Nitrogênio orgânico total

Na Figura 22 estão apresentados os valores para nitrogênio total, obtidos nas parcelas de solo de mata, batata e morango. Pelos resultados verificam-se valores diferentes entre cada área selecionada e entre as diferentes parcelas de uma mesma área. No caso da área de mata, por exemplo, a variação foi de 1,47 a 4,44% de nitrogênio, com valor médio de 3,37%, enquanto que na área de plantio de batata a variação foi de 1 a 2,68% (com valor médio de 1,92%) e na de morango foi de 1 a 2,89% (valor médio de 1,63%). Diferentemente ao observado para fósforo total, o maior valor de nitrogênio foi obtido, em média, na área de mata, sendo menor na área de plantio de morango.

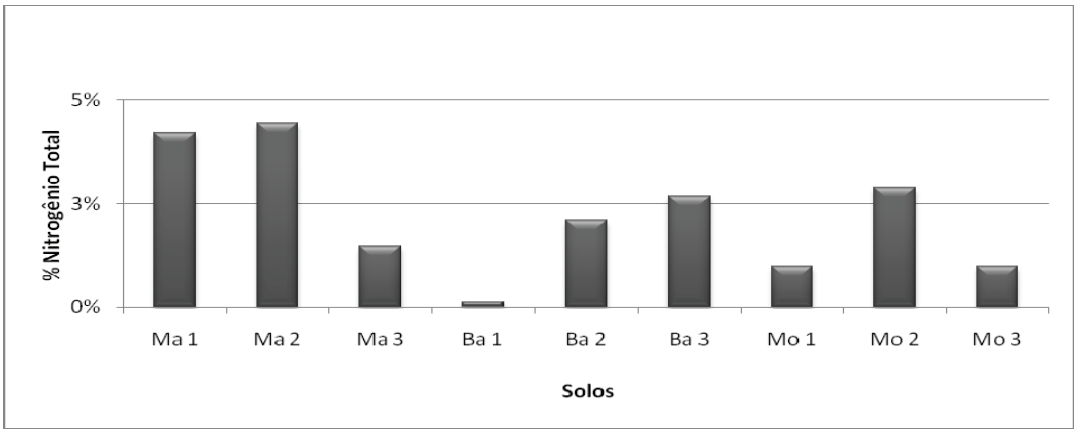

Figura 22. Porcentagem de Nitrogênio Orgânico Total para cada solo coletado em Bom Repouso, MG.

4.1.7 Granulometria

Os resultados obtidos na análise granulométrica estão apresentados na Figura 23, verificando-se que, em geral, os solos da região possuem maiores porcentagens de areia. A porcentagem de argila é bem pequena em todos os solos, sendo que alguns possuem um pouco mais de silte e outros menos, mas apesar dessas diferenças, não há grandes variações entre os solos quanto à granulometria.

Os solos da área de mata 2 e da área de cultivo de morango 1 possuem as menores porcentagens de argila e os solos de área de cultivo de batata 2 e área de cultivo de morango 1 possuem as maiores porcentagens de silte.

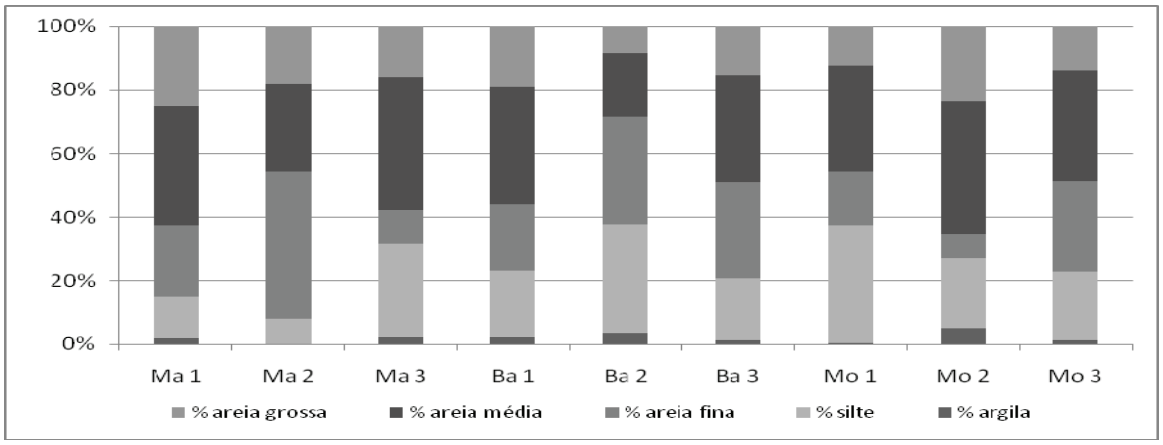

Figura 23. Granulometria de cada solo coletado em Bom Repouso, MG, nas diferentes áreas de estudo.

De acordo com Braga et al (2005) a classificação granulométrica mais conhecida e internacionalmente aceita estabelece frações para os componentes do solo de acordo com seu tamanho. As frações são chamadas de pedra, cascalho, areia e silte. Raramente um solo ou um horizonte é constituído por uma só dessas frações, mas sim de uma combinação com diferentes proporções. Os autores apresentam um diagrama triangular para facilitar a identificação dos solos. De acordo com esse diagrama, o solo pode ser classificado como argiloso quando possuir mais que 35% de argila; como arenoso quando

possuir mais que 65% de areia e menos que 15% de argila; e siltoso quando possui mais que 60% de silte e menos que 20% de argila. Quando o solo não se enquadrar em nenhum desses critérios anteriores, ele é classificado como barrento, tendo, portanto, uma composição mais equilibrada. De acordo com esses critérios, os solos coletadas para esta pesquisa podem ser classificados como arenoso ou barrento (Tabela 5).

Tabela 5. Classificação granulométrica dos solos coletados em Bom Repouso/MG.

Solo	Classificação granulométrica
Mata 1	arenoso
Mata 2	arenoso
Mata 3	barrento
Batata 1	barrento
Batata 2	barrento
Batata 3	arenoso
Morango 1	barrento
Morango 2	barrento
Morango 3	barrento

4.1.8 Metais

Os resultados obtidos nas análises de cobre, cromo, cádmio, ferro, alumínio, chumbo, níquel, cobalto, manganês e zinco estão apresentados na Tabela 6. Na presente análise, buscou-se avaliar a concentrações dos metais do solo em função da legislação vigente (CONAMA 420/2009).

A resolução CONAMA 420/2009 dispõe sobre critérios e valores orientadores de qualidade do solo quanto à presença de substâncias químicas, estabelecendo valores orientadores de prevenção e de investigação. O primeiro corresponde à concentração de valor limite de determinada substância no solo, tal que ele seja capaz de sustentar as suas funções principais. O segundo corresponde à concentração de determinada substância no solo acima da qual existem riscos potenciais, diretos ou indiretos, à saúde humana, considerando um cenário de exposição.

Essa mesma resolução determina que os Estados são responsáveis por definir valores de referência de qualidade, concentração de determinada substância que define a qualidade natural do solo, sendo determinado com base em interpretação estatística de análises físico-químicas de amostras de diversos tipo de solo. Isso ocorre pelo fato de que os solos de diferentes locais poderão ter características físico-químicas muito diferentes de uma região para outra do país. O Estado de Minas Gerais ainda não possui esses valores estabelecidos em legislação, sendo assim, os valores determinados por Decisão de Diretoria da Companhia Ambiental de São Paulo (CETESB) nº. 195 de 2005 foram utilizados como referência nesta pesquisa.

Tabela 6. Valores de concentração de metais em cada amostra de solo coletada no município de Bom Repouso/MG.

Áreas de coleta	**Concentração de metais (mg/kg)**									
	Cu	**Cr**	**Cd**	**Fe**	**Al**	**Pb**	**Ni**	**Co**	**Mn**	**Zn**
Mata 1	ND	ND	ND	48,40	1792,08	0,88	ND	ND	43,15	3,37
Mata 2	ND	ND	ND	75,55	2382,33	ND	ND	ND	31,58	2,40
Mata 3	ND	ND	ND	108,78	3386,05	0,45	0,03	ND	27,68	1,64
Batata 1	ND	0,33	0,28	200,58	662,85	ND	0,40	ND	20,43	3,70
Batata 2	1,00	0,18	0,13	135,93	535,45	ND	0,95	ND	24,78	4,98
Batata 3	ND	0,45	ND	137,43	917,35	ND	1,23	ND	42,53	3,02
Morango 1	ND	ND	ND	284,28	1260,80	ND	1,03	ND	20,23	5,33
Morango 2	ND	ND	ND	348,60	550,98	0,70	ND	ND	11,93	4,08
Morango 3	ND	0,48	ND	227,38	589,93	ND	ND	ND	11,53	2,89
Valor de Referência de Qualidade[1]	35	40	<0,5	não há	não há	17	13	13	não há	60
Valor de Prevenção[2]	60,00	75,00	1,30	não há	não há	72,00	30,00	25,00	não há	300,00
Valor de Investigação[2] (Agrícola)	200,00	150,00	3,00	não há	não há	180,00	70,00	35,00	não há	450,00

[1] CETESB 2005; [2] CONAMA 420/2009

.

Para todos os metais analisados, em nenhuma das amostras de solo as concentrações ultrapassaram o valor de investigação e o de prevenção, estabelecidos na resolução CONAMA 420/2009, assim como também não ultrapassaram os valores de referência de qualidade estabelecidos pela CETESB (2005). Uma observação importante de se fazer é que foram encontradas concentrações elevadas de ferro e alumínio em todas

as amostras de solo, porém, não estão estabelecidos valores de prevenção e investigação para estes metais, o que não permite que se faça uma comparação entre valores orientadores e os valores obtidos na pesquisa.

No caso do ferro sua concentração variou de 48,4 mg/kg (área de mata 1) a 348,60 mg/kg (área de morango 2). Os valores mais baixos de concentração de ferro são os das áreas de mata (com valor médio de 77,57 mg/kg), seguidos da área de cultivo de batata (com valor médio de 157,97 mg/kg), sendo os de área de cultivo de morango os que possuem as maiores concentrações de ferro (com valor médio de 286,75 mg/kg).

Para o alumínio, as concentrações variaram de 535,45 mg/kg (área de batata 2) a 3386,05 mg/kg (área de mata 3), com valores médios de 705,22 mg/kg das áreas de cultivo de batata, 800,57 mg/kg das áreas de cultivo de morango e valor médio de 2520,15 mg/kg das áreas de mata, locais onde se verificou as maiores concentrações desse metal.

4.1.9 Agrotóxicos

Os resultados das análises de concentração de agrotóxicos nas amostras de solo coletadas estão apresentados nas Tabelas 7 e 8.

Tabela 7. Concentração de agrotóxicos nas amostras de solo coletadas.

Parâmetros (Pesticidas) ($\mu g/kg^{-1}$)	Controle $\mu g/kg^{-1}$	Área 1 Morango	Área 2 Morango	Área 3 morango	Área 1 batata	Área 2 batata	Área 3 batata	Área 1 mata	Área 2 mata	Área 3 mata	Valor de Prevenção (mg/kg) [1]	Valor de Investigação (solo agrícola) (mg/kg) [2]
alfa-BHC	< 0,001	< 0,001	< 0,001	< 0,001	< 0,001	< 0,001	< 0,001	< 0,001	< 0,001	< 0,001	não há	não há
Heptacloro	< 0,001	< 0,001	< 0,001	< 0,001	< 0,001	< 0,001	< 0,001	< 0,001	< 0,001	< 0,001	não há	não há
otGama-BHC	< 0,001	< 0,001	< 0,001	< 0,001	< 0,001	< 0,001	< 0,001	< 0,001	< 0,001	< 0,001	**0,001**	**0,02**
Aldrin	< 0,001	< 0,001	< 0,001	< 0,001	< 0,001	< 0,001	< 0,001	< 0,001	< 0,001	< 0,001	**0,0015**	**0,003**
Metolacloro	< 0,001	< 0,001	**0,0116**	< 0,001	< 0,001	< 0,001	< 0,001	< 0,001	< 0,001	< 0,001	não há	não há
Beta- Endosulfan	< 0,001	< 0,001	< 0,001	< 0,001	< 0,001	< 0,001	< 0,001	< 0,001	< 0,001	< 0,001	não há	não há
Heptacloro Epoxide	< 0,001	< 0,001	< 0,001	< 0,001	< 0,001	< 0,001	< 0,001	< 0,001	< 0,001	< 0,001	não há	não há
Alfa-Endosulfan	< 0,001	< 0,001	< 0,001	< 0,001	< 0,001	< 0,001	< 0,001	< 0,001	< 0,001	< 0,001	não há	não há
Clordano	< 0,001	< 0,001	< 0,001	< 0,001	< 0,001	< 0,001	< 0,001	< 0,001	< 0,001	< 0,001	não há	não há
Dieldrin	< 0,001	< 0,001	< 0,001	< 0,001	< 0,001	< 0,001	< 0,001	< 0,001	< 0,001	< 0,001	**0,043**	**0,2**
Endrin	< 0,001	< 0,001	< 0,001	< 0,001	< 0,001	< 0,001	< 0,001	< 0,001	< 0,001	< 0,001	**0,001**	**0,4**
4,4-DDT	< 0,001	< 0,001	< 0,001	< 0,001	< 0,001	< 0,001	< 0,001	< 0,001	< 0,001	< 0,001	**0,01**	**0,55**
Metoxicloro	< 0,001	< 0,001	< 0,001	< 0,001	< 0,001	< 0,001	< 0,001	< 0,001	< 0,001	< 0,001	não há	não há

[1,2] Valores estabelecidos pela CONAMA 420 de 2009

Tabela 8. Concentração dos agrotóxicos Abamectina e Carbofuran nas amostras de solo coletadas.

Parâmetros (Pesticidas) ($\mu g/Kg^{-1}$)	Limite Detecção $\mu g/kg^{-1}$	Controle $\mu g/kg^{-1}$	Limite Quant. $\mu g/kg^{-1}$	MORANGO			BATATA			MATA		
				Área 1	Área 2	Área 3	Área 1	Área 2	Área 3	Área 1	Área 2	Área 3
Abamectina	0,001	< 0,001	83	< 0,001	< 0,001	**0,009**	< 0,001	< 0,001	< 0,001	**0,011**	**0,087**	**0,008**
Carbofuran	0,001	< 0,001	91	**0,013**	< 0,001	< 0,001	**0,012**	< 0,001	< 0,001	**0,021**	< 0,001	< 0,001

Para a maior parte dos agrotóxicos analisados não foram encontradas concentrações acima de 0,001 mg/kg, que é o limite mínimo detectável, sendo assim, existe grande possibilidade de que esses compostos não estejam presentes ou estejam em concentrações muito baixas. Entre os agrotóxicos mais comumente analisados apenas foi detectada a presença de metolacloro na área 2 de cultivo de morango, com concentração de 0,0116 mg/kg.

Na análise de princípios ativos de produtos comerciais utilizados no município, nas três áreas de mata foram verificadas concentrações de Abamectina (0,011 mg/kg, 0,087 mg/kg e 0,008 mg/kg nas áreas 1, 2 e 3 respectivamente), sendo que em relação às áreas de cultivo isso ocorreu apenas na área de morango 3 (concentração de 0,009 mg/kg). A Abamectina é o princípio ativo do Agrotóxico Vertimec, o qual foi o agrotóxico mais citado como utilizado pelos agricultores em entrevista realizada no ano de 2005 no município de Bom Repouso (LIMA, 2006).

Com relação ao Carbofuran, sua presença foi verificada nas amostras de solo da área de mata 1 (0,013 mg/kg), área de batata 1 (0,012 mg/kg) e área de morango 1 (0,021 mg/kg).

Apesar de terem sido verificadas concentrações de Abamectina e Carbofuran em algumas amostras de solo coletadas em Bom Repouso, isso não ocorreu para todas elas. Deve ser ressaltado que em algumas não foi verificada presença de nenhuma dessas substâncias, como na área de batata 2, área de batata 3 e área de morango 2, ou seja, exatamente em áreas de cultivo, ao mesmo tempo em que para todas as áreas de mata foi verificada alguma concentração de agrotóxico, ou apenas de abamectina ou de abamectina e carbofuran juntamente.

A Resolução CONAMA 420/2009, que dispõe sobre o gerenciamento de áreas contaminadas, não estabelece limites de concentração para esses dois agrotóxicos, assim

como também não há em legislação estadual valores orientadores ou valores de referência de qualidade especificamente para estes dois produtos.

4.2 Testes de toxicidade

4.2.1 Resultados do teste de toxicidade aguda

Para avaliação ecotoxicológica das amostras de solo quanto a sua toxicidade aguda, foi avaliada a mortalidade dos indivíduos. Como o tempo para realização do teste agudo permitia outras avaliações, os indivíduos foram pesados antes do teste, após 7 dias e após 14 dias do início do teste, pois se efeitos agudos não fossem verificados talvez aparecessem efeitos crônicos. Os resultados estão apresentados nas Figuras 24 e 25.

Ressalta-se que, conforme mencionado anteriormente, para a realização dos testes de toxicidade a umidade da área de mata 2 foi ajustada a 70% de sua capacidade de retenção, e por isso foi nomeada **Ma 2 (70),** e para a amostra da área de mata 3 a umidade foi ajustada a 90% de sua capacidade de retenção, sendo nomeada **Ma 3 (90)**.

Foram realizados testes com as amostras das áreas de mata 2 e 3 sem adição de água, conforme sugestão detalhada no item Materiais e Métodos. Para as duas amostras, houve mortalidade de 12,5% dos indivíduos, enquanto que para as amostras de solo das áreas de mata 2 e 3 em que foi adicionada água, os resultados foram semelhantes às outras amostras do teste. Com isso pode-se concluir que a mortalidade dessas duas amostras foi devido à falta de umidade dos solos, já que esses organismos possuem sensibilidade muito grande à umidade, e não devido a algum agente tóxico presente nas amostras. Sendo assim, os resultados dos testes realizados com solo da área de mata 2 e 3 sem adição de água não foram considerados.

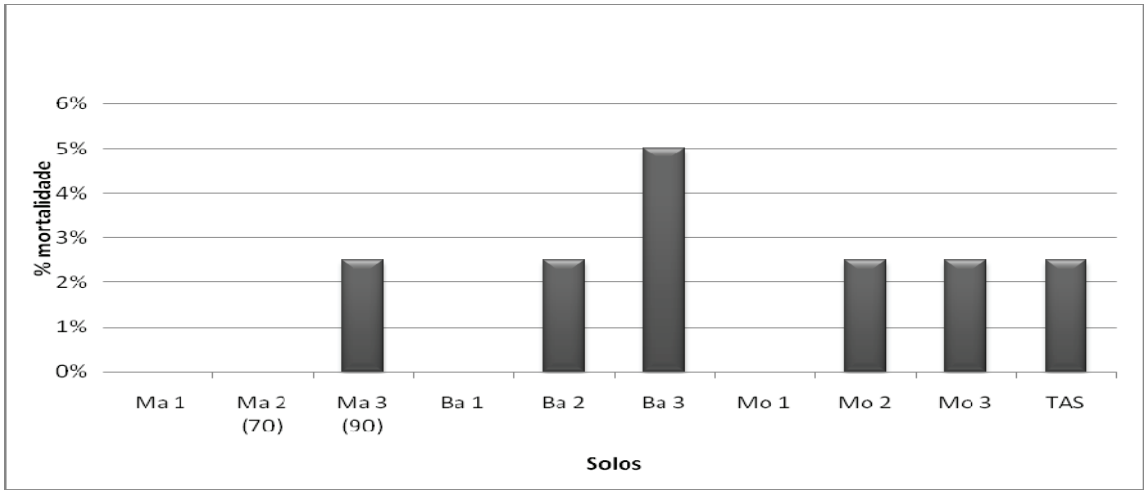

Figura 24. Porcentagem de mortalidade dos organismos-teste ao final do Teste de Toxicidade Aguda para cada amostra de solo coletada em Bom Repouso/MG.

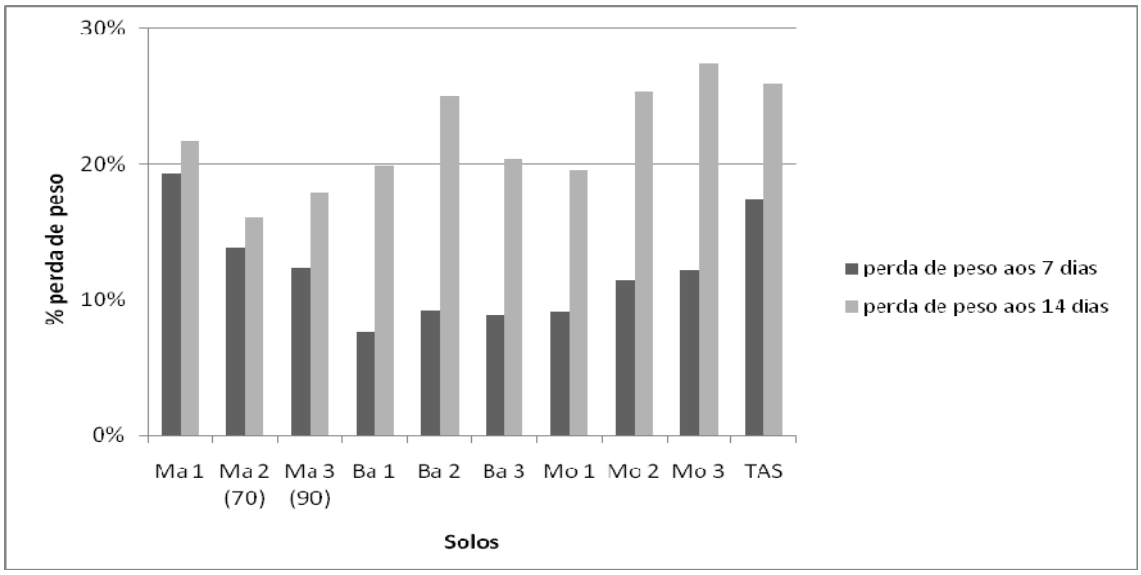

Figura 25. Porcentagem de perda de peso dos organismos no Teste de Toxicidade Aguda ao 7º. e 14º. dia de teste para cada amostra de solo coletada em Bom Repouso/MG.

As amostras da área de mata 3 (90), área de batata 2, área de morango 2, área de morango 3 e TAS (solo artificial), apresentaram 2,5% de mortalidade, e a área de batata 3 apresentou 5%, o que não caracteriza toxicidade aguda dessas amostras, já que as normas padronizadas utilizadas na pesquisa admitem mortalidade de até 10% dos organismos do teste controle, que no caso era o teste com TAS. As amostras da área de mata 1, área de mata 2 (70), área de batata 1 e área de morango 1 não apresentaram

mortalidade. Em razão desses resultados não houve necessidade de realização de análise estatística, já que em nenhuma das amostras houve mortalidade maior que 10%.

Em relação ao peso dos organismos após 7 dias houve perda média de 15,71%, 8,59% e 10,92% para as áreas de mata, batata e morango, respectivamente. No TAS a perda de peso foi de 17,46%. Após 14 dias, foram verificados os seguintes valores médios: 18,54% para mata, 21,76% para batata, 24,06% para morango e 25,86% para TAS. Verifica-se que a perda de peso, após 7 dias, é maior na área de mata e no TAS, sendo que após 14 dias os maiores valores foram obtidos nas áreas de plantio de batata e morango, bem como no TAS, embora as diferenças não sejam tão acentuadas entre todos os tratamentos em comparação aos valores obtidos após 7 dias. A perda de peso verificada em todos os tratamentos pode ter ocorrido em função da redução da matéria orgânica existente nos testes de toxicidade em relação ao substrato de cultivo dos organismos.

Na análise de variância aplicada para os dados de perda de peso ao 14º dia, referente ao teste de toxicidade aguda, verificou-se ausência de diferença estatística significativa ($p>0,05$), conforme apresentado na Tabela 9 e também na análise de Tukey, conforme apresentado na Tabela 10. Ao comparar os resultados do controle (TAS) com os dados dos tratamentos (Tabela 11), também não foi verificada diferença significativa.

Tabela 9 – Análise de variância para os dados de perda de peso no teste de toxicidade aguda, comparando os resultados entre os tratamentos

ANOVA TABLE

SOURCE	DF	SS	MS	F
Between	9	505.783	56.198	1.809
Within (Error)	30	931.910	31.064	
Total	39	1437.693		

Critical F value = 2.21 (0.05,9,30)
Since F < Critical F FAIL TO REJECT Ho:All groups equal

Tabela 10 – Teste de Tukey de comparação múltipla entre os tratamentos quanto a perda de peso aos 14 dias do teste de toxicidade aguda

GROUP	IDENTIFICATION	TRANSFORMED MEAN	ORIGINAL MEAN	GROUP 0000000001 3485726910
Ma 2	16.98	16.145	16.145	\
Ma 3	25.49	18.068	18.068	. \
Mo 1	22.00	19.475	19.475	. . \
Ba 1	22.41	19.993	19.993	. . . \
Ba 3	27.59	20.203	20.203	. . . . \
Ma 1	23.21	21.558	21.558	. . . . . \
Ba 2	24.07	25.113	25.113	. . . . . \
Mo 2	27.27	25.370	25.370	. . . . . \
TAS	34.48	25.885	25.885	. . . . . \
Mo 3	38.60	27.180	27.180	. . . . . \

* = significant difference (p=0.05) . = no significant difference
Tukey value (10,30) = 4.82 s = 31.064

Tabela 11 – Teste de Dunnet de comparação do controle com os tratamentos quanto a perda de peso aos 14 dias do teste de toxicidade aguda

DUNNETTS TEST - TABLE 1 OF 2 Ho:Control<Treatment

GROUP	IDENTIFICATION	TRANSFORMED MEAN	MEAN CALCULATED IN ORIGINAL UNITS	T STAT	SIG
TAS	34.48	25.885	25.885		
Ma 1	23.21	21.558	21.558	1.098	
Ma 2	16.98	16.145	16.145	2.471	
Ma 3	25.49	18.068	18.068	1.984	
Ba 1	22.41	19.993	19.993	1.495	
Ba 2	24.07	25.113	25.113	0.196	
Ba 3	27.59	20.203	20.203	1.442	
Mo 1	22.00	19.475	19.475	1.626	
Mo 2	27.27	25.370	25.370	0.131	
Mo 3	38.6	27.180	27.180	-0.329	

Dunnett table value = 2.54 (1 Tailed Value, P=0.05, df=30,9)

DUNNETTS TEST - TABLE 2 OF 2 Ho:Control<Treatment

GROUP	IDENTIFICATION	NUM OF REPS	Minimum Sig Diff (IN ORIG. UNITS)	% of CONTROL	DIFFERENCE FROM CONTROL
TAS	34.48	4			
Ma 1	23.21	4	10.010	38.7	4.327
Ma 2	16.98	4	10.010	38.7	9.740
Ma 3	25.49	4	10.010	38.7	7.818
Ba 1	22.41	4	10.010	38.7	5.892
Ba 2	24.07	4	10.010	38.7	0.772
Ba 3	27.59	4	10.010	38.7	5.682
Mo 1	22.00	4	10.010	38.7	6.410
Mo 2	27.27	4	10.010	38.7	0.515
Mo 3	38.60	4	10.010	38.7	-1.295

4.2.2 Resultados do teste de evitamento

Os resultados do teste de evitamento estão apresentados na Tabela 12 e Tabela 13. Na Tabela 12 os resultados apresentados foram obtidos realizando-se análise estatística baseada no Teste Exato de Fisher e na Tabela 13 estão expressos os resultados encontrados utilizando-se para o cálculo do evitamento a fórmula apresentada anteriormente (ISO, 2007), conforme descrito no item 3.8.8.

Tabela 12. Resultados do Teste de Evitamento segundo análise com Teste Exato de Fisher

Resultados (13/08/08)	**nº. de indivíduos**		**Teste Exato de Fisher**	***Avoidance***
Área	**lado do solo de Mata**	**lado do Solo teste**	**p**	
TAS/TAS	24	16	0,1052	não houve
Mata 1/Mata 1	18	22	1	não houve
Mata 1/Batata 1	32	8	0,0064	**houve**
Mata 1/Batata2	30	10	0,0112	**houve**
Mata 1/Batata 3	22	18	0,2918	não houve
Mata 1/Morango 1	20	20	1	não houve
Mata 1/Morango 2	35	5	0,0031	**houve**
Mata 1/Morango 3	34	6	0,0039	**houve**

Tabela 13. Resultados do Teste de Evitamento segundo fórmula de cálculo ISO (2007)

Resultados (13/08/08)	**nº. de indíviduos**		**Cálculo ISO (2007) % avoidance**	***Avoidance***
Área	**lado do solo de Mata**	**lado do Solo teste**		
TAS/TAS	24	16	20	**houve**
Mata 1/Mata 1	18	22	-10	não houve
Mata 1/Batata 1	32	8	60	**houve**
Mata 1/Batata2	30	10	50	**houve**
Mata 1/Batata 3	22	18	10	**houve**
Mata 1/Morango 1	20	20	0	não houve
Mata 1/Morango 2	35	5	75	**houve**
Mata 1/Morango 3	34	6	70	**houve**

Comparando-se os resultados obtidos em cada um dos cálculos verifica-se que são compatíveis, pois a conclusão sobre a existência ou não de evitamento foi a mesma

para a maioria das combinações testadas. As únicas divergências verificadas são para o teste controle com TAS e para a combinação mata 1/batata 3.

No caso do TAS, o cálculo com o Teste Exato de Fisher indica que não houve evitamento de um dos lados do recipiente enquanto o cálculo utilizando-se a fórmula indica 20% de evitamento. Na realidade, este resultado não significa uma divergência, mas sim uma distribuição homogênea, conforme explicado a seguir. Nesse caso, como o solo no recipiente era apenas um, já que ele era o controle do teste, o esperado seria uma distribuição homogênea pelo recipiente. No entanto, não é sempre que os organismos irão se distribuir exatamente de forma totalmente homogênea por todo o recipiente, pois em qualquer sistema natural os organismos podem se distribuir de forma agregada, aleatória ou uniforme (ODUM, 1983)

Conforme descrito em item específico, um dos critérios de validação do teste de evitamento, de acordo com a ISO 17512-1 (2007), é que o teste controle deve apresentar um resultado de forma que o número de minhocas deve estar na faixa de 40% a 60% para ambos os lados do recipiente, o que corresponde a uma porcentagem de evitamento aceitável de -20% ou 20% para os recipientes controles. Um resultado não satisfatório seria se a grande maioria dos organismos fosse encontrada em apenas um lado no recipiente controle. Como 20% não representa grande evitamento de um dos lados, conforme estabelecido na norma ISO utilizada como referência, entende-se que esse valor é compatível com a análise obtida através do teste Exato de Fisher e conclui-se que o controle com TAS se apresentou de forma aceitável, sem maior densidade de organismos em nenhum lado específico do recipiente.

Essa mesma questão se aplica ao recipiente que tinha em um dos lados solo da área de mata 1 e no outro solo da área de batata 3. O cálculo com o Teste Exato de Fisher indica que não houve evitamento do solo da área de batata 3, enquanto o cálculo

utilizando-se a fórmula indica 10% de evitamento deste solo. O valor de 10% pode ser considerado como um valor muito baixo e que não indica evitamento, já que, conforme discutido anteriormente, para os recipientes controle uma taxa de 20% não é considerada como evitamento. Somando-se isso ao resultado do Teste Exato de Fisher, que também não indica evitamento, conclui-se que o solo da área de batata 3 não foi evitado pelos organismos teste.

Para o outro teste utilizado como controle, o que possuía apenas solo da área de mata 1, o resultado mostrou-se compatível com o esperado: os organismos se distribuíram de forma relativamente homogênea pelo recipiente. O cálculo do evitamento utilizando-se a fórmula indica que houve uma concentração de organismos levemente maior em um dos lados em relação ao outro, conforme valor de evitamento obtido (-10%), mas esse valor não indica maior densidade dos organismos em apenas um dos lados do recipiente, já que a taxa de evitamento obtida se encontra dentro dos 20% definidos pela norma ISO citada, da mesma forma que ocorreu nos dois casos citados anteriormente. Ressalta-se que o valor negativo indica apenas que menos de 50% dos organismos se encontravam no lado analisado do recipiente.

Quanto aos outros solos testados, a análise estatística mostrou que houve diferença significativa na distribuição dos organismos nos recipientes, sendo que os organismos evitaram os solos das áreas de cultivos e fugiram para o solo da área de mata, conforme verificado nos resultados apresentados nas Tabelas 9 e 10 para os recipientes que continham solo da área de batata 1, área de batata 2, área de morango 2 e área de morango 3. Nos testes com solo da área de morango 1 não houve evitamento de nenhum dos solos, sendo que os organismos se distribuíram de forma bastante homogênea pelo recipiente.

O princípio do teste de evitamento considera que as minhocas, por possuírem quimio-receptores, são capazes de detectar a presença de substâncias tóxicas, evitando permanecer no solo que as contém. Sendo assim, analisando apenas as informações deste teste, pode-se dizer que os organismos teste, de forma geral, se distribuíram de forma relativamente homogênea nos recipientes controles e evitaram os solos das áreas de cultivo, o que poderia significar que algo nesses solos provoca alguma reação ou algum desconforto aos organismos.

Em síntese, após verificar que os recipientes que continham apenas TAS ou apenas solo da área de mata 1 tiveram uma distribuição considerada homogênea pelos recipientes, validando o teste, os resultados finais dos testes de evitamento podem ser sumarizados conforme descritos na Tabela 14.

Tabela 14. Resumo dos resultados do Teste de Evitamento

Solos	Resultado	% avoidance
Mata 1/Batata 1	**evitamento**	60,00%
Mata 1/Batata2	**evitamento**	50,00%
Mata 1/Batata 3	distribuição homogênea	10,00%
Mata 1/Morango 1	distribuição homogênea	0,00%
Mata 1/Morango 2	**evitamento**	75,00%
Mata 1/Morango 3	**evitamento**	70,00%

4.2.3 Resultados do teste de toxicidade crônica

Conforme descrito no item Materiais e Métodos, nos testes de toxicidade crônica foram avaliadas a reprodução e a perda de peso dos organismos-teste. Os resultados estão apresentados nas figuras 26 e 27.

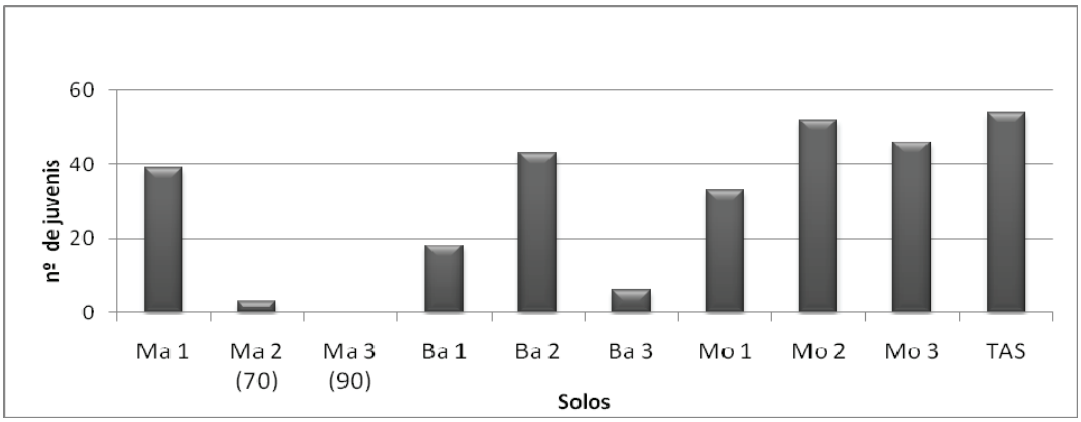

Figura 26. Número de juvenis nascidos durante o Teste de Toxicidade Crônica para cada um dos solos coletados em Bom Repouso/MG.

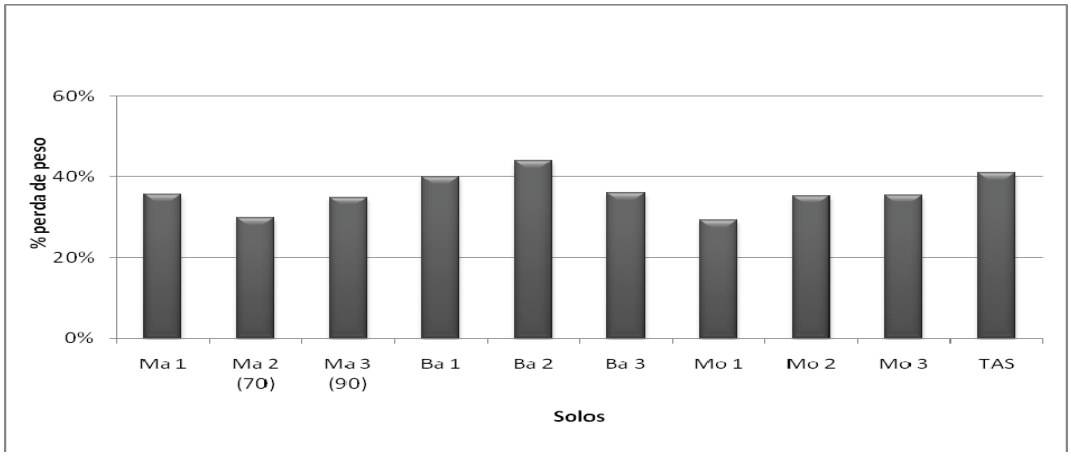

Figura 27. Porcentagem de perda de peso dos indíviduos ao 28º. dia do início do Teste de Toxicidade Crônica para cada amostra de solo de Bom Repouso/MG.

Da mesma forma que foi feito para o teste de toxicidade aguda, foi realizado o teste de toxicidade crônica com amostras de solo das áreas de mata 2 e 3 sem adição de água. A maioria dos organismos dos testes morreu, o que provavelmente ocorreu em função da baixa umidade dos solos, já que esses organismos foram encontrados ressecados. Por esse motivo não foram apresentados os resultados dos testes de reprodução para essas duas amostras, pois para o teste de reprodução ser considerado válido não pode haver mortalidade superior a 20% dos organismos teste, segundo as normas padronizadas utilizadas como referência nesta pesquisa.

Para as outras amostras de solos testadas, houve perda de peso em todas elas, que variou nos solos de mata de 29,82% a 35,81% (área de mata 2(70) e mata 1, respectivamente), nos solos de cultivo de batata de 40,04% a 44,07% (área de cultivo de

batata 1 e 2, respectivamente) e nos solos de cultivo de morango de 29,29% a 35,56% (área de cultivo de morango 1 e 3, respectivamente). A perda de peso dos organismos no solo artificial correspondeu a 40,91%, uma perda de peso que pode ser considerada elevada.

Uma Análise de Variância aplicada para os dados de toxicidade crônica possibilitaram avaliar se a porcentagem da perda de peso dos indivíduos de *Eisenia andrei* (Tabela 15) apresentava diferença significativa entre os tratamentos (Tabela 16) e de cada tratamento com o grupo controle (Tabela 17). A Análise de Variância que comparou todos os tratamentos (Tabela 15) indicou não haver diferença estatística significativa ($p>0,05$) entre os resultados dos tratamentos (Tabela 16). Ao comparar os resultados do controle (TAS) com os dados dos tratamentos (Tabela 17), também não foi verificada diferença estatística significativa ($p\leq0,05$).

Tabela 15 – Análise de variância para os dados de toxicidade crônica, para comparação da perda de peso resultante nos organismos de *Eisenia andrei* após 28 dias transcorridos.

ANOVA TABLE

SOURCE	DF	SS	MS	F
Between	9	786.274	87.364	1.888
Within (Error)	30	1388.237	46.275	
Total	39	2174.511		

Critical F value = 2.21 (0.05,9,30)
Since F < Critical F FAIL TO REJECT Ho:All groups equal

Tabela 16 – Teste de Tukey de comparação múltipla entre os tratamentos quanto à perda de peso após 28 dias de teste de toxicidade crônica

GROUP	IDENTIFICATION	TRANSFORMED MEAN	ORIGINAL MEAN	GROUP 0 0 0 0 1 0 0 0 0 0 8 3 9 4 0 2 7 5 1 6
Mo 1	36.80	29.370	29.370	\
Ma 2	28.30	29.758	29.758	. \
Mo 2	33.09	35.220	35.220	. . \
Ma 3	40.59	35.248	35.248	. . . \
Mo 3	41.93	35.385	35.385	. . . . \
Ma 1	38.57	35.820	35.820	. . . . . \
Ba 3	42.59	35.978	35.978	. . . . . \
Ba 1	39.31	40.057	40.057	. . . . . \
TAS	52.93	40.918	40.918	. . . . . \
Ba 2	38.15	44.480	44.480	. . . . . \

* = significant difference (p=0.05) . = no significant difference
Tukey value (10,30) = 4.82 s = 46.275

Tabela 17 – Teste de Dunnet de comparação do controle com os tratamentos quanto à perda de peso após 28 dias de teste de toxicidade crônica

DUNNETTS TEST - TABLE 1 OF 2 Ho:Control<Treatment

GROUP	IDENTIFICATION	TRANSFORMED MEAN	MEAN CALCULATED IN ORIGINAL UNITS	T STAT SIG
TAS	52.93	40.918	40.918	
Ma 1	38.57	35.820	35.820	1.060
Ma 2	28.30	29.758	29.758	2.320
Ma 3	40.59	35.248	35.248	1.179
Ba 1	39.31	40.057	40.057	0.179
Ba 2	38.15	44.480	44.480	-0.741
Ba 3	42.59	35.978	35.978	1.027
Mo 1	36.80	29.370	29.370	2.401
Mo 2	33.09	35.220	35.220	1.184
Mo 3	41.93	35.385	35.385	1.150

Dunnett table value = 2.54 (1 Tailed Value, P=0.05, df=30,9)

DUNNETTS TEST - TABLE 2 OF 2 Ho:Control<Treatment

GROUP	IDENTIFICATION	NUM OF REPS	Minimum Sig Diff (IN ORIG. UNITS)	% of CONTROL	DIFFERENCE FROM CONTROL
TAS	52.93	4			
Ma 1	38.57	4	12.218	29.9	5.098
Ma 2	28.30	4	12.218	29.9	11.160
Ma 3	40.59	4	12.218	29.9	5.670
Ba 1	39.31	4	12.218	29.9	0.860
Ba 2	38.15	4	12.218	29.9	-3.563
Ba 3	42.59	4	12.218	29.9	4.940
Mo 1	36.80	4	12.218	29.9	11.548
Mo 2	33.09	4	12.218	29.9	5.698
Mo 3	41.93	4	12.218	29.9	5.533

Quanto aos testes de reprodução, verifica-se que na área de mata a reprodução foi de 0 (mata 3 (90)) a 39 juvenis (mata 1), de 6 (batata 3) a 43 juvenis (batata 2) e de 33 (morango 1) a 52 juvenis (morango 3). A amostra de solo que apresentou a maior taxa de reprodução foi o TAS, como era de se esperar já que este era o controle do teste (54 juvenis).

A Análise de Variância aplicada para os dados de toxicidade crônica, que comparou o número de juvenis entre os tratamentos (Tabela 18), apontou diferença significativa somente entre o grupo controle (TAS) e a área de mata 3 (90), como apresentado na Tabela 19. Já para o teste que compara a existência de diferença estatística entre o grupo controle e os tratamentos (Tabela 20), os resultados indicaram diferença significativa ($p \leq 0,05$) entre o grupo controle e a área de mata 2 (70), entre o controle e a área de mata 3 (90) e entre o controle e a área de cultivo de batata 3. Para os solos da área de mata 1, área de batata 1, área de batata 2, e as três área de cultivo de morango, não houve diferença significativa do número de juvenis em relação ao controle.

Tabela 18 – Análise de variância para os dados de toxicidade crônica, para comparação do número de juvenis entre os tratamentos

ANOVA TABLE

SOURCE	DF	SS	MS	F
Between	9	980.100	108.900	3.708
Within (Error)	30	881.000	29.367	
Total	39	1861.100		

Critical F value = 2.21 (0.05,9,30)
Since F > Critical F REJECT Ho:All groups equal

Tabela 19 – Teste de Tukey de comparação múltipla entre os tratamentos quanto ao número de juvenis durante teste de toxicidade crônica

TUKEY method of multiple comparisons

GROUP	IDENTIFICATION	TRANSFORMED MEAN	ORIGINAL MEAN	GROUP 0 0 0 0 0 0 0 1 0 0 4 3 7 5 8 2 6 0 9 1
Ma 3	0	0.000	0.000	\
Ma 2	0	0.750	0.750	. \
Ba 3	0	1.500	1.500	. . \
Ba 1	7	4.500	4.500	. . . \
Mo 1	5	8.250	8.250	. . . . \
Ma 1	14	9.750	9.750	. . . . . \
Ba 2	4	10.750	10.750	. . . . . \
Mo 3	9	11.500	11.500	. . . . . \
Mo 2	14	13.000	13.000	. . . . . \
TAS	10	13.500	13.500	* . . . . . \

* = significant difference (p=0.05) . = no significant difference
Tukey value (10,30) = 4.82 s = 29.367

Tabela 20 – Teste de Dunnet de comparação do controle com os tratamentos quanto ao número de juvenis durante teste de toxicidade crônica

DUNNETTS TEST - TABLE 1 OF 2 Ho:Control<Treatment

GROUP	IDENTIFICATION	TRANSFORMED MEAN	MEAN CALCULATED IN ORIGINAL UNITS	T STAT	SIG
TAS	10	13.500	13.500		
Ma 1	14	9.750	9.750	0.979	
Ma 2	0	0.750	0.750	3.327	*
Ma 3	0	0.000	0.000	3.523	*
Ba 1	7	4.500	4.500	2.349	
Ba 2	4	10.750	10.750	0.718	
Ba 3	0	1.500	1.500	3.132	*
Mo 1	5	8.250	8.250	1.370	
Mo 2	14	13.000	13.000	0.130	
Mo 3	9	11.500	11.500	0.522	

Dunnett table value = 2.54 (1 Tailed Value, P=0.05, df=30,9)

DUNNETTS TEST - TABLE 2 OF 2 Ho:Control<Treatment

GROUP	IDENTIFICATION	NUM OF REPS	Minimum Sig Diff (IN ORIG. UNITS)	% of CONTROL	DIFFERENCE FROM CONTROL
TAS	10	4			
Ma 1	14	4	9.733	72.1	3.750
Ma 2	0	4	9.733	72.1	12.750
Ma 3	0	4	9.733	72.1	13.500
Ba 1	7	4	9.733	72.1	9.000
Ba 2	4	4	9.733	72.1	2.750
Ba 3	0	4	9.733	72.1	12.000
Mo 1	5	4	9.733	72.1	5.250
Mo 2	14	4	9.733	72.1	0.500
Mo 3	9	4	9.733	72.1	2.000

5. DISCUSSÕES

5.1 Utilização de testes de toxicidade para avaliação da contaminação de solos

Considerando os resultados obtidos nesta pesquisa e a necessidade de maiores ajustes metodológicos, procurou-se inicialmente discutir as diversas respostas da pesquisa em função das normas existentes, discorrendo sobre aspectos que podem ser questionados, objetivando uma maior adequação dos testes à avaliação da contaminação de solos naturais. Não se espera, no entanto, elucidar todos os aspectos, mas sim apresentar aqueles que foram mais importantes e que tiveram implicações na obtenção de resultados, impossibilitando, em alguns momentos, uma caracterização mais efetiva dos problemas da utilização de agrotóxicos em áreas rurais de Bom Repouso.

Um dos primeiros problemas se relaciona com a umidade do solo. Todas as normas internacionais padronizadas para a realização de testes com minhocas determinam que seja realizado o ajuste de umidade dos solos. Para esta pesquisa o ajuste de umidade foi realizado de acordo com as normas mais recentes (protocolo nº.

222 da OECD (2004) e as normas ISO 11268-1 (1993), ISO 11268-2 (1998) e ISO 17512-1 (2007)), as quais definem que o ajuste deve ser feito de modo que, para realização dos testes, os solos se encontrem com umidade equivalente a 40% a 60% de sua capacidade de retenção. No entanto, quando se trata de solos naturais as variações dos parâmetros físicos de cada solo (como a capacidade de retenção) podem ser muito diferentes entre si. Em se tratando de um teste que irá utilizar solo artificial este ajuste de umidade é possível e necessário, mas para solos naturais, obtidos em campo, podem ser encontradas dificuldades de se ajustar alguns parâmetros necessários para a padronização dos testes.

Pelos cálculos matemáticos realizados para se ajustar a umidade dos solos-teste desta pesquisa, verificou-se que os solos da área de mata 2 e 3 já se encontravam com umidade igual ou superior a 50% de sua capacidade de retenção, porém visualmente esses dois solos pareciam muito secos quando comparados aos outros. Como já foi detalhado no item Materiais e Métodos e no item Resultados, os testes com os solos de área de mata 2 e área de mata 3 foram realizados sem ajuste de umidade e com ajuste de umidade, a 70% da capacidade de retenção do solo da área de mata 2 e ajuste a 90% da capacidade de retenção do solo da área de mata 3.

A percepção inicial de que os solos estavam secos mostrou-se coerente com os resultados obtidos, já que, tanto no teste de reprodução quanto no teste agudo, foi verificada grande mortalidade dos organismos teste nos recipientes sem adição de água, o que não ocorreu nos testes em que se utilizou as mesmas amostras de solo e ajustou-se a umidade. Este resultado mostra que podem ocorrer exceções quando se trabalha com solos naturais, as quais não estão previstas nas normas internacionais.

A umidade do solo é um parâmetro que afetou muito os organismos-teste nessa pesquisa, salientando-se que uma variação de umidade entre os solos-teste pode trazer

diferenças de resultados decorrentes dessa diferença de umidade e não de outras características que se deseja analisar. Isso foi comprovado nos testes realizados, já que para o mesmo solo houve maior mortalidade no recipiente com solo seco (mas que se encontrava com umidade a 50% de sua capacidade de retenção) do que no recipiente em que se realizou o ajuste de umidade (o que acarretou em uma quantidade de água superior a 50% de sua capacidade de retenção).

A solução adotada nesta pesquisa foi de se ajustar a umidade visualmente, pressionando-se um pouco de solo entre as mãos de modo que este ficasse consistente, sem esfarelar, ao mesmo tempo que não escorresse água por entre os dedos. Essa prática mostrou-se adequada, apresentando resultados coerentes nos testes de toxicidade aguda. Porém, acrescentar isso a uma norma internacional pode deixar a padronização um pouco subjetiva, uma vez que as normas devem definir parâmetros exatos e objetivos para os testes. Sugere-se, portanto, maior investigação sobre o assunto, a fim de estabelecer cálculos objetivos para o ajuste de umidade dos solos na realização dos testes ecotoxicológicos que sejam diferentes dos estabelecidos atualmente, pois nesta pesquisa verificou-se que, em alguns casos, esse ajuste de umidade de 40 a 60% da capacidade de retenção do solo pode não ser adequado.

Outro item importante se baseia na disponibilidade alimentar, o que pode implicar em redução do peso e/ou aumento da mortalidade no decorrer dos testes. Nos testes de toxicidade aguda e crônica foi verificada perda de peso dos organismos, que variou de 16,07% a 27,35% ao 14º dia do teste agudo e de 29,29% a 44,07% ao 28º dia do teste crônico. Essa perda de peso não foi caracterizada como toxicidade de acordo com a análise estatística realizada, já que os testes-controle com TAS também apresentaram perda de peso e a diferença entre estes controles e os solos-teste da pesquisa não foi significativa.

Muitas pesquisas criticam o fato de que as normas padronizadas não recomendam a adição de matéria orgânica aos recipientes durante o período de realização dos testes para o caso do teste de toxicidade aguda. O período de realização deste teste é considerável (14 dias) e por todo esse período não há adição de alimento aos organismos, o que levou a consideráveis perdas de peso em diversas pesquisas realizadas (SPURGEON; WEEKS; GESTEL, 2003).

Spurgeon, Hopkin e Jones (1994), por exemplo, em testes ecotoxicológicos com *Eisenia foetida,* verificaram significativa perda de peso em todos os tratamentos testados, inclusive nos testes controle, durante realização de teste de toxicidade aguda e teste de toxicidade crônica. Os autores atribuem isto ao fato de que a quantidade de matéria orgânica no solo artificial (10%) é insuficiente e sugerem alterações no protocolo da OECD nº 207 (1984), como por exemplo, a adição de alimento (esterco) aos recipientes durante a realização dos testes.

Spurgeon, Weeks e Gestel (2003) fizeram um resumo sobre os principais pontos discutidos em três eventos internacionais sobre estudos ecotoxicológicos com minhocas e destacaram que a falta do fornecimento de alimento aos organismos durante o teste de toxicidade aguda tem provocado perda de peso aos organismos teste, inclusive nos testes controle. Sendo assim, a recomendação, segundo os autores, foi de adicionar alimento nos recipientes teste a fim de evitar um possível estresse aos organismos provocado pela falta de alimento, já que isso poderia influenciar os resultados ecotoxicológicos que são o objetivo do teste. A partir de um teste com adição de alimento, a perda de peso poderia ser utilizada como um critério de validação do teste, considerando os recipientes controles. Sendo assim, se a perda de peso nos solos teste for significativamente maior que no controle esse efeito pode ser considerado como uma indicação de efeitos subletais.

Gestel et al (1991) também realizaram pesquisa a fim de avaliar os parâmetros estabelecidos pelas normas internacionais para os testes com minhocas, variando a duração do teste e forma de alimentação dos organismos. Os autores conseguiram observar crescimento nos organismos teste durante 12 semanas de realização de experimentos, sendo que foram realizadas e testadas várias formas de fornecimento de alimento aos organismos teste. O aumento de peso devido ao crescimento foi avaliado durante cada semana de duração do testes e, com isso, concluiu-se que realmente é necessário o fornecimento de alimentação adicional aos organismos de forma que o peso possa ser um *endpoint*, refletindo efeitos da contaminação do solo.

Por outro lado, as normas para realização dos testes de toxicidade crônica definem a adição de 5g de esterco por semana a cada um dos recipientes. Mesmo seguindo essa recomendação, foi verificada considerável perda de peso dos organismos utilizados no teste de toxicidade crônica na presente pesquisa. Acredita-se que isso ocorreu devido à grande variação de disponibilidade de alimento a que os organismos estavam submetidos no cultivo e passaram a ser submetidos durante os testes.

Para o cultivo dos organismos teste, as normas da OECD (1984, 2004) e da ISO (1993, 1998, 2007), utilizadas na pesquisa, indicam a utilização de 50% de esterco animal e 50% de turfa, a qual foi substituída por pó de fibra de côco, conforme ABNT (2007), o que foi descrito anteriormente no item Materiais e Métodos. Considerando o exposto, pode-se dizer que praticamente 100% do substrato de cultivo é composto por material que serve de alimento para os organismos.

Quando se transfere esses organismos-teste para outro solo que possui uma quantidade bem menor de matéria orgânica, como é o caso do TAS (apenas 10% de matéria orgânica), ou dos solos naturais (que neste caso a porcentagem de matéria orgânica variou de 11,74% a 19,78%), a perda de peso é inevitável. Porém, essa perda

de peso provavelmente ocorre devido a essa diferença de ambiente e de disponibilidade de alimento a que os organismos são submetidos e não a possíveis estresses causados por eventuais contaminantes presentes nos solos-teste. Reconhece-se, no entanto, que os contaminantes poderiam sim causar um efeito deletério, mas a situação é agravada em função do estado nutricional dos organismos, ou seja, organismos debilitados ficam mais sujeitos à ação do contaminante. Testes adicionais poderiam abordar essa questão, expondo organismos-teste em amostras de solo naturais (ou artificiais) com diferentes concentrações de alimento e em diferentes condições do contaminante, analisando os efeitos agudos e crônicos.

Sendo assim, outro parâmetro dos testes internacionais padronizados que deve ser questionado é essa diferença entre a quantidade de matéria orgânica do cultivo e a quantidade de matéria orgânica dos solos teste, seja artificial ou não. O ideal seria que a porcentagem de matéria orgânica do solo de cultivo fosse igual ou próxima a quantidade de matéria orgânica do solo artificial, a fim de evitar perdas de peso decorrentes da redução da quantidade de alimento. Considerando o exposto, mais pesquisas também devem ser desenvolvidas para verificar a melhor porcentagem de matéria orgânica que o solo de cultivo deve ter a fim de que o impacto sobre os organismos teste em relação à quantidade de alimento seja o menor possível. Além disso, devem ser realizadas pesquisas a fim de verificar a viabilidade ou não da adição de alimento aos recipientes durante os testes de toxicidade aguda, já que seu período de realização não é curto (14 dias).

Muitas pesquisas comparam os três tipos de testes ecotoxicológicos realizados nesta pesquisa, como o teste de evitamento (*avoidance*), teste de toxicidade aguda e teste de toxicidade crônica. Segundo Lukkari et al (2005), Rinke e Wiechering (2001) e Yeardley et al (1996), além da norma ISO 17512-1 (2007), os testes de evitamento têm

entre suas principais vantagens o curto tempo de duração dos testes (apenas 48h), enquanto que os testes agudos levam 14 dias e os de reprodução 56 dias. Há casos em que existe a necessidade de obtenção de resposta em relação à contaminação de um local em um curto período de tempo, o que pode inviabilizar as análises ecotoxicológicas utilizando o teste agudo e/ou o teste crônico.

Sobre os testes de reprodução a crítica em relação ao tempo de duração do teste é sempre inevitável, já que são quase dois meses (56 dias) para se obter um resultado. Mesmo assim, quando se deseja avaliar a toxicidade de substâncias ou áreas contaminadas, apesar do longo tempo de duração, este pode ser um teste oportuno para avaliar efeitos sub-letais das substâncias nos organismos-teste, pois além da reprodução vários parâmetros podem ser avaliados, como peso, comportamento e até alterações morfológicas.

Vários autores (GESTEL et al, 1991; RINKE e WIECHERING, 2001; SPURGEON, HOPKIN e JONES, 1994; SPURGEON, WEEKS e GESTEL, 2003) mencionam que os resultados de um teste de toxicidade crônica têm maior relevância ecológica, já que seus *endpoints*, como os distúrbios na reprodução e crescimento, são melhores para obtenção de informações de efeitos ambientais em populações naturais.

Porém, para sua aplicação objetivando a avaliação de áreas contaminadas em que seja necessária uma resposta rápida sobre a contaminação, o que pode muitas vezes acontecer, este teste se torna inviável pelo tempo necessário para obtenção das respostas. No entanto, este tempo de realização não pode ser alterado para o caso das minhocas, pois isto está relacionado à duração do ciclo reprodutivo dos organismos, sendo que este é o período necessário para a produção dos casulos até o surgimento dos juvenis.

Pode-se dizer que uma opinião unânime em relação a essa comparação entre os três testes se refere à sensibilidade para detecção de contaminantes por cada um. Diversos autores mencionam que através dos testes de evitamento as minhocas são capazes de detectar níveis menores de contaminação do solo do que os que podem ser detectados pelos testes agudos ou crônicos. Lukkari et al (2005), Rinke e Wiechering (2001) e Yeardley et al (1996), por exemplo, demonstraram através de experimentos que os resultados dos testes de *avoidance* identificaram menores níveis de contaminação do que o teste de toxicidade aguda.

Conforme verificado em diversas pesquisas, e mencionado por Gestel et al (1991), Rinke e Wiechering (2001) e por Spurgeon, Hopkin e Jones (1994), a mortalidade, *endpoint* dos testes agudos, não é o parâmetro mais sensível para prever efeitos em populações de campo, pois ela indica um máximo de perigo aos organismos e, conseqüentemente, altas concentrações são necessárias para causar algum efeito. Segundo Spurgeon, Weeks e Gestel (2003), no terceiro Encontro Internacional de Ecotoxicologia de minhocas discutiu-se que, em testes de toxicidade aguda que utilizam solo artificial, a biodisponibilidade de poluentes é maior do que quando os solos são coletados em áreas naturais contaminadas e, nesses casos, a resposta do teste de toxicidade aguda foi considerada de difícil avaliação.

Muitos testes de toxicidade aguda realizados com minhocas somente apresentam resultados de mortalidade onde as concentrações de contaminantes são muito elevadas. Lima (2006), por exemplo, encontrou valores de CL_{50} de 941,34 mg/kg para dicromato de potássio e CL_{50} de 31,62 mg/kg para o princípio ativo do agrotóxico clorpirifós. Neuhauser et al (1985) encontraram valores de LC_{50} de 1843 mg/kg, 643 mg/kg, 5941 mg/kg, 757 mg/kg e 662 mg/kg para nitrato de Cádmio, Cobre, Chumbo, Níquel e Zinco, respectivamente. Os valores de LC_{50} obtidos nos experimentos de Spurgeon,

Hopkin e Jones (1994) foram de 683 mg/kg para nitrato de cobre, 1010 mg/kg para nitrato de zinco e 4480 mg/kg para nitrato de chumbo.

Por outro lado, a prática dos testes de evitamento também mostra alguns pontos críticos. Os resultados dos testes de evitamento obtidos nessa pesquisa podem ter sido realmente devido a detecção pelos organismos-teste de contaminantes presentes nas amostras de solo, ou podem pelo fato de que os solos de área de mata tinham características físico-químicas melhores às suas necessidades do que os solos das áreas de cultivo. Sabe-se que existe uma dificuldade de se encontrar um solo controle exatamente com as mesmas características do solo contaminado que se deseja testar, o que traz um impasse na validação dos resultados dos testes de evitamento.

Rinke e Wiechering (2001) e Yeardley et al (1996) mencionam que alguns compostos tóxicos, como a cloroacetamida, por razões ainda não conhecidas, não provocam um efeito de evitamento nas minhocas, ocorrendo casos em que solos com concentrações que causaram 100% de mortalidade em testes agudos não apresentam resultados de evitamento nas minhocas.

Essa questão também foi verificada por Lima (2006), que realizou vários testes de evitamento com minhocas utilizando apenas o TAS. Em diversas variações dos testes não foi possível obter conclusões sobre o evitamento do solo contaminado pelos organismos, possivelmente porque houve grande variação entre as réplicas, não verificou-se distribuição média entre os dois lados dos recipientes-controle (realizando o *dual control test*) e muitas vezes verificou-se que não existiu relação nítida entre as concentrações de contaminantes e a porcentagem de evitamento, isso porque, realizando vários testes com as mesmas concentrações, as porcentagens de evitamento para a mesma concentração variaram muito e não seguiram nenhuma tendência perceptível. Os testes foram realizados com dicromato de potássio e ácido bórico, que é a substância de

referência do teste de evitamento, e mesmo assim os resultados não foram satisfatórios. Houve casos em que foi verificada a mortalidade de organismos no lado do recipiente com solo contaminado, ou seja, mesmo em concentrações muito tóxicas que provocaram mortalidade, os organismos não fugiram para o solo não contaminado.

Natal da Luz et al (2007) avaliaram a resposta de evitamento de minhocas *Eisenia andrei* aos compostos químicos benomyl e carbedazin. Os autores conseguiram concluir pelo evitamento das minhocas aos dois compostos para quase todas as concentrações testadas. Porém, para uma determinada concentração de benomyl testada não houve evitamento do solo contaminado de acordo com análise estatística realizada. Algumas justificativas são atribuídas a esse fato, porém isso mostra que não é em 100% dos casos que o resultado do teste de evitamento dará a resposta sobre a presença de contaminantes em determinado solo.

Estudos desenvolvidos por Dornfeld (2006) também demonstraram que os testes de evitamento não resultaram em respostas satisfatórias para avaliar se os organismos-teste, no caso *Chironomus xanthus*, realmente tinham a capacidade de reconhecer e evitar o contaminante. Segundo a autora, os testes de toxicidade aguda e a análise de *end-points* diferenciados, como reprodução, crescimento e deformação do mento, podem ser mais adequados.

O que se pode verificar é que realmente os testes de evitamento são melhores no que se refere ao tempo de realização, em relação aos testes agudos e crônicos, e à possibilidade de detecção de níveis de contaminantes bem inferiores. Entretanto, os testes de evitamento ainda precisam de novas pesquisas, procurando-se estabelecer os melhores parâmetros para a realização dos mesmos. Ao que parece, ele pode ser muito eficiente para algumas substâncias e pouco para outras.

Considerando as vantagens do teste de evitamento, o curto tempo para obtenção de resposta do teste e a possibilidade de detecção de menores níveis de contaminantes que os testes agudos, em contraposição às suas desvantagens expostas anteriormente de que em alguns casos este teste não consegue detectar a presença de determinados compostos químicos, verifica-se, conforme citado por Garcia et al (2008), que os testes de evitamento, apesar de suas vantagens, não devem substituir outros testes. Os autores mencionam que o teste de *avoidance* pode substituir o teste agudo, mas não o teste crônico.

A própria norma da ISO 17512-1 (2007), que padroniza o teste de evitamento, sugere que este teste sirva como uma avaliação preliminar de determinado local e, de acordo com o resultado obtido, o teste de toxicidade crônica deve ser realizado a fim de fornecer mais informações sobre o nível de contaminação do solo.

5.2 Análise da contaminação ambiental do solo do município de Bom Repouso

Características físicas e químicas do solo, como as quantidades de areia, matéria orgânica, pH, umidade e nutrientes, exercem grande influência sobre o comportamento dos organismos teste *Eisenia sp.* (SIVAKUMAR e SUBBHURAAM, 2005). Portanto, os estudos sobre contaminação ambiental devem incluir essas análises caso seja do interesse a inclusão dos testes de toxicidade com minhocas.

Quanto às análises físicas e químicas dos solos, os resultados encontrados nesta pesquisa para o pH são semelhantes aos encontrados por Rodrigues (2007), que realizou análises de água percolada de solos de área de mata, área de cultivo de batata e área de cultivo de morango, coletadas no município de Bom Repouso/MG no ano de 2005. A autora encontrou valores de pH que variaram de 4,43 a 6,78, sendo os valores mais altos os das áreas de cultivo de morango, da mesma forma que foi verificada nesta pesquisa,

ou seja, isso pode indicar que essa pequena elevação do pH dos solos de cultivo de morango seja devido à maneira de manipulação e produtos utilizados no cultivo. Ou então pode estar associado à porcentagem de matéria orgânica dos solos, que promove a sua acidificação, conforme discutido pela autora, já que os solos da área de cultivo de morango tem a menor porcentagem de matéria orgânica e maiores valores de pH. Conforme mencionado no item Resultados, o pH dos solos de área de cultivo de batata 2 e os solos das áreas de cultivo de morango 2 e 3 são os que possuem os valores de pH dentro da faixa indicada como ideal pelas normas internacionais.

Segundo Braga et al (2005), a parte orgânica do solo é proveniente da queda de folhas, frutos, galhos e ramos, além de restos de animais, outros excrementos e resíduos em diferentes fases de decomposição. É a biodegradação dessa matéria orgânica que resulta no húmus do solo, responsável em boa parte pelas características agrícolas do solo e várias de suas propriedades físicas, como por exemplo, a coloração do solo. Solos escuros, tendendo para o marrom, quase sempre podem ser associados à presença de matéria orgânica em decomposição em teor elevado, o que era o caso dos solos coletados nas áreas de mata. A cor vermelha indica a presença de óxidos de ferro e de solos bem drenados, o que era o caso dos solos de área de cultivo de batata e morango.

No caso dos testes ecotoxicológicos desta pesquisa, a porcentagem de matéria orgânica no solo tem um papel fundamental nos resultados, não só por suas influências nas características físicas e químicas, mas também porque ela serve de alimento para os organismos teste, principalmente nos testes de toxicidade aguda e nos testes de evitamento, em que não há adição de alimento, como ocorre nos testes crônicos. Ou seja, a quantidade de matéria orgânica dos solos pode influenciar nos resultados dos testes ecotoxicológicos, principalmente no que se refere à perda de peso dos organismos, conforme discussão apresentada no item anterior. A perda de peso dos

organismos durante os testes de toxicidade aguda e crônica foram considerados altos, mas não foram considerados como indicadores de toxicidade porque a perda de peso foi maior inclusive nos testes controle com o TAS. Uma melhor análise da relação existente entre a porcentagem de matéria orgânica de cada solo e a perda de peso ocorrida nos organismos-teste são apresentadas nas Figuras 28 e 29.

Na Figura 28 são apresentados os valores obtidos nos testes de toxicidade aguda quanto à porcentagem de matéria orgânica no início do teste, a perda de peso ao 14ºdia e porcentagem de mortalidade ao final do teste. Na Figura 29 são apresentados os valores obtidos nos testes de toxicidade crônica quanto à porcentagem de matéria orgânica no início do teste, a perda de peso ao 28º dia e a porcentagem de mortalidade ao 28º dia (quando os organismos adultos são retirados dos recipientes do teste de toxicidade crônica). Os valores de mortalidade foram incluídos nessa comparação pelo fato de que os organismos de cada recipiente ao início dos testes (10 em cada recipiente) foram pesados conjuntamente, sendo assim, ao final dos testes os organismos de cada recipiente encontrados vivos também foram pesados conjuntamente. Os organismos mortos se desintegram muito rapidamente e não há como serem pesados ao fim dos testes, ou seja, quando há mortalidade isso influencia no peso final do grupo de organismos de cada recipiente, pois são pesados apenas os organismos que estão vivos e o valor final de perda de peso apresentada reflete, além da perda de peso, a redução do número de organismos.

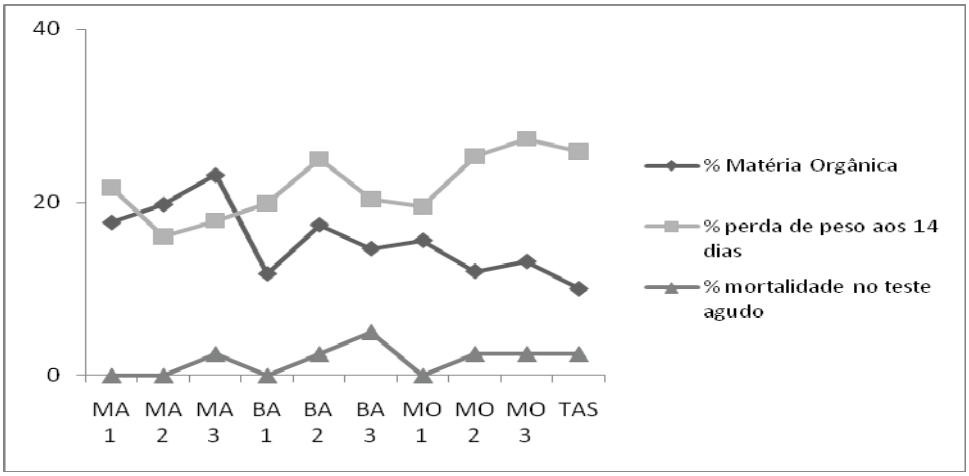

Figura 28. Porcentagem de matéria orgânica no início do teste de toxicidade aguda, porcentagem de perda de peso e porcentagem de mortalidade ao final da realização do teste, para cada um dos solos coletados em Bom Repouso/MG.

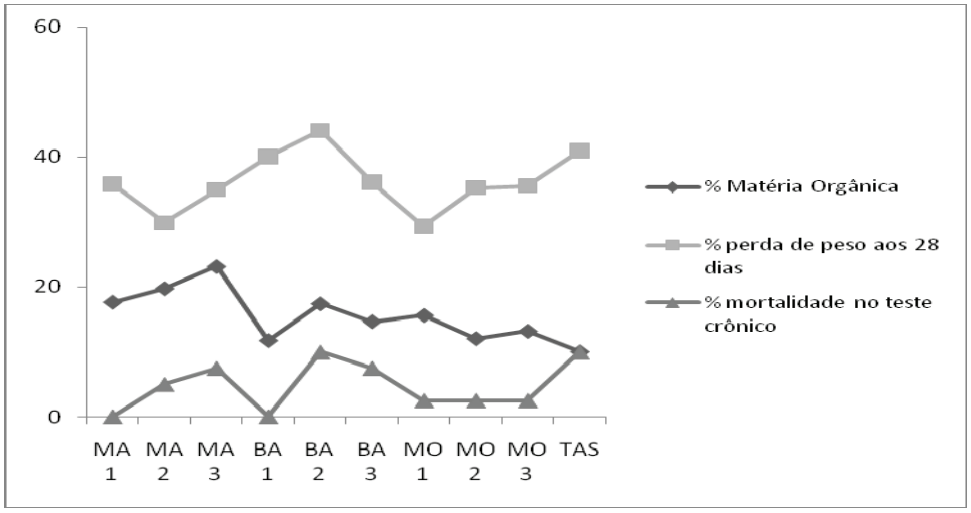

Figura 29. Porcentagem de matéria orgânica no início do teste de toxicidade crônica, porcentagem de perda de peso e mortalidade ao 28º. dia de teste para cada um dos solos coletados em Bom Repouso/MG.

Analisando ambas as figuras verifica-se que, em geral, quando a porcentagem de matéria orgânica é baixa a perda de peso é alta e quando a porcentagem de matéria orgânica é alta, a perda de peso diminui. Porém em alguns pontos isso não ocorre, mas são exatamente os pontos em que se verifica que houve mortalidade de organismos, ou seja, as exceções que ocorrem quando se relaciona a perda de peso à porcentagem de matéria orgânica são exatamente para os solos em que foi verificada mortalidade de organismos. Sendo assim, a perda de peso nessas exceções se deve à redução do número

de organismos pesados ao final do teste. Estes resultados confirmam o que foi discutido no item anterior de que não se pode dizer que a perda de peso nos testes dessa pesquisa se relacionou à toxicidade. Provavelmente ela se relacionou à porcentagem de matéria orgânica dos solos, cabendo a discussão feita anteriormente sobre a necessidade de adição de alimento durante a realização dos testes e a grande diferença entre a quantidade de alimento a que os organismos são submetidos no cultivo e a quantidade de alimento, que de um dia para o outro, são submetidos nos testes.

Segundo Braga et al (2005), a adição de fertilizantes nos solos agrícolas visa atender a demanda de nutrientes das culturas, sendo os macronutrientes principais nitrogênio, fósforo e potássio. Dessa forma, as análises de fósforo total nas amostras de solo coletadas se mostraram maiores nas áreas de cultivo de batata, seguida pelas áreas de cultivo de morango, sendo as áreas de mata as que possuíram as menores concentrações (com exceção apenas da área de cultivo de morango 3) e as menores variações entre as 3 amostras. As diferenças entre as áreas de cultivo podem indicar estágios diferentes das atividades de plantio (retirada do produto, aplicação de fertilizantes, etc), o que não ocorre nas áreas de mata. Resultado semelhante foi obtido por Rodrigues (2007) em análises de amostras de solo coletadas em Bom Repouso em 2005, com maiores concentrações de fósforo nas áreas de batata, seguidas pelas áreas de morango e áreas de mata.

No caso do nitrogênio, o resultado foi o oposto do obtido para fósforo, com maiores concentrações verificadas nas áreas de mata, em média, sendo bem variados os resultados obtidos para cada uma das 3 áreas de cultivo de morango e 3 áreas de cultivo de batata. Rodrigues (2007) encontrou valores elevados de nitrogênio orgânico para solos das áreas de mata, o que foi justificado pela camada de folhas mortas e galhos da vegetação do local de amostragem, semelhante aos locais de área de mata onde foram

realizadas as coletas desta pesquisa. Porém, as concentrações de nitrogênio orgânico encontradas pela autora para as áreas de cultivo de batata foram superiores às concentrações das áreas de mata, diferente do verificado atualmente.

A classificação granulométrica dos solos mostra que eles são semelhantes entre si no que se refere a essa característica física. Esse resultado pode ser explicado pelo fato de que as distâncias entre as áreas de coleta não são tão grandes, estando todas dentro do mesmo município, portanto, não há grande variação na granulometria dos solos. Conforme detalhado no item Resultados, a maior parte dos solos foi classificada como barrento, de acordo com critérios apresentados em Braga et al (2005), sendo os solos da área de mata 1, mata 2 e cultivo de batata 3 classificados como arenosos. As porcentagens de areia foram predominantes para todos os solos, semelhante aos resultados obtidos por Rodrigues (2007).

Os metais podem estar presentes naturalmente nos solos, já que a maioria deles, embora em pequenas concentrações, faz parte da constituição tanto da crosta terrestre quanto dos próprios organismos, mas também podem ser introduzidos por meio de diferentes fontes não naturais, como através do uso de fertilizantes, corretivos orgânicos e inorgânicos (todos decorrentes da atividade agrícola), esgotos domésticos e resíduos de atividades industriais, materiais esses que podem conter diferentes quantidades de vários metais (ALVES, 2002). A utilização de fertilizantes visando atender a demanda de nutrientes das culturas introduz nos solos compostos como cálcio, magnésio, enxofre, ferro, manganês, cobre, zinco, boro, molibdênio e cloro (BRAGA et al, 2005).

Os metais sofrem várias reações químicas no solo, entre as principais estão a adsorção na superfície de argilominerais e óxidos; a complexação com os ácidos húmicos, fúlvicos, ligantes orgânicos e inorgânicos; e a precipitação como carbonatos, hidróxidos, óxidos, sulfetos, entre outros, sendo que o equilíbrio químico destas reações

é que vai definir a disponibilidade e a toxicidade dos metais (BRANDÃO, 2003), pois este equilíbrio influenciará a forma em que os metais se encontrarão e, embora algumas formas sejam tóxicas a organismos vivos, outras não são. Metais pesados como Cu, Zn, Ni, Mn e Cr são comumente classificados como essenciais enquanto outros, como Pb e Cd, são chamados de não essenciais. Essa denominação se deve ao fato de que a deficiência dos primeiros pode trazer problemas para o ser humano. Porém, vale ressaltar que a sua presença em excesso também pode trazer prejuízos aos seres vivos (BRANDÃO, op.cit.).

No sentido de estabelecer algumas relações entre as concentrações de metais, os testes e análise ambiental do município de Bom Repouso procurou descrever e discutir, de forma sucinta, os metais que foram quantificados na área de estudo.

O cobre, por exemplo, é um dos metais pesados considerado essencial para muitos organismos vivos, sendo, portanto, um micronutriente, porém em grandes concentrações pode causar efeitos tóxicos e a deficiência de outros nutrientes essenciais através de interações antagônicas. Os resultados obtidos para as análises das concentrações de cobre nos solos coletados em Bom Repouso mostraram que não foi detectada sua presença em nenhuma amostra, com exceção da área de batata 2, mas em concentração muito inferior aos valores de referência estabelecidos pela resolução CONAMA 420/2009 e CETESB (2005).

No entanto, Brigante et al (2003b), ao analisarem as concentrações de cobre em amostras de água coletadas ao longo da Bacia do Rio Mogi Guaçu, verificaram que nos meses de março a junho de 2001, para todos os pontos de coleta, as concentrações de cobre foram superiores ao limite estabelecido para rios de classe 2 conforme resolução CONAMA 20/86, legislação vigente na época da pesquisa.

Rodrigues (2007), em análise das concentrações de cobre em amostras de solo de área de mata, área de cultivo de batata e área de cultivo de morango, coletadas em Bom Repouso em 2005, também encontrou valores bastante inferiores ao valor de referência de qualidade estabelecida pela CETESB (2001). No entanto, para análises das concentrações de cobre em água percolada por esses três tipos de solo coletados, foi verificado que para as amostras de batata e morango, em determinado tempo de coleta de água percolada, as concentrações ultrapassaram os valores estabelecidos pela Portaria 518/04, o que demonstra os riscos de contaminação da água na região em decorrência da contaminação do solo por fontes diversas.

Resende (2009) realizou análises de amostras de água e sedimentos coletadas em diversos locais do município de Bom Repouso, nos meses de janeiro e julho do ano de 2008, sendo esta segunda coleta realizada simultaneamente a presente pesquisa. Quanto às concentrações de cobre, não foi detectada sua presença em nenhum dos pontos coletados nos dois períodos de amostragem, nem nas amostras de água e nem nas amostras de sedimento.

Em testes de toxicidade aguda realizados com minhocas da espécie *Eisenia fetida*, Spurgeon, Hopkin e Jones (1994) encontraram valores de LC_{50} 683 mg/kg para nitrato de cobre; Neuhauser et al. (1985) encontraram valores de LC_{50} de 643 mg/kg também para nitrato de cobre utilizando a mesma espécie e Lukkari et al (2005) encontraram valores de LC_{50} de 249 mg/kg. Gestel et al (1991), verificaram que, para uma determinada faixa de concentração de cobre, este pode influenciar positivamente no crescimento de *Eisenia andrei*.

Em relação ao cromo, foram detectadas pequenas concentrações nos solos das três amostras coletadas em áreas de cultivo de batata e na área 3 de cultivo de morango, todas em concentrações bem abaixo dos valores orientadores estabelecidos pela

resolução CONAMA 420/2009 e CETESB (2005). Para as outras amostras de solo coletadas em Bom Repouso não foi verificada a presença de cromo.

Brigante et al (2003b), em coletas de água realizadas ao longo do Rio Mogi-Guaçu nos meses de novembro de 2000 e março de 2001, encontraram concentrações de cromo de duas a três vezes acima do limite estabelecido pela legislação vigente na época, CONAMA 20/86, para alguns pontos de coleta.

Na pesquisa realizada por Rodrigues (2007), foram detectadas concentrações de cromo no percolado dos solos de área de mata, batata e morango coletados em 2005 em Bom Repouso, porém em concentrações que não ultrapassaram o valor estabelecido pela resolução CONAMA 357/2005 e pela Portaria 518/04. A autora também não verificou concentrações de cromo nas análises realizadas das amostras destes solos que ultrapassassem os valores de referência estabelecidos pela CETESB (2001). Resende (2009), em coletas de água realizadas em diversos locais do município de Bom Repouso não verificou a presença de cromo em nenhuma amostra coletada em julho de 2008, realizadas juntamente com as coletas de solo desta pesquisa, porém verificou concentrações de cromo em todas as amostras coletadas em janeiro de 2008, embora todas com valores abaixo do limite estabelecido pela resolução CONAMA 357/05. Para os sedimentos coletados pela autora, em janeiro e em julho de 2008 foram encontradas pequenas concentrações desse metal, considerados pela autora como sedimentos não poluídos.

Em testes de toxicidade aguda realizados com minhocas da espécie *Eisenia fetida*, Lima (2006), encontrou valores de CL_{50} de 941,34 mg/kg para dicromato de potássio e Sivakumar e Subbhuraam (2005), avaliando a toxicidade do Cr^{6+} em *Eisenia foetida,* encontraram valores de CL_{50} que variaram entre 222 e 257 mg/kg.

Outro metal avaliado foi o cádmio, que é um metal não essencial, diferente dos outros dois metais apresentados anteriormente. Nas análises das amostras de solo coletadas em Bom Repouso, foi detectada a presença de cádmio apenas nas áreas de cultivo de batata 1 e 2, porém em concentrações que não ultrapassaram os valores orientadores estabelecidos pela CONAMA 420/2009 e CETESB (2005). Resende (2009), não verificou concentrações deste metal em amostras de água e sedimento coletadas em Bom Repouso em janeiro e julho de 2008.

Brigante et al (2003b), em análises de amostras de água coletadas ao longo do Rio Mogi Guaçu, verificaram que na maioria dos pontos amostrados as concentrações desse metal se encontraram de 2 a 50 vezes acima do limite do CONAMA 20/86, e para as análises de sedimento da região de montante do rio, os autores os classificaram como impactados pelo cádmio segundo os critérios adotados.

Em testes de toxicidade aguda realizados com minhocas da espécie *Eisenia fetida*, Neuhauser et al (1985) encontraram valores de LC_{50} de 1843 mg/kg para nitrato de cádmio e Gestel et al (1991) obtiveram valores de LC_{50} de 588 mg/kg de cádmio para *Eisenia andrei*, porém com 4 semanas de realização do experimento, o dobro do tempo de realização do teste padronizado nas normas internacionais.

As análises das concentrações de chumbo das amostras de solo coletadas em Bom Repouso/MG mostraram a presença de pequenas concentrações desse metal nos solos coletados na área de mata 2, área de mata 3 e área de morango 2, todas em concentrações bastante inferiores aos valores de referência estabelecidos pela CONAMA 420/2009 e CETESB (2005). Para as outras amostras de solo coletadas não foi verificada a presença desse metal.

Resende (2009) também não verificou presença desse metal em análises de amostras de água e sedimento coletadas em Bom Repouso/MG em janeiro e julho de

2008. Nas análises de amostras de solo de área de cultivo de batata, morango e área de mata coletadas em Bom Repouso em julho de 2005, Rodrigues (2007) não verificou concentrações de chumbo acima do valor estabelecido como valor de referência por CETESB (2001) e para as análises de percolado desses mesmos solos, as concentrações de chumbo verificadas também não ultrapassaram os limites estabelecidos pela CONAMA 357/2005.

Brigante et al (2003b), em análise das concentrações de chumbo presentes nos sedimentos coletados ao longo do Rio Mogi Guaçu, consideraram várias referências para análise dos resultados e verificaram que todos os pontos na região de Minas Gerais estariam impróprios para a manutenção da saúde do ecossistema de acordo com um dos critérios adotados; porém, a maioria dos sedimentos amostrados se enquadraria como não poluído se fosse adotado um outro parâmetro encontrado na literatura.

Neuhauser et al (1985) encontraram valores de LC_{50} de 5941 mg/kg para nitrato de chumbo em testes realizados com *Eisenia foetida*, sendo que Spurgeon, Hopkin e Jones (1994), em experimentos com a mesma espécie, encontraram valores de LC_{50} de 4480 mg/kg para nitrato de chumbo.

Em relação ao níquel foram verificadas concentrações deste metal na área de mata 3, nas três área de cultivo de batata e na área 1 de cultivo de morango, todas em concentrações inferiores aos valores de referência da CONAMA 420/2009 e CETESB (2005). Nas outras amostras não foi detectada a presença desse metal.

Brigante et al. (2003b), analisando o sedimento da região de montante da bacia hidrográfica do Rio Mogi-Guaçu encontraram concentrações de níquel que caracterizam os sedimentos como moderadamente poluídos de acordo com os critérios utilizados na pesquisa. Resende (2009), não verificou a presença de níquel em nenhuma amostra de água e sedimento coletados em janeiro e julho no ano de 2008 em diversos pontos do

município de Bom Repouso/MG. Em relação à toxicidade, Neuhauser et al (1985) encontraram valores de LC_{50} de 757 mg/kg para nitrato de níquel em testes realizados com *Eisenia foetida*.

Nesta pesquisa não foram detectadas concentrações de cobalto em nenhuma das amostras de solo coletadas em Bom Repouso. Brigante et al. (2003b), no entanto, verificaram concentrações de cobalto nas águas de todos os pontos de coleta realizados ao longo do Rio Mogi Guaçu, sendo que em determinado período de amostragem, cerca de 73% dos locais amostrados apresentaram concentrações de cobalto acima do limite estabelecido pela CONAMA 20/86, legislação vigente na época dessa pesquisa. Para as análises de sedimento, os autores também consideraram que 73% dos sedimentos amostrados se enquadrariam como contaminados por cobalto. Resende (2009), porém, não verificou a presença de cobalto nas amostras de sedimento e de água coletadas em Bom Repouso em julho de 2008.

Nas análises dos solos coletados nesta pesquisa, foram verificadas concentrações de manganês para todas as amostras de solo. Nas áreas de mata as concentrações desse metal variaram de 27,68 mg/kg (área de mata 3) a 43,15 mg/kg (área de mata 1), com valor médio de 34,17 mg/kg; as concentrações das áreas de cultivo de batata variaram de 20,43 mg/kg (área de batata 1) a 42,53 (área de batata 3), com valor médio de 29,25 mg/kg, sendo os menores valores verificados nas áreas de cultivo de morango, variando de 11,53 mg/kg (área de morango 3) a 20,23 mg/kg (área de morango 1), com valor médio de 14,56 mg/kg. A CONAMA 420/2009, assim como a CETESB (2005), não possuem estabelecidos valores orientadores para este metal.

Brigante et al (2003b) encontraram concentrações de manganês nas amostras de água coletadas ao longo do Rio Mogi Guaçu com grandes variações nos resultados, porém que não ultrapassaram os limites estabelecidos pela legislação vigente à época

(CONAMA 20/86). Além disso, os autores comentam que esse metal, por ser um micronutriente vital a animais e plantas, tem certa faixa de tolerância em águas doces, e apenas a ingestão em grandes doses pode causar doenças hepáticas. Porém, para as amostras de sedimento analisadas, os autores verificaram vários pontos que se enquadrariam como moderada e altamente poluídos segundo os critérios adotados.

Resende (2009), também não verificou a presença desse metal nas amostras de água coletadas em Bom Repouso em janeiro e julho de 2008. No entanto, para as análises de sedimento a autora verificou concentrações de manganês nos dois períodos de amostragem com grande variação das concentrações em cada ponto de coleta.

Rodrigues (2007), nas análises quanto à presença de manganês nas amostras de percolado de solos coletados em Bom Repouso em 2005, verificou a presença desse metal no percolado do solo de área de cultivo de batata, sendo que nos percolados de solos de área de mata e de cultivo de morango ele não foi detectado. Os valores não ultrapassaram os limites estabelecidos em legislação. Quanto às análises da presença de manganês nesses mesmos solos coletados, os resultados foram opostos aos verificados nessa pesquisa, já que nos solos de área de mata a autora verificou as menores concentrações deste metal, seguido dos solos de cultivo de morango, com as maiores concentrações nas das áreas de cultivo de batata.

O zinco foi detectado em todas as amostras de solo coletadas em Bom Repouso, em concentrações que variaram de 1,64 mg/kg (área de mata 3) a 4,98 mg/kg (área de batata 2), sendo que não pode-se dizer qual área (mata, batata ou morango) concentraram os maiores ou menores valores obtidos para as concentrações deste metal.

Na pesquisa realizada por Brigante et al (2003b), o sedimento coletado na nascente do Rio Mogi Guaçu (que se localiza em Bom Repouso), quanto a concentração de zinco encontrada, não foi considerado como não poluído pelos critérios adotados

pelos autores, porém, para as análises das amostras de água coletadas na nascente do Rio Mogi Guaçu, as concentrações desse metal estiveram acima do limite estabelecido pelo CONAMA.

Nas análises de solo de área de mata, área de cultivo de batata e área de cultivo de morango coletados em Bom Repouso em 2005, Rodrigues (2007) verificou concentrações de zinco que não ultrapassaram os valores de referência estabelecidos por CETESB (2001), assim como as concentrações deste metal verificadas no percolado desses mesmos solos também não ultrapassaram os valores estabelecidos pela Portaria 518/04 e CONAMA 357/05. Resende (2009) detectou concentrações de zinco nos sedimentos coletados em Bom Repouso em janeiro e julho de 2008 que o classificam como não poluído pelos critérios adotados pela autora, sendo que para as amostras de água coletadas, a autora verificou a presença do metal apenas em poucos pontos de coleta e em baixas concentrações.

Para a espécie *Eisenia foetida*, Neuhauser et al (1985) encontraram valores de LC_{50} de 662 mg/kg para nitrato de zinco. O valor de LC_{50} obtido nos experimentos de Spurgeon, Hopkin e Jones (1994) foram 1010 mg/kg para nitrato de zinco, sendo que Lukkari et al (2005) verificaram valor de LC_{50} de 439 mg/kg de zinco, ambos para a espécie *Eisenia foetida*.

O metal que foi encontrado em maiores concentrações nas amostras de solo coletadas para essa pesquisa foi o alumínio, com maiores valores obtidos nas áreas de mata. A CONAMA 420/2009 e a CETESB (2005) não tem estabelecidos valores orientadores para a concentração desse metal em solos, não permitindo uma comparação dos resultados com valores estabelecidos em legislação.

Resende (2009), em análise das concentrações de alumínio nas amostras de água coletadas em julho de 2008 em Bom Repouso, mesmo período das coletas realizadas

para esta pesquisa, não verificou a presença deste metal, porém, nas análises de sedimento coletados foram verificadas altas concentrações de alumínio (que variaram de 167,57 mg/kg a 4803,65 mg/kg), semelhante ao resultado das análises desta pesquisa. Essa grande concentração de alumínio verificada nas duas pesquisas pode estar associada ao tipo de solo predominante na bacia do rio Mogi-Guaçu (Latossolo Vermelho-Amarelo), que é bastante rico em alumínio (BARUQUI et al, 1985).

Gestel e Hoogerwerf (2001), avaliaram a influência do pH de solos artificiais (TAS) na toxicidade de alumínio sobre *Eisenia andrei*, testando os efeitos de toxicidade de diferentes sais de alumínio. Para óxido de alumínio, encontraram valores de LC_{50} maiores que 5000 mg/kg para todas as faixas de pH testadas (2,41, 3,35, 4,47 e 7,12). Para cloreto de alumínio obtiveram valores de LC_{50} de 359 mg/kg, para pH de 3,69 a 4,38, e valor maior que 1000 mg/kg para pH de 4,37 a 6,7. Os autores verificaram para sulfato de alumínio valores de LC_{50} maiores que 4000 mg/kg para as faixas de pH testadas (4,86 e 7,22) e valores de EC_{50} para efeitos na reprodução após 6 semanas de exposição de 529 mg/kg, (com pH de 4,3) e 291 mg/kg (com pH de 7,3).

Outro metal que foi encontrado em altas concentrações nos solos coletados em Bom Repouso, embora em concentrações menores que o alumínio, é o ferro. As maiores concentrações desse metal foram encontradas nas áreas de cultivo de morango, seguidas das áreas de cultivo de batata, com as menores concentrações nas áreas de mata. A CONAMA 420/2009 e CETESB (2005) também não possuem valores orientadores estabelecidos para este metal, o que dificulta a avaliação dos resultados obtidos. A cor vermelha indica a presença de óxidos de ferro e de solos bem drenados (BRAGA et al, 2005), o que era o caso dos solos de área de cultivo de batata e morango.

Brigante et al (2003b), citam que dentre os metais analisados em amostras de água e sedimento coletados ao longo do Rio Mogi Guaçu, o ferro foi o que ocorreu em

maiores concentrações na grande maioria dos períodos e pontos de coleta, algumas vezes ultrapassando os limites estabelecidos pelo CONAMA 20/86 para água. Os autores citam que o ferro, por ser um dos elementos mais abundantes da crosta, tem seus compostos presentes em todos os corpos d'água. Sperling (1998)[1], citado em Brigante et al (2003b), destaca que em regiões brasileiras, como em Minas Gerais, as águas apresentam naturalmente teores elevados de ferro, que podem inclusive superar os limites de potabilidade, em função das características geoquímicas das bacias de drenagem.

Rodrigues (2007) verificou concentrações de ferro em amostras de solo coletadas em Bom Repouso em 2005, sendo verificadas as menores concentrações para os solos das áreas de cultivo de morango, seguidos pelas áreas de mata e os maiores valores verificados para as áreas de cultivo de batata. As concentrações verificadas pela autora são um pouco menores do que as observadas nesta pesquisa. Para as análises dos percolados desses solos pela autora, o metal também foi verificado em maiores concentrações nos percolados do solo de morango, seguidos pelo de batata com as menores concentrações no percolado da área de mata. Resende (2009), nas análises de sedimentos coletados em janeiro e julho de 2008, em Bom Repouso, verificou altas concentrações de ferro, mas para as amostras de água a presença desse metal não foi verificada.

Da mesma forma como foi citado para o caso do alumínio, as altas concentrações de ferro verificadas nas pesquisas pode estar associada ao tipo de solo predominante na bacia do rio Mogi-Guaçu (Latossolo Vermelho-Amarelo), que além do alumínio, possui altos teores de óxidos de ferro, originados do substrato rochoso ferrífero (BARUQUI et al, 1985).

---

[1] SPERLING, E. V. Qualidade da água em atividades de mineração. In: DIAS, L. E.;VARGAS DE MELLO, J. W. Recuperação de áreas degradadas. Universidade Federal de Viçosa, Depto. de Solos, Sociedade Brasileira de Recuperação de Áreas Degradadas, Viçosa/MG, 1998. p. 95-105.

Sendo assim, pelos resultados das concentrações de metais presentes nas amostras de solo coletadas em Bom Repouso/MG verificou-se que em nenhum dos casos os valores ultrapassaram os valores orientadores estabelecidos por legislação brasileira. Em comparação com outras pesquisas realizadas no mesmo município, onde foram analisadas amostras de solos e seu percolado (RODRIGUES, 2007) e amostras de água e sedimento (RESENDE, 2009), verificou-se que, apesar de alguns metais terem sido detectados, as concentrações encontradas também não ultrapassam limites estabelecidos por legislações brasileiras vigentes, de forma similar ao observado no presente estudo. Situação contrária é mencionada por Brigante et al (2003b), em seu estudo ao longo do rio Mogi-Guaçu, incluindo áreas no município de Bom Repouso, o que demonstra os efeitos de outras atividades na bacia hidrográfica, notadamente em função das atividades industriais, monocultura de cana-de-açucar e lançamento de esgotos domésticos.

Esses resultados podem indicar que, apesar da intensa atividade agrícola no município de Bom Repouso/MG, a região ainda não se encontra criticamente contaminada por metais, quando se considera as concentrações obtidas em relação aos valores estabelecidos pelos órgãos ambientais. No entanto, deve-se considerar a característica de persistência dos metais em solos e sedimentos, a expansão da agricultura na região, o desmatamento e conseqüente redução da faixa de proteção dos recursos hídricos existentes, bem como a forma de utilização da água pela população local, que é direta, sem qualquer tratamento prévio, nem mesmo uma simples filtração.

Nas análises de agrotóxicos, considerando somente aqueles mais comumente analisados nos estudos ambientais, não foi verificada a presença de nenhum deles nas amostras dos solos coletados, com exceção de metalocloro, na concentração de 0,0116 mg/kg na área de morango 2 e, conforme citado anteriormente, existe grande

possibilidade de que esses compostos não estejam presentes ou estejam em concentrações muito baixas.

Para o princípio ativo Abamectina, sua presença foi verificada nas três áreas de mata e área de morango 3, e o carbofuran foi detectado na área de mata 1, área de batata 1 e área de morango 1. Esse resultado nas áreas de mata pode ter ocorrido devido ao fato de que, no município, é muito raro se encontrar uma área de mata totalmente preservada, pois toda a região está tomada pelas culturas e nas áreas onde há mata preservada normalmente também há culturas de morango ou batata estabelecidas ao redor das matas. Como os solos das áreas de cultivo são mais revolvidos, os agrotóxicos são mais rapidamente lixiviados, enquanto que nas áreas de mata o escoamento superficial é bem mais lento e os produtos acabam ficando retidos nesta área.

O Vertimec, produto comercial mais citado como utilizado pelos produtores do município de Bom Repouso (LIMA, 2006), é um acaricida/inseticida e possui como princípio ativo a Abamectina. Segundo o Sistema de Agrotóxicos Fitossanitários (AGROFIT) do *site* do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento, quanto à classificação ambiental, o Vertimec, é considerado muito perigoso ao meio ambiente (Classe Il) e quanto à classificação toxicológica é considerado como Classe III (medianamente tóxico – faixa azul). Informações do AGROFIT mostram que este é altamente persistente e tóxico para microcrustáceos e peixes.

Em experimentos desenvolvidos para avaliar efeitos tóxicos do produto, parcelas de solos foram contaminadas com o agrotóxico Vertimec 18EC®, e após simulação de chuva intensa, ensaios laboratoriais com amostras da água desse escoamento superficial foram realizadas por Zacharias (2008), que verificou para *Daphnia. similis* o valor de EC50;48h de 13,87% de *runoff,* que corresponde a 4,16µg/L. Para *Ceridaphnia dubia* o efeito foi letal, impedindo a reprodução do organismo e para *P. subcapitata* não foi verificado nenhum

efeito tóxico do produto. Em testes laboratoriais, a autora verificou para *D. similis* um valor muito menor de EC50;48h de Abamectina (0,71µg.L-1) do que obtido no *runoff.*

Nunes et al (2009), em ensaios ecotoxicológicos realizados com Vertimec® 18 EC, evidenciaram efeito agudo sobre minhocas *Eisenia andrei*, com $CL_{50,14\ dias}$ de 8,41 mg/kg, além da perda de biomassa dos organismos que relacionou-se diretamente com o aumento das concentrações do agrotóxico. No mesmo estudo, ensaios de evitamento mostraram que as minhocas evitaram os solos contaminados, com diferença significativa ($p< 0,05$) em relação ao controle, a partir da concentração correspondente a 1,75 mg/kg.

Decina (2009), avaliando os efeitos do Vertimec sobre a comunidade edáfica, verificou maiores índices de diversidade e riqueza para fauna edáfica no solo controle do que em solos tratados com Vertimec 18EC®, bem como menor índice de dominância, indicando a presença de um ecossistema mais equilibrado na ausência do agrotóxico.

Durante realização de coleta de solo realizada para esta pesquisa, o proprietário da área de cultivo de batata 3 citou ter aplicado carbofuran na área uma semana antes. Por esse motivo, optou-se por analisar a presença deste princípio ativo nas amostras de solo coletadas.

Em revisão apresentada por Eisler (1985), valores de CL_{50} para organismos aquáticos, em testes de 72 a 96 horas, estiveram entre 130 e 14000 ppb, sendo os peixes os organismos mais sensíveis. Caranguejos adultos tiveram efeitos deletérios no crescimento, sobrevivência e reprodução durante a exposição a 25 ppb de carbofuran durante 69 dias. Em aves, o efeito de carbofuran também é bastante tóxico, uma vez que concentrações de 1 ppm de carbofuran na água de consumo de patos causou sintomas de intoxicação, e 2 ppm foi letal para esses organismos. Mamíferos são mais resistentes que pássaros ao carbofuran, mas também sofrem efeitos tóxicos. Testes de toxicidade aguda via oral provocaram a morte de muitos ratos em concentrações de 2000 a 34500

ppb. Abelhas são organismos extremamente sensíveis ao carbofuran e, segundo o autor, a quantidade de carbofuran que é aplicado na lavoura (que é 1.12kg/ha, seguindo a dose recomendada pelo órgão do respectivo país) seria suficiente para provocar a morte de abelhas em apenas 2 segundos.

Ainda segundo o mesmo estudo, os sintomas característicos do carbofuran em minhocas são imobilidade, lesões, inchaços e inibição da colinesterase. Minhocas em solos onde são aplicados produtos comerciais com o princípio ativo do carbofuran têm desenvolvido dois tipos de lesões: inchaço dos segmentos, provocando úlceras e levando a morte, e o desenvolvimento de nódulos na superfície do corpo. O valor de CL_{50} foi de 13 ppm em 5 dias para a espécie *Eisenia foetida* e 5 ppm em 5 dias para a espécie *Lumbricus terrestries*, e essa diferença se deve provavelmente a maior taxa de excreção pela *E. foetida*. Além disso, algumas aplicações feitas em lavouras na Austrália provocaram a morte de grande quantidade de minhocas do local.

Silva, Pathiratne e Gestel (2010), avaliaram os efeitos de clorpirifós, mancozeb e carbofuran (princípio ativo e produto comercial) em minhocas *Perionyx excavatus,* espécie de clima tropical, em solo artificial, verificando-se que o carbofuran se mostrou o mais tóxico dos três. Para o princípio ativo e o produto formulado foram encontrados, respectivamente, valores de LC_{50} de 8 e 9 mg/kg, EC_{50} (reprodução) de 1.7 e 1 mg/kg e EC_{10} (reprodução) de 0,6 e 0,3 mg/kg.

Silva, Pathiratne e Gestel (2009), utilizando solo artificial, realizaram experimentos com *Eisenia andrei* e avaliaram os efeitos do carbofuran a esses organismos em diferentes temperaturas, encontrando valores de LC_{50} de 23,4 mg/kg, EC_{50} (reprodução) de 1,57 mg/kg e EC_{10} (reprodução) de 0,66 mg/kg à temperatura de 20ºC. À temperatura de 26ºC esses valores foram de 13,5, 1,25 e 0,53 mg/kg respectivamente.

Brigante et al (2003a) mencionam a ocorrência de organoclorados nos sedimentos como aldrin, transheptachlor, α-endosulfan, endrin, endrin-aldeído e 4,4-DDT, sendo muito deles utilizados em culturas de cana-de-açúcar, tomate, algodão, soja, citros, milho e olerícolas. Em relação aos organofosforados, os autores verificaram a presença de paration etil e metil em três nascentes do rio Mogi-Guaçu, na região de Bom Repouso.

Resende (2009), em análise de amostras de água coletas em Bom Repouso, não constatou a presença de agrotóxicos nas coletas realizadas em janeiro de 2008, já para as coletas realizadas em julho de 2008, mesmo período das coletas de solo desta pesquisa, a autora verificou a presença de alfa-BHC, aldrin, alfa-endosulfan, clordano, endrin, gama-BHC, metacloro e dieldrin. A autora comenta que as concentrações encontradas foram baixas e não ultrapassaram os limites estabelecidos em legislação pertinente, embora os organoclorados aldrin, endosulfan e BHC sejam proibidos para uso agropecuário no Brasil, pela Portaria 329/85 do Ministério da Agricultura. Para o sedimento coletado em julho de 2008, a autora verificou a presença de Abamectina em 3 pontos de amostragem.

Rodrigues (2007), em análise de amostras de solo coletadas em Bom Repouso, detectou concentrações de heptacloro, gama-BHC, aldrin, heptacloro epóxido, endosulfan II, endosulfan sulfato, paration, acefato e clorpirifós no solo de área de mata. No solo de cultivo de batata encontrou concentrações de heptacloro, gama-BHC, aldrin, heptacloro epóxido e endosulfan I, endosulfan II e paration. Para o solo de cultivo de morango foram verificadas concentrações de heptacloro, aldrin, heptacloro epóxido e endosulfan I, sendo que os compostos para os quais havia valores de referência estabelecidos as concentrações encontradas não os ultrapassaram. Nas análises de percolado desses mesmos solos, a autora encontrou beta-BHC, delta-BHC, heptacloro, epóxido, 4,4-DDD, endosulfan II, paration, acefato e clorpirifós para percolado de área de mata; alfa-BHC, beta-BHC, delta-BHC,

gama-BHC, heptacloro, aldrin, heptcloro epóxido, endrin e clorpirifós para percolado de área de cultivo de batata; e delta-BHC, heptacloro, gama-BHC, aldrin, endosulfan II, paration, acetfato e clorpirifós para percolado de área de cultivo de morango. As concentrações desses compostos no percolado não ultrapassaram os valores estabelecidos em legislação, apenas uma das concentrações de aldrin esteve acima do permitido. A autora constatou nas amostras de solo coletadas maior presença de agrotóxicos do que as verificadas na presente pesquisa. Mesmo assim, ressalta-se que nas duas pesquisas foi verificada concentração de agrotóxicos não somente nas áreas de cultivo, mas principalmente nas áreas de mata, o que caracteriza um problema adicional em relação aos efeitos deletérios que esses produtos estão causando na biota local.

Agrotóxicos possuem propriedades como coeficiente de adsorção à matéria orgânica, meia-vida e solubilidade (GOSS, 1992). Essas propriedades se associam ao fato de que nos solos ocorrem diversas reações que influenciam o transporte dos agrotóxicos, como a hidrólise, a fotodegradação, a ionização e a oxidação, destacando-se a influência da água no solo, a qual é um excelente solvente para vários compostos e o mais importante agente de transporte de compostos presentes no solo (FAY e SILVA, 2004), ou seja, a presença de agrotóxicos constatada nas áreas de mata provavelmente se deve aos processos físicos e químicos que normalmente ocorrem e influenciam a dinâmica dos agrotóxicos nos solos.

Por outro lado é muito difícil encontrar em Bom Repouso área de mata preservada que esteja distante de áreas de cultivo, pois estas últimas dominam praticamente toda a zona rural do município. Bom Repouso se localizada em região de serra com elevadas altitudes e acentuada declividade (ESPÍNDOLA; BRIGANTE e ELER, 2003). Associada a essa característica destaca-se o fenômeno da lixiviação, já que praticamente todas as áreas de cultivo onde as coletas de solo foram realizadas tinham alta declividade. Entre os agrotóxicos analisados nesta pesquisa, é provável que

processos como volatilização, lixiviação e degradação tenham influenciado as baixas concentrações de agrotóxicos verificadas, apesar do intenso uso desses produtos no município de Bom Repouso.

Dentro desse contexto, e de acordo com Lima (2006), deve-se mencionar o fato de que os agricultores do município citaram o uso de mais de 80 diferentes agrotóxicos, entre eles Vertimec, Amistar, Score, Gramoxone Aminosan, Cercobin, Frowncide, Manzate, entre outros, sendo que nas amostras de solos coletadas nesta pesquisa não foram analisadas a presença de todos esses produtos citados. De acordo a autora, com dados do Sistema de Agrotóxicos Fitossanitários (AGROFIT) do *site* do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento, entre os 15 produtos mais citados 8% são considerados extremamente tóxicos, 31% altamente tóxicos, 38% medianamente tóxicos e 23 % pouco tóxicos de acordo com a classificação toxicológica dos produtos. Quanto à periculosidade ambiental, 9% são considerados altamente perigosos, 55% muito perigosos e 36% perigosos. Desta forma, existe a possibilidade de que outros compostos tóxicos estivessem presentes nos solos coletados, mas que não foram detectados nas análises efetuadas. Associa-se a isso, o tempo de permanência desses produtos no solo ou água.

Sobre os resultados dos testes ecotoxicológicos realizados com *Eisenia andrei*, verificou-se não haver toxicidade aguda para esses organismos quando expostos às amostras de solo coletadas em Bom Repouso. De acordo com os resultados obtidos, em alguns solos, inclusive no TAS que era o solo controle do teste, foi verificada mortalidade de apenas 2,5% dos organismos, e apenas a área de cultivo de batata 3 apresentou 5% de mortalidade. Esses valores, no entanto, são aceitáveis inclusive para os recipientes controle, já que, de acordo com as normas internacionais padronizadas para este teste, é admitida até 10% de mortalidade para os recipientes controle, portanto,

os reduzidos valores de mortalidade podem não caracterizar toxicidade aguda desses solos para os organismos teste.

Pelos resultados dos testes de evitamento apresentados, verificou-se que, em geral, houve o evitamento pelas minhocas aos solos das áreas de cultivo, com exceção da área de cultivo de batata 3 e da área de cultivo de morango 1. Porém, baseando-se nas concentrações de metais e agrotóxicos que foram analisados, esse evitamento não pode ser atribuído apenas à presença desses contaminantes, uma vez que na área de mata 1, pela qual os organismos teste mostraram preferência, foi obtida maior concentração de agrotóxicos (abamectina e carbofuran) em relação aos solos que foram evitados. Isso não significa a inexistência de outros fatores físicos ou químicos nos solos das áreas de cultivo que pudessem causar certa toxicidade aos organismos, mas sim que, diante dos resultados obtidos, o evitamento dos organismos não ocorreu somente pela presença dos agrotóxicos que foram analisados nesta pesquisa.

Deve-se mencionar ainda que, mesmo buscando a maior proximidade entre os solos, não pode ser desconsiderado o fato de que em cada recipiente os dois solos não fossem o mesmo, pois eram de locais diferentes dentro do mesmo município. Desta forma, existe a possibilidade de que o evitamento realmente tenha ocorrido pelo fato de os organismos terem detectado a presença de contaminantes nos solos das áreas de cultivo e fugido para o solo da área de mata, como também há a possibilidade de que eles tenham feito essa diferenciação pelas características físicas e químicas dos solos, e não por terem detectado a presença de contaminantes. Uma das características que pode ter influenciado nos resultados é a porcentagem de matéria orgânica na área de mata 1, a qual era superior à porcentagem de matéria orgânica dos solos de cultivo de batata e morango.

Em pesquisa realizada por Kuperman et al (2009), é discutida essa questão da influência das propriedades físicas e químicas dos solos nos resultados dos testes ecotoxicológicos terrestres. Os autores comentam o fato de que muitas vezes, para realização dos testes, são necessários solos de referência para controle ou para diluição de outros solos contaminados, salientando a grande dificuldade de se conseguir solos naturais não contaminados e com características físicas e químicas semelhantes ao solo teste. Ainda segundo os mesmos autores, na Europa diversos pesquisadores de toda União Européia determinaram locais com solos de referência para serem utilizados em testes ecotoxicológicos terrestres, são os chamados EUROSOILS, os quais são freqüentemente atualizados com o objetivo de conseguir padronizar solos de todas as regiões da Europa. A mesma iniciativa foi realizada no Canadá e no Brasil, porém, apenas para a região amazônica.

Natal da Luz, Römbke e Sousa (2008) avaliaram as influências das propriedades do solo, utilizando várias formulações de solo artificial, em *Folsomia candida* e *Eisenia andrei*, e verificaram que as propriedades do solo afetaram significativamente o comportamento dos organismos, que evitaram solos arenosos e com menos matéria orgânica. Ressaltam-se, assim, os problemas encontrados em diversas pesquisas no que se refere aos testes de evitamento conforme discutido em item anterior.

Quanto à perda de peso, essa não pôde ser atribuída como efeito subletal aos organismos teste, conforme já discutido anteriormente. Como a perda de peso foi elevada em todas as amostras, inclusive no controle, e não houve diferença significativa para nenhuma delas (teste de toxicidade crônica ou aguda), é provável que ela tenha ocorrido devido à grande diferença de disponibilidade de alimento entre o cultivo e os testes. Além disso, conforme discutido no início dessa sessão, verificou-se que a perda de peso se relacionou diretamente à porcentagem de matéria orgânica de cada solo teste,

considerando-se que em recipientes onde ocorreu mortalidade esse valor sofreu um impacto maior. Sendo assim, tanto para o teste agudo quanto para o teste de toxicidade crônica, a perda de peso verificada não pode ser considerada como efeito subletal de contaminantes presentes nos solos teste.

Quanto aos efeitos sobre a reprodução dos organismos, segundo análise estatística realizada, verificou-se que não houve diferença significativa em relação ao controle para a maior parte dos solos testados, incluindo área de mata 1, área de batata 1, área de batata 2, e nas três áreas de cultivo de morango. Porém, constatou-se diferença significativa na reprodução dos organismos da área de mata 2, área de mata 3 e área de batata 3, quando comparados com o grupo controle, e diferença significativa para a área de mata 3 e o TAS comparando o número de juvenis entre os tratamentos. Existe a possibilidade de que estes resultados tenham sido influenciados por efeitos de toxicidade de agrotóxicos presentes nas amostras de solo que não foram analisados por esta pesquisa, já que para os agrotóxicos que foram analisados as poucas concentrações verificadas foram relativamente baixas. Pelos resultados das análises de metais realizadas, também é possível de que os efeitos na reprodução verificados nas áreas de mata 2 e 3 tenham sido influenciadas pelas altas concentrações de alumínio verificadas nesses solos (2382,32 mg/kg e 3386,05 mg/kg respectivamente), que foram as mais altas encontradas. Gestel e Hoogerwerf (2001),por exemplo, realizaram testes agudo e crônico com a espécie *Eisenia andrei*, utilizando solo artificial (TAS) para verificar os efeitos de sais de alumínio sobre esses organismos. Os autores obtiveram, para sulfato de alumínio, valores de EC_{50} de 529 mg/kg, com pH de 4,3, e de 291 mg/kg, com pH de 7,3, com efeitos na reprodução após 6 semanas de exposição

Esses valores são inferiores ou próximos a todas as concentrações de alumínio verificadas nos solos coletados em Bom Repouso, o que teoricamente significaria um

efeito na reprodução para todos os solos testados; porém, ressalta-se que as condições de realização dos testes foram diferentes, como o tempo de exposição e, principalmente, o solo utilizado, pois, conforme mencionado por Smit e Van Gestel (1996)[2] e Spurgeon e Hopkin (1996)[3], citados em Spurgeon, Weeks e Gestel (2003), a biodisponibilidade dos contaminantes é bem maior quando se utiliza solo artificial e o contaminante é adicionado a ele para realização dos testes, do que quando se analisa concentrações de determinados compostos em solos naturais coletados em campo. O terceiro Encontro Internacional de Ecotoxicologia de minhocas discutiu que, em testes de toxicidade que utilizam solo artificial, a biodisponibilidade de poluentes é maior do que quando os solos são coletados em áreas naturais contaminadas (SPURGEON; WEEKS e GESTEL, 2003). Há também o fato de que na pesquisa de Gestel e Hoogerwerf (2001) foi usado sulfato de alumínio, e não se sabe qual a forma de alumínio estava presente nos solos coletados em Bom Repouso. Por essas razões, pode-se associar as altas concentrações de alumínio nas áreas de mata 2 e 3 aos efeitos verificados na reprodução dos organismos destes solos, embora os valores de EC_{50} observados em literatura não possam ser diretamente comparados às concentrações deste metal verificadas nesta pesquisa.

Ressalta-se também o fato dos problemas que foram verificados nos solos de área de mata 2 e 3 quando do ajuste de umidade desses solos. As minhocas são organismos extremamente sensíveis à umidade, e conforme já discutido anteriormente, o problema de ajuste de umidade verificado para esses solos também pode ter influenciado os resultados de reprodução.

---

[2] SMIT, C. E.; GESTEL, C. A. M. V. Comparison of the toxixity of zinc for the springtail *Folsomia candida* in artificially contaminated and polluted field soils. Appl. Soil Ecol, v. 3, p. 127-136, 1996.

[3] SPURGEON, D. J.; HOPKIN, S. P. Effects of metal-contaminated soils on the growth, sexual development, and early cocoon production of the earthworm *Eisenia fetida*, with particular reference to zinc. Ecotoxicology and Environmental Safety, v. 35, p. 86–95, 1996.

Mas além dessas duas amostras de solo de área de mata que tiveram efeito sobre a reprodução dos organismos, o solo de área de cultivo de batata 3 também apresentou efeitos sobre a reprodução dos organismos, o que talvez esteja relacionado ao baixo pH do solo. Kuperman et al (2009) citam diversos trabalhos que mostraram as influências das propriedades físicas e químicas dos solos sobre os resultados dos testes de toxicidade, incluindo o pH. No trabalho de Gestel e Hoogerwerf (2001), inclusive, os autores verificaram os efeitos do alumínio na reprodução de *Eisenia andrei* em função da variação do pH, o que fez os autores concluírem que o pH altera negativamente os resultados do testes de reprodução, porém, não conseguiram estabelecer uma relação de aumento ou diminuição do pH com o aumento ou diminuição na reprodução. Römbke et al (2006), estudaram as influências das propriedades de solos naturais em *Folsomia candida* e *Eisenia andrei*, e verificaram que a reprodução das espécies testadas foi influenciada por propriedades do solo como textura, porcentagem de matéria orgânica e pH.

Segundo as normas internacionais padronizadas para os testes, o pH ideal para os testes é 6,0 ± 0,5, e pelos resultados das análises do pH dos solos, o que mais se distanciou desse valor foi exatamente o solo de área de batata 3. Pode-se observar que, em geral, para os solos com pH mais próximos da faixa definida pelas normas internacionais (embora nem todos dentro dessa faixa), verificou-se maior número de juvenis no teste de reprodução (área de mata 1, área de batata 2, área de morango 1, 2 e 3), e quanto menores os valores do pH e mais distantes da faixa definida nas normas internacionais, menor foi o número de juvenis (área de mata 2, área de mata 3, área de batata 1 e área de batata 3). Desta forma, verifica-se que o pH dos solos influenciou os resultados do teste de reprodução, ressaltando-se que não foi o único fator que exerceu essa influência.

Em suma, para a área de cultivo de batata 3, é provável que o pH do solo, o mais baixo verificado, tenha influenciado o número de juvenis do teste de reprodução. Para a área de cultivo de batata 1, o número de juvenis não foi tão reduzido para resultar em uma diferença significativa em relação ao controle, mas houve um número menor de indivíduos do que nos outros solos, o que também pode ser atribuído ao valor do pH do solo. Já para as áreas de mata 2 e 3, a redução do número de juvenis no teste de reprodução, quando comparada ao controle, pode ser atribuída ao baixo pH dos solos, aos problemas associados ao ajuste de umidade desses solos e à elevada concentração de alumínio presente. Porém, ressalta-se que altas concentrações desse metal são características de solos de Minas Gerais (BARUQUI et al, 1985) conforme discutido anteriormente.

Esses resultados vão de encontro ao que foi discutido no item anterior referente à aplicabilidade dos testes ecotoxicológicos padronizados para análises de solos contaminados. Se o objetivo é avaliar os efeitos ecotoxicológicos do solo aos organismos teste, os parâmetros físicos e químicos do solo teste não podem ser todos manipulados em laboratório porque não representarão a real situação do local. Por outro lado, a maior influência das propriedades dos solos nos resultados dos testes também poderá influenciar nos resultados de testes ecotoxicológicos e, conseqüentemente, na avaliação dos efeitos dos contaminantes nos organismos teste.

Rodrigues (2007), em ensaios ecotoxicológicos com *Danio rerio* (Cypriniformes, Cyprinidae) submetidos ao percolado proveniente de solos da área de mata, da cultura de morango e da cultura de batata, coletados em Bom Repouso, não verificou efeitos sobre a sobrevivência dos organismos a curto prazo, porém, verificou efeitos subtletais, com alterações no crescimento, na proliferação celular, deslocamento

de epitélio, dilatação de capilares, aneurismas e fusão de lamelas nas análises histológicas das brânquias.

Em coletas de água realizadas na zona rural do município de Bom Repouso em julho de 2008, mesmo período das coletas de solo da presente pesquisa, Resende (2009) observou efeito tóxico agudo em duas amostras e indício de toxicidade, devido à imobilidade de neonatos de *Ceriodaphnia silvestri,* em 36% das amostras. Quanto à análise de toxicidade crônica, 76% das amostras coletadas apresentaram efeito tóxico significativo no organismo-teste, no que se refere à sua reprodução.

Estudos ecotoxicológicos desenvolvidos por Espíndola, Brigante e Dornfeld (2003), utilizando diversos organismos com amostras de água e sedimento coletados ao longo do Rio Mogi Guaçu, demonstraram efeitos agudos ou crônicos, dependendo da área, amostra testada (água e sedimento) e período de amostragem. Na região das nascentes, que inclui o município de Bom Repouso, verificou-se indícios de toxicidade para amostras de água utilizando *D. similis* e *C. dubia*. Efeitos agudos, com mortalidade de até 100% dos organismos testes, foram encontrados nos testes com amostras de sedimento dos mesmos locais. Deve-se mencionar que na região de nascentes (do rio do Peixe, Espraiado e Mogi-Guaçu), ocorreu indício de toxicidade ou toxicidade aguda em pelos menos dois meses de coleta (dos quatro realizados), considerando um ou dois organismos-teste.

Considerando os pontos abordados nessa discussão, reconhece-se que as análises realizadas não permitem atestar a contaminação dos solos, agricultáveis (morango e batata) ou não, no município de Bom Repouso. Tal fato se baseia nas concentrações de metais e agrotóxicos do solo, em geral abaixo dos valores estabelecidos para prevenção ou intervenção, e na dificuldade de se estabelecer relações provenientes dos testes de toxicidade com as características dos solos amostrados, ainda mais em função dos

resultados obtidos em área de mata preservada, que seria considerada um solo controle na região.

No entanto, a não indicação de não contaminação do solo baseada em valores orientadores pode não refletir a realidade local, quer seja pelas características químicas dos produtos utilizados de forma intensiva no local ou mesmo pela deficiência das análises químicas, não englobando diversos agrotóxicos que são utilizados de forma intensiva na região. Aliado a isso, o fato dos valores obtidos estarem abaixo dos limites estabelecidos não significa que não existam efeitos deletérios às comunidades biológicas, uma vez que as respostas dos organismos são diferenciadas não somente em função das espécies, mas também pelo estágio de vida e estado nutricional, entre outros fatores que contribuem para a toxicidade.

Outro fator importante a ser mencionado é que a expansão das atividades agrícolas na região, incluindo a produção de batata e morango, é fato concreto e irreversível em curto e médio prazo, estabelecendo novas fronteiras de perigo que incluem não somente os riscos associados ao desmatamento, ao uso de agrotóxicos e a contaminação ambiental, mas também aqueles associados aos aspectos sociais, como a saúde do trabalhador rural e a desagregação da produção familiar.

6. CONSIDERAÇÕES FINAIS

Em relação aos impactos decorrentes das atividades agrícolas em Bom Repouso/MG, pode-se dizer que estes existem, já que, mesmo que em baixas concentrações, os agrotóxicos foram verificados em solos coletados em área de mata preservada, o que indica que os produtos aplicados nas lavouras estão atingindo locais fora de seus alvos. Além disso, como o uso de agrotóxicos no município é intenso,

outros agrotóxicos, não verificados nesta pesquisa, podem estar presentes nos solos da região. Ressalta-se que as propriedades físicas e químicas dos solos influenciaram os resultados dos testes ecotoxicológicos realizados, principalmente o teste de toxicidade crônica.

Porém, pelos testes de toxicidade realizados nesta pesquisa, não é possível concluir que a toxicidade é elevada, pois talvez as características físicas de Bom Repouso, como as altas declividades, contribuam para que os contaminantes não permaneçam nos solos do município e sejam carreados, transportando-os para áreas a jusante do local onde foram aplicados. Mesmo assim, o uso de agrotóxicos é intenso e a saúde da população diretamente exposta pode estar sendo afetada, considerando outros estudos realizados no local que verificaram a presença de alguns contaminantes, bem como efeitos tóxicos com amostras ambientais coletadas no município. Nesse sentido, sugere-se a realização de uma avaliação de risco para o município integrando dados de solo, água e sedimento, além de efeitos sobre a saúde dos agricultores, de modo a obter uma visão integrada de todos os meios de exposição e da sinergia dos contaminantes presentes.

Sobre os testes ecotoxicológicos com organismos terrestres (especificamente para as minhocas), padronizados internacionalmente, conclui-se que ainda é necessária a padronização dos mesmos com melhor avaliação de itens, como a perda de peso dos organismos devido à disponibilidade alimentar durante a realização dos testes agudos ou mesmo pela diferença do alimento entre o cultivo e os solos-teste, fatores que, influenciando a perda de peso, não permitem que este *endpoint* seja utilizado para avaliação de efeitos subletais. Também é importante que sejam considerados os ajustes de umidade dos solos naturais; o elevado tempo de duração dos testes, principalmente do teste de toxicidade crônica; as elevadas concentrações de contaminantes que são

necessárias para obter resultados de toxicidade nos testes agudos; a efetividade dos testes de evitamento para algumas substâncias; a grande influência das propriedades físicas e químicas dos solos sobre os resultados dos testes e, conseqüentemente, sobre a avaliação dos efeitos ecotoxicológicos de contaminantes presentes nos solos; e por fim, em razão do exposto, a efetividade da aplicação destes testes às análises de amostras de solo naturais contaminadas. Como as pesquisas realizadas, em geral, ainda estão focadas em discussões acerca dos parâmetros dos testes e não apenas nos resultados obtidos com eles, tornam-se necessários mais estudos sobre os diferentes métodos existentes e suas aplicações em diferentes locais.

7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ADAMS, W. J. Aquatic toxicology testing methods. In: HOFFMAN, D. J.; RATTNER, B. A.; BURTON, G. L.; CAIRNS, J. **Handbook of ecotoxicology**. Boca Raton, Lewis Publishers, 1995. Cap. 13, p. 25-46.

AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA. Reavaliação de agrotóxicos: 10 anos de proteção à população. **Notícias da ANVISA**, 02 abr. 2009a. Disponível em: http://www.anvisa.gov.br/divulga/noticias/2009/020409.htm. Acesso em: 15 outubro 2009.

AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA. **Nota Técnica para divulgação dos resultados do PARA de 2008**. Brasília, 15 abr. 2009b. 12 p. Disponível em: http://portal.anvisa.gov.br/wps/portal/anvisa/home/agrotoxicotoxicologia. Acesso em 20 fevereiro 2010.

AGROFIT. **Sistema de Agrotóxicos Fitossanitários do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento**. Disponível em: http://extranet.agricultura.gov.br/agrofit_cons/principal_agrofit_cons. Acesso em: maio de 2010.

ALVES, M. R. **Influência da incorporação de resíduos orgânicos a um latossolo vermelho amarelo e a ação das minhocas como agentes de descontaminação**

ambiental. 2002. 150 f. Tese (Doutorado em Química Analítica) – Instituto de Química de São Carlos, Universidade de São Saulo, São Carlos, 2002.

AMERICAN PUBLIC HEALTH ASSOCIATION (APHA); AMERICAN WATER WORK ASSOCIATION; WATER CONTROL FEDERATION. Standard **Methods for the Examination of Water and Wastewater**. 19 ed. New York, 1995. 1268 p.

ANDERSEN, J. M. Na ignition method for determination of total phosphorus in lake sediments. **Water Research**, v. 10, p. 329 – 331. 1976.

ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS. **Análise Granulométrica de Solos**. Rio de Janeiro, 1968.

ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS. **NBR 15537**: Ecotoxicologia terrestre – Ecotoxicidade aguda – método de ensaio com minhocas, 2007. 11 p.

BARUQUI, F. M.; RESENDE, M.; FIGUEIREDO, M. S. Causas da degradação e possibilidades de recuperação das pastagens em Minas (Zona da Mata e Rio Doce). 1985. **Informe Agropecuário**, v. 11, p. 128.

BORALI, M. P. **Eficiência da vermicompostagem para um composto de lixo orgânico urbano consorciado com resíduo do processamento de derivados de carne de bovinos e suínos, enriquecidos com fertilizantes minerais**. 2000. 165 f. Dissertação (Mestrado em Ciências da Engenharia Ambiental) – Escola de Engenharia de São Carlos, Universidade de São Paulo, São Carlos, 2000.

BRAGA, B.; HESPANHOL, I.; CONEJO, J. G. L.; MIERZWA, J. C.; BARROS, M. T. L.; SPENCER, M.; PORTO, M.; NUCCI, N.; JULIANO, N.; EIGER, S. **Introdução à Engenharia Ambiental**. São Paulo: Pearson Prentice Hall, 2005. Cap 9, p. 125 – 159.

BRASIL. Ministério da Agricultura. **Portaria n. 329**, de 02 de setembro de 1985. Proíbe, em todo território nacional, a comercialização, o uso e a distribuição de alguns produtos agrotóxicos organoclorados destinados à agropecuária. Diário Oficial da União, Brasília, DF, 03 set. 1985.

BRASIL. **Lei nº 7.802**, de 11 de julho de 1989. Dispõe sobre a pesquisa, a experimentação, a produção, a embalagem e rotulagem, o transporte, o armazenamento, a comercialização, a propaganda comercial, a utilização, a importação, a exportação, o destino final dos resíduos e embalagens, o registro, a classificação, o controle, a inspeção e a fiscalização de agrotóxicos, seus

componentes e afins, e dá outras providências. Diário Oficial da União, Brasília, DF, 12 jul. 1989.

BRASIL. Ministério da Saúde. **Portaria n. 518**, de 24 de março de 2004. Estabelece os procedimentos e responsabilidades relativas ao controle e vigilância da qualidade da água para consumo humano e seu padrão de potabilidade, e dá outras providências relacionadas a sistemas alternativos de abastecimento. Diário Oficial da União, Brasília, DF, 26 mar. 2004.

BRASIL. Conselho Nacional do Meio Ambiente. **Resolução Conama n. 357**, de 18 de março de 2005. Dispõe sobre padrão de qualidade de água e emissão de poluentes. Diário Oficial da União, Brasília, DF, 18 mar. 2005.

BRASIL. Conselho Nacional do Meio Ambiente. **Resolução n. 420**, de 28 de dezembro de 2009. Dispõe sobre critérios e valores orientadores de qualidade do solo quanto a presença de substâncias químicas e estabelece diretrizes para o gerenciamento ambiental de áreas contaminadas por essas substâncias em decorrência de atividades antrópicas. Diário Oficial da União, Brasília, DF, 30 dez. 2009.

BRIGANTE, J. ESPÍNDOLA, E. L. G. (Eds.) **Limnologia Fluvial:** um estudo no rio Mogi-Guaçu. São Carlos: RiMa Editora, 2003. 255 p.

BRIGANTE, J.; MERENGO, M. C.; ESPINDOLA, E. L. G.; VIEIRA. Praguicidas no sedimento do rio Mogi-Guaçu. In: BRIGANTE, J.; ESPINDOLA, E. L. G. (Eds.) **Limnologia Fluvial**: Um estudo no Rio Mogi-Guaçu. São Carlos: RiMa Editora, 2003a. cap. 7. p. 121-128.

BRIGANTE, J.; SILVA, M. R. C.; QUEIROZ, L. A.; COPPI, E. Quantificação de metais na água e no sedimento do rio Mogi-Guaçu. In: BRIGANTE, J.; ESPINDOLA, E. L. G. (Eds.) **Limnologia Fluvial**: Um estudo no Rio Mogi-Guaçu. 1. ed. São Carlos: RiMa Editora, 2003b. cap. 6, p. 85-120.

COMPANHIA DE TECNOLOGIA DE SANEAMENTO AMBIENTAL. **Solo**: teste de toxicidade com Eisenia foetida (minhocas): método de ensaio. Norma Técnica L6.401. São Paulo: Cetesb. 1990. 13 p.

COMPANHIA DE TECNOLOGIA DE SANEAMENTO AMBIENTAL. **Decisão de Diretoria nº. 195-2005-E**, de 23 de novembro de 2005. Dispõe sobre a aprovação dos Valores Orientadores para Solos e Águas Subterrâneas no Estado de São Paulo – 2005, em substituição aos Valores Orientadores de 2001, e dá outras providências. São Paulo: CETESB, 2005. 4 p.

CUNHA, G. de P. Q. **Caracterização ambiental da região de montante do rio Mogi-Guaçu (Bom Repouso, MG): estratégia para replicabilidade e diretrizes para elaboração do plano de adequação ambiental**. 2009. 232 f. Tese (Doutorado em Ciências da Engenharia Ambiental). Escola de Engenharia de São Carlos, Universidade de São Paulo, São Carlos, 2009.

DAROLT, M. R. **Morango**: sistema orgânico apresenta viabilidade técnica, econômica e ecológica. 2001. Disponível em: <http://www.planetaorganico.com.br/darmorang.htm>. Acesso em: 17 nov. 2004.

DECINA, T. G. T. **Avaliação do efeito não-alvo do insetisida/acaricida Vertimec® 18 CE sobre a comunidade edáfica**. 2009. 60 f. Monografia do curso de Graduação em Engenharia Ambiental - Escola de Engenharia de São Carlos, Universidade de São Paulo, São Carlos, 2009.

DOMINGUEZ, J.; VELANDO, A.; FERREIRO, A. Are Eisenia fétida (Savigny, 1826) and Eisenia andrei Bouché (1972) (Oligochaeta, Lumbricidae) different biological species? **Pedobiologia**. n. 49, p. 81-87, 2005.

DORNFELD, C. B. **Utilização de Chironomus sp (Díptera, Chironomidae) para avaliação da qualidade de sedimentos e contaminação por metais**. EESC/USP. 2006. Tese (Doutorado). Escola de Engenharia de São Carlos, Universidade de São Paulo, São Carlos, 2006.

EISLER, R. Carbofuran harzards to fish wildlife and invertebrates: a synoptic review. **Biological Report**, 1985. 23 p. Disponível em: www.pwrc.usgs.gov/infobase/eisler/chr_14_lead.pdf. Acesso em: 23 janeiro 2010.

ESPÍNDOLA, E. L. G.; BRIGANTE, J.; DORNFELD, C. B. Estudos ecotoxicológicos no Rio Mogi-Guaçu. In: BRIGANTE, J.; ESPINDOLA, E. L. G. (Eds.) **Limnologia Fluvial**: Um estudo no Rio Mogi-Guaçu. 1. ed. São Carlos: RiMa Editora, 2003. cap. 3, p. 129-148.

ESPÍNDOLA, E. L. G.; BRIGANTE, J.; ELER, M. E. Avaliação ambiental preliminar do uso e ocupação do solo da bacia hidrográfica do Rio Mogi-Guaçu. In: BRIGANTE, J.; ESPINDOLA, E. L. G. (Eds.) **Limnologia Fluvial**: Um estudo no Rio Mogi-Guaçu. 1. ed. São Carlos: RiMa Editora, 2003. cap. 3, p. 28-37.

FAY, E. F. SILVA C. M. M. de S. Comportamento e destino de agrotóxicos no ambiente solo-água. In: SILVA, C. M. de S. FAY, E. F. (Eds. Técs.) **Agrotóxicos e ambiente**. Brasília: Embrapa Informação Tecnológica, 2004. p. 108-143.

GARCIA, M. **Effects of pesticides on soil fauna: development of ecotoxicological test methods for tropical regions**. 2004. 291 f. Tese (Doutorado) – Hohen Landwirtschaftlichen Fakultät, Universidade de Bonn, 2004.

GARCIA, M.; RÖMBKE, J.; BRITO, M. T.; SCHEFFCZYK, A. Effects of three pesticides on the avoidance behavior of earthworms in laboratory tests performed under temperate and tropical conditions. **Environmental Pollution**, v. 153, p. 450 – 456, 2008.

GESTEL, C. A. M. V.; DIS, W. A. V.; BREEMEN, E. M. D.; SPARENBURG, P. M.; BAERSELMAN, R. Influence of cadmium, copper and pentachlorophenol on growth and sexual development of Eisenia Andrei (Oligochaeta; Annelida). **Biology and Fertility of Soil**, v. 12, p. 117 – 121, 1991.

GESTEL, C. A. M. V.; HOOGERWERF, G. Influence of soil pH on the toxicity of aluminium for Eisenia Andrei (Oligochaeta: Lumbricidae) in an artificial soil substrate. **Pedobiologia**, v. 45, p. 385 – 395, 2001.

GLIESSMAN, S. R. **Agroecologia**: processos ecológicos em agricultura sustentável. 2ª. Ed. Porto Alegre: Editora da Universidade UFRGS, 2001. 653p.

GOSS, D. W. Screening procedure for soils and pesticides for potencial water quality impacts. **Weed Technology**, v. 6, p. 701 – 708, 1992.

HOFFMAN, J. et. al. Wildlife toxicity testing. In: HOFFMAN, D. J.; RATTNER, B. A.; BURTON, G. L.; CAIRNS, J. **Handbook of ecotoxicology**. Boca Raton, Lewis Publishers, 1995. cap 4, p.47-69.

INTERNATIONAL ORGANIZATION STANDARDIZATION. **ISO/DIS 11268-1 - Soil Quality**: effects of polluants on earthworms (Eisenis fetida). Part 1: Determination of acute toxicity using soil substrate. Genebra: ISO. 1993.

INTERNATIONAL ORGANIZATION STANDARDIZATION. **ISO/DIS 11268-2 - Soil Quality**: effects of polluants on earthworms (Eisenis fetida). Part 2: Determination of effects on reproduction. Genebra: ISO. 1998.

INTERNATIONAL ORGANIZATION STANDARDIZATION. **ISO/DIS 15799 – Draft Internacional Standard. Soil Quality** - Guidance on the ecotoxicological characterization of soils and soil materials. Genebra: ISO. 2001. 30 p.

INTERNATIONAL ORGANIZATION STANDARDIZATION. **ISO/DIS 17512-1- Soil Quality** – Avoidance test for testing quality of soils and effects of chemicals on behavior – Part 1: Test with earthworms (Eisenia foetida and Eisenia Andrei). 2007.

KUPERMAN, R. G.; CHECKAL, R. T.;GARCIA, M. V. B.; RÖMBKE, J.; STEPHENSON, G. L.; SOUSA, J. P. State of science and the way forward for the ecotoxicological assessment of contaminated land. **Pesquisa Agropecuária**, v. 44, n. 8, p. 811 – 824, 2009.

LANÇAS, F. M. **Extração em fase sólida**. Instituto de Química – Escola de Engenharia de São Carlos – USP. São Carlos, 1997. 53 p.

LIMA, N. C. **Caracterização da atividade agrícola em Bom Repouso (MG) e avaliação dos seus efeitos ecotoxicológicos por meio de testes com Eisenia foetida (Annelida, Oligochaeta)**. 2006. 85 f. Monografia do curso de Graduação em Engenharia Ambiental - Escola de Engenharia de São Carlos, Universidade de São Paulo, São Carlos, 2006.

LUKKARI, T.; AATSINKI, M.; VÄISÄNEN, A.; HAIMI, J. Toxicity of copper and zinc assessed with three different earthworm tests. **Applied Soil Ecology**, v. 30, p. 133 – 146, 2005.

LUZ, T. N. AMORIM, M. J. B. RÖMBKE, J. SOUZA, J. P. Avoidance tests with earthworms and springtails: defining de minimum expoure time to observe a significant response. **Ecotoxicology and environmental safety**. 2007.

MONTEIRO, R. T. R.; FRIGHETTO, R. T. S. Determinação da umidade, pH e capacidade de retenção de água no solo. In: FRIGHETTO, R. T. S. VALARINI, P. J. **Indicadores biológicos e bioquímicos da qualidade do solo: manual técnico**. Jaguariúna: Embrapa Meio Ambiente. p. 37-40. 2000.

MOREIRA, J. C. Avaliação integrada do impacto do uso de agrotóxicos sobre a saúde humana em uma comunidade agrícola de Nova Friburgo, RJ. **Ciência e Saúde Coletiva**, v. 7, n° 2, p. 299 – 311, 2002.

NATAL-DA-LUZ, T.; RÖMBKE, J.; SOUSA, J.P. Avoidance tests in site-specific risk assessment - influence of soil properties on the avoidance response of Collembola and earthworms. **Environmental Toxicology and Chemistry**, v.27, p.1112-1117, 2008.

NEUHAUSER, E. F.; LOEHR, R. C.; MILLIGAN, D. L.; MALECKI, M. R. Toxicity of metals to the earthworm Eisenia fétida. **Biology and Fertility os Soils**, v. 1, . 149 – 152, 1985.

NUNES, M. E. T., RODRIGUES, B. K., LIMA, N. C., Decina, T. G. T., NISHIKAWA, D., ESPÍNDOLA, E. L. G. Uso de agrotóxicos no município de Bom Repouso, Minas Gerais, Brasil e efeito sobre organismos aquáticos e do solo In: Di LEO, N.; MONTICO, S.; NARDON, G. (Eds.). **Avances en ingeniería rural 2007-2009**. Rosário: Editora de la Universidad Nacional de Rosario, 2009. ISBN: 978-950-673-752-8

ODUM, E.P. **Ecologia**. Rio de Janeiro: Editora Guanabara Koogan, 1983. 434 p.

ORGANISATION FOR ECONOMIC DEVELOPMENT. **Guideline for Testing of Chemicals nº. 207**: Earthworm Acute Toxicity Test. Paris: OECD. 1984.

ORGANISATION FOR ECONOMIC DEVELOPMENT. **Guideline for Testing of Chemicals nº. 222**: Earthworm Reproduction Test. Paris: OECD. 2004.

PAPINI, S.; ANDREA, M. M. Ação de minhocas Eisenia foetida sobre a dissipação dos herbicidas simazina e paraquat aplicados no solo. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, n. 28, p. 67-73, 2004.

PESARO, M. WIDMER, F. NICOLLIER G. ZEYER, J. Effects of freeze – thaw stress during soil storage on microbial communities and methidathion degradation. **Soil Biology and Biochemistry**, n. 35, p. 1049 – 1061, 2003.

RAND, G. M., PETROCELLI, S. R. Introduction. In: RAND, G. M., PETROCELLI, S. **R. Fundamentals of aquatic toxicology**: methods and application. London: Hemisphere Publishing Corporation, 1985. cap.1, p. 1-28.

RAO, J. V.; PAVAN, Y. S.; MADHAVENDRA, S. S. Toxic effects of Clorpyrifos on morphology and acetylcholinesterase activity in the earthworm Eisenia foetida. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 54, p. 296 – 301. 2003.

RESENDE, J. **Avaliação das águas de abastecimento da área rural do município de Bom Repouso, MG**. 2009. 130 f. Monografia do curso de Graduação em Engenharia Ambiental - Escola de Engenharia de São Carlos, Universidade de São Paulo, São Carlos, 2009.

RINKE, K. H.; WIECHERING, H. Earthworm avoidance test for soil assessments: an alternative for acute and reproduction tests. **Soils $ Sediments**, v. 1, n. 1, p. 15–20, 2001.

RODGHER, S. **Avaliação dos efeitos ecotoxicológicos dos metais cádmio e cromo em organismos planctônicos**. 2005. 252 f. Tese (Doutorado em Ciências da Engenharia Ambiental) – Escola de Engenharia de São Carlos, Universidade de São Paulo, São Carlos, 2005.

RODRIGUES, B. K. **Avaliação dos impactos de agrotóxicos na região do Alto Mogi-Guaçu (MG) por meio de ensaios laboratoriais com Danio rerio (CYPRINIDAE, CYPRINIFORMES)**. 2007. 148 f. Dissertação (Mestrado em Ciências da Engenharia Ambiental) – Escola de Engenharia de São Carlos, Universidade de São Paulo, São Carlos, 2007.

RÖMBKE, J.; GARCIA, M.: Assessment of ecotoxicological effects of pesticides on the soil fauna and soil processes under tropical conditions. In: Lieberei, R., Bianchi, H-K., Boehm, V., Reisdorff, C., (Eds.) **Neotropical Ecosystems, Proceedings of the German-Brazilian Workshop**, Hamburg, 2000, p. 543-548.

RÖMBKE, J.; JÄNSCH, S.; JUNKER, T.; POHL, B.; SCHEFFCZYK, A.; SCHALLNASS, H. Improvement of the applicability of ecotoxicological tests with earthworms, springtails and plants for the assessment of metals in natural soils. **Environmental Toxicology and Chemistry**, v.25, p.776‑787, 2006.

RÖMBKE, J.; KNACKER, T. Standardisation of terrestrial ecotoxicological effect methods: an example pf successful international co-operation. **Soils & Sediments**, v. 3, n. 4, p. 237-238, 2003.

SILVA, P. M. C. S.; PATHIRATNE, A.; GESTEL, C. A. M. V. Influence of temperature and soil type on the toxicity of three pesticides to Eisenia Andrei. **Chemosphere**, v. 76, p. 1410 – 1415, 2009.

SILVA, P. M. C. S.; PATHIRATNE, A.; GESTEL, C. A. M. V. Toxicity of chlorpyrifos, carbofuran, mancozeb and their formulations to the tropical earthworm Perionyx excavatus. **Applied Soil Ecology**, v. 44, p. 56 – 60, 2010.

SILVÉRIO, P. F. **Bases técnico-científicas para a derivação de valores-guias de qualidade de sedimento para metais: experimentos de campo e laboratório**. 2003. 145 f. Tese (Doutorado em Ciências da Engenharia Ambiental) – Escola de Engenharia de São Carlos, Universidade de São Paulo, São Carlos, 2003.

SIVAKUMAR, S.; SUBBHURAAM, C. V. Toxicity of chromium (III) and chromium (VI) to the earthworm *Eisenia foetida*. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, n. 62, p. 93 – 98, 2005.

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 foetida (Savigny): assessing the environmental impact of point-source metal contamination in terrestrial ecosystems. **Environmental Pollution**, v. 84, p. 123-130, 1994.

SPURGEON, D. J.; WEEKS, J. M.; GESTEL, C. A. M. V. A summary of eleven years progress in earthworm ecotoxicology. **Pedobiologia**, v. 47, p. 588 – 606, 2003.

TRINDADE, M. **Nutrientes em sedimentos da represa do Lobo (Brotas – Itirapina)**. 1980. 219 f. Dissertação (Mestrado em Ecologia e Recursos Naturais) – Universidade Federal de São Carlos, São Carlos, 1980.

VEIGA, M. G. Intoxicação por agrotóxicos aumenta 14% em SP, revela estudo. **O Estado de São Paulo, São Paulo**, 30 jul. 2008. Disponível em: http://www.agestado.com.br/institucional/ultimas/2008/jul/30/802.htm. Acesso em: 18 ago. 2008.

YEARDLEY, R. B. LAZORCHAK, J. M. GAST, L. C. The potencial of an earthoworm avoidance test for evaluation of hazardous waste sites. **Environmental Toxicology and Chemistry**, v. 15, n. 9, p. 1532 – 1537, 1996.

ZACHARIAS, A. S. B. **Efeitos ecotoxicológicos dos resíduos do Vertimec 18EC® utilizado na agricultura em organismos planctônicos**. 2008. 85 f. Monografia do curso de Graduação em Engenharia Ambiental - Escola de Engenharia de São Carlos, Universidade de São Paulo, São Carlos, 2008.

APÊNDICE A

Análises químicas, físicas e ecotoxicológicas dos solos coletados em Bom Repouso/MG

Tabela 21. Propriedades físicas e químicas dos solos de área de mata, área de cultivo de batata e área de cultivo de morango coletados em Bom Repouso/MG.

	Propriedades dos solos					
Solos	**Capacidade de retenção**	**Umidade**	**pH**	**Matéria Orgânica**	**Fósforo Total**	**Nitrogênio Orgânico Total**
Mata 1	78,21%	39,11%	5,10	17,68%	0,27 µg/g	4,22%
Mata 2	67,72%	47,40%	5,07	19,78%	0,25 µg/g	4,44%
Mata 3	53,51%	48,16%	4,96	23,18%	0,21 µg/g	1,47%
Valor médio	66,48%	44,89%	5,04	20,21%	0,24 µg/g	3,38%
Batata 1	60,29%	30,15%	5,05	11,74%	0,47 µg/g	0,12%
Batata 2	57,84%	28,92%	5,67	17,42%	0,59 µg/g	2,10%
Batata 3	49,05%	24,53%	4,82	14,66%	0,27 µg/g	2,68%
Valor médio	55,73%	27,86%	5,18	14,61%	0,44 µg/g	1,63%
Morango 1	69,13%	34,57%	5,31	15,62%	0,35 µg/g	1,00%
Morango 2	62,82%	31,41%	5,72	12,03%	0,39 µg/g	2,89%
Morango 3	75,97%	37,99%	6,13	13,17%	0,11 µg/g	1,00%
Valor médio	69,31%	34,65%	5,72	13,61%	0,28 µg/g	1,63%

Tabela 22. Resultados do Teste de Toxicidade Aguda: número de número de indivíduos mortos ao 7º. e 14º. dia de realização do teste, porcentagem de mortalidade ao 14º. dia e porcentagem de perda de peso ao 7º. e 14º. dia.

Solos	**nº. indivíduos mortos aos 7 dias**	**nº. indivíduos mortos aos 14 dias**	**% mortalidade aos 14 dias**	**% Perda de peso aos 7 dias**	**% Perda de peso aos 14 dias**
Mata 1	0	0	0	19,35	21,66
Mata 2 (70)	0	0	0	13,84	16,07
Mata 3 (90)	1	1	2,5	12,34	17,89
Batata 1	0	0	0	7,65	19,91
Batata 2	0	1	2,5	9,21	25,00
Batata 3	1	2	5	8,91	20,38
Morango 1	0	0	0	9,14	19,52
Morango 2	1	1	2,5	11,38	25,33
Morango 3	1	1	2,5	12,24	27,35
TAS	0	1	2,5	17,46	25,86

Tabela 23. Resultados do Teste de Toxicidade Crônica aos 28 dias de realização do teste: número de juvenis e porcentagem de perda de peso.

Solos	nº. Juvenis	% Perda de Peso aos 28 dias
Mata 1	39	35,81
Mata 2 (70)	3	29,82
Mata 3 (90)	0	34,95
Batata 1	18	40,04
Batata 2	43	44,07
Batata 3	6	36,11
Morango 1	33	29,29
Morango 2	52	35,24
Morango 3	46	35,56
TAS	54	40,91

Tabela 24. Resultados do Teste de Evitamento utilizando o Teste Exato de Fisher.

Teste Exato de Fisher			
Teste	**Lado 1**	**Lado 2**	**Análise Estaística**
TAS/TAS	TAS 24	TAS 16	TABLE = [20 , 0 , 24 , 4] Left : p-value = 1 Right : p-value = 0.10522664199815321 2-Tail : p-value = 0.1301264261486321
Mata 1/Mata 1	Ma 1 18	Ma 1 22	TABLE = [20 , 0 , 18 , 0] Left : p-value = 1 Right : p-value = 1 2-Tail : p-value = 1
Mata 1/Batata 1	Ma 1 32	Ba 1 8	TABLE = [20 , 0 , 32 , 12] Left : p-value = 1 Right : p-value = 0.006421834295235229 2-Tail : p-value = 0.012361552876316295
Mata 1/Batata2	Ma 1 30	Ba 2 10	TABLE = [20 , 0 , 30 , 10] Left : p-value = 1 Right : p-value = 0.011243072632748891 2-Tail : p-value = 0.022796472605147347
Mata 1/Batata 3	Ma 1 22	Ba 3 18	TABLE = [20 , 0 , 22 , 2] Left : p-value = 1 Right : p-value = 0.29175475687103125 2-Tail : p-value = 0.4926004228329769
Mata 1/Morango 1	Ma 1 20	Mo 1 20	TABLE = [20 , 0 , 20 , 0] Left : p-value = 1 Right : p-value = 1 2-Tail : p-value = 1
Mata 1/Morango 2	Ma 1 35	Mo 2 5	TABLE = [20 , 0 , 35 , 15] Left : p-value = 1 Right : p-value = 0.0031197363957761915 2-Tail : p-value = 0.0037194762676612276
Mata 1/Morango 3	Ma 1 34	Mo 3 6	TABLE = [20 , 0 , 34 , 14] Left : p-value = 1 Right : p-value = 0.003913851114701124 2-Tail : p-value = 0.006564081983696677