

APLICAÇÃO DE TESTES DE TOXICIDADE: UMA AVALIAÇÃO DO IMPACTO AMBIENTAL DA APLICAÇÃO DE AGROTÓXICOS EM AÇUDES DA PARAÍBA

Carlos Alberto de Menezes Júnior

Takako Watanabe

Augusto Fonseca

Robert Anthony Coler

Departamento de Sistemática e Ecologia

Centro de Ciências Exatas e da Natureza

Universidade Federal da Paraíba

e-mail: watanabe@dse.ufpb.br

Resumo

Testes de toxicidade e bioensaios com organismos aquáticos são usados por mais de vinte anos, por todo o mundo, para avaliar o efeito letal que substância tóxica (como agrotóxico) pode causar em corpo de água. Estes testes também podem ser utilizados como instrumento de controle de qualidade de água dos reservatórios de água do Nordeste do Brasil.

Palavras-chave: Agrotóxicos / Organismos Aquáticos / Testes de Toxicidade / Bioensaios / Qualidade da Água

1. Introdução

Exposição do Problema

A quantidade de água na região Nordeste do Brasil sempre foi um recurso de fundamental importância, desde que, em decorrência da grande seca de 1877-79, mais de 500.000 pessoas morreram. Consequentemente o governo vem adotando medidas para aumentar a capacidade de armazenamento de águas de superfície. Criou uma agência responsável pela construção de reservatórios, a IOCS (Inspetoria de Obras Contra a Seca) que evoluiu para o atual DNOCS (Departamento Nacional de Obras Contra a Seca). Este departamento construiu desde 1898 até o ano de 1975, cerca de 253 açudes numa região conhecida como o "Polígono da Seca" (ELETROBRÁS, 1976). Recentes levantamentos fotográficos feitos pelo LANDSAT estimam que este número ultrapassa os 60.000, e pode chegar a 70.000 (MOLLE, 1991). Este número reforça a imensa significância social destes reservatórios.

Ironicamente, a qualidade da água não vem recebendo a mesma atenção. O comprometimento desta água pode servir como fonte de doenças, por apresentar altos níveis de contaminação fecal (CEBALLOS et al., 1995). Ademais, nenhum dos trabalhos apresentados em simpósios e congressos de Limnologia, na região Nordeste do Brasil, mencionam a utilização intensiva de agrotóxicos e fertilizantes. Estas substâncias aplicadas em solos cultiváveis e em plantações próximas a corpos d'água, juntamente com as chuvas são responsáveis pela contaminação da água utilizada pelas populações.

Os testes de toxicidade visam exatamente determinar os efeitos deletérios para o ecossistema aquático, causados pela emissão de agentes tóxicos, sem a devida preocupação de identificá-los. Este teste, utilizado como instrumento de controle, avalia diretamente a

3.2 Fase de Monitoramento de Campo

Para início dos trabalhos, selecionamos o açude Epitácio Pessoa, localizado no município de Boqueirão. Este reservatório abastece a Cidade de Campina Grande e uma comunidade com cerca de 600 fazendeiros, cujas plantações recebem aplicações intensivas de agrotóxicos (herbicidas e pesticidas) às margens daquele açude. Serão escolhidos alguns pontos suspeitos para a coleta de água, ou seja, as margens do açude mais próximas às plantações que recebem a aplicação dos agrotóxicos. Estas amostras serão, consequentemente, encaminhadas ao Laboratório de Ecologia, do Departamento de Sistemática e Ecologia da Universidade Federal da Paraíba, para serem processadas os primeiros testes.

Parte dessas amostras será processada no Laboratório de Análise de Águas, do Curso de Tecnologia Ambiental do Centro Federal de Educação Tecnológica da Paraíba. Também neste laboratório será aplicado um programa de treinamento aos técnicos das agências federais e estaduais (CAGFEPA, DNOCS, IBAMA, SUDENE, etc.), sobre a teoria e as técnicas básicas necessárias para que se possa desenvolver na Paraíba, uma rede de trabalho especializada em biomonitoramento.

3.1 Início dos Trabalhos

3. Materiais e Métodos

Nosso objetivo é aplicar os métodos de bioensaios, padronizados pela USEPA e modificados pela CETESB, na maioria dos reservatórios da região Nordeste do Brasil para:

- 1) Identificar estados de crise nos reservatórios.
- 2) Gerar um banco de dados para cada reservatório, avaliar a qualidade da água e determinar a eficácia de medidas remediais.
- 3) Estabelecer uma rede de monitoramento fixada em laboratórios de tratamento de água, e treinar técnicos das agências federais e estaduais (CAGFEPA, IBAMA, etc.).
- 4) estabelecer uma capacidade de pesquisa com os estudantes de graduação do Departamento de Sistemática e Ecologia, da Universidade Federal da Paraíba, bem como alunos do Centro Federal de Educação Tecnológica da Paraíba.

2. Objetivo

O bioensaios, por outro lado, fornece uma medida da biodisponibilidade dos tóxicos presentes e avalia-os, com respeito à diminuição da sobrevivência e das funções orgânicas dos organismos-teste. Dados estatísticos e biologicamente significativos (igualmente importantes) podem ser gerados a custo bastante reduzido, quando comparados com as análises químico-analíticas. A metodologia é relativamente simples, exigindo, predominantemente, equipamentos e materiais usuais de laboratório, permitindo, também, que os usuários tomem conhecimento das necessidades básicas para a montagem de seus próprios laboratórios. O único pré-requisito é um suprimento constante de água de boa qualidade para os testes, controle e manutenção de organismos de diferentes grupos filogenéticos para servir como testes no bioensaios.

A mera presença do tóxico não indica viabilidade biológica nem integra o impacto ambiental. Já que a poluição é, fundamentalmente, um problema biológico, uma perspectiva de “partes por milhão” frequentemente falha, no que diz respeito à real dimensão do impacto biológico total através das interações sinérgicas e antagonicas.

condição de um certo tipo de água de atender, ou não, à sua finalidade preponderante, de preservação, isto é, a proteção das comunidades aquáticas (CETESB, 1990).

Sabendo-se que o açude Epitácio Pessoa abastece aproximadamente 600 agricultores, cada qual com uma variedade de plantações, seria logicamente impossível instalarem-se muitas estações de coleta. Consequentemente, a estratégia de amostragem será baseada na região do açude mais afetada. Uma ou duas estações de coleta serão selecionadas na periferia do açude próximo às fazendas com:

- 1- Um declive mais acentuado no terreno, capaz de levar a água da chuva direto para o açude.
- 2- Uma história de aplicação mais intensiva de pesticidas e fertilizantes.
- 3- Plantações cultivadas próximas às margens do açude

As coletas começarão no início da estação chuvosa, quando a diluição da água está baixa, e a concentração de resíduos no solo está em seu máximo. As amostras de água serão retiradas do escoamento da chuva e das margens do açude. Substratos artificiais serão depositados por 6 semanas nos açudes nas estações de coleta, e também nos pontos que são menos cultivados (controle). Desta maneira, os testes de campo podem gerar dados relevantes em laboratório, a partir dos testes de toxicidade.

Inicialmente as amostras coletadas de corpos d'água suspeitas serão analisadas e, se necessário, serão modificadas sua alcalinidade, dureza e pH, para os padrões necessários para o cultivo dos animais mais sensíveis, como é o caso da *Daphnia* (GOLDSTEIN, et al., 1985). Subseqüentemente serão feitos testes de triagem, que permitirão um processamento mais rápido das amostras. Todos os testes de toxicidade seguem os métodos prescritos nos "Standard Methods".

3.3 Seleção dos Organismos-teste

É necessária a utilização de 5 a 6 espécies de animais, que se adaptem facilmente ao ambiente do laboratório. Os animais precisam ser prolíferos, razoavelmente resistentes, e possuir um curto ciclo de vida, com diversas gerações por ano (FONSECA, 1991). Estamos utilizando experimentalmente, os peixes, Platy (*Xiphophorus maculatus*) e Molly Negra (*Poecilia sphenops*), um zooplankton (*Daphnia sp.*), um crustáceo (*Macrobrachium amazonicum*), um molusco (*Pomacea linneata*) e uma planta aquática (*Lemna, sp.*).

4. Fase Laboratorial

4.1 Testes de Toxicidade

Estes testes consistem em expor os organismos aquáticos a várias concentrações de uma ou mais substâncias, durante um determinado período de tempo. Para avaliar a toxicidade de uma amostra são necessários três passos: (1) determinar o grau de contaminação desta amostra que apresenta uma resposta observável, (2) determinar a toxicidade aguda, ou CL50 (Concentração que causa letalidade a 50% dos organismos-teste em 0 a 96 horas, e (3) calcular a Concentração Tóxica Máxima Admissível (CTMA).

4.2 Metodologia

O processo de análise toxicológica das águas a serem examinadas segue os seguintes passos:

4.2.1 Coleta da Água

1^a) Coleta-se uma amostra da água de um determinado lugar onde verificam-se os sinais de toxicidade (morte de animais que dependem da água, odor intenso não característico, etc.) e outra amostra da água onde estes indícios não são aparentes. Esta segunda amostra servirá como um controle “padrão” para os testes a serem realizados.

4.2.2 Testes Preliminares

(Determinação da Toxicidade Aguda)

Para determinar a dimensão da toxicidade procede-se inicialmente uma análise qualitativa da água, que pode ser feita por meio de testes de seleção. São eles:

1) Teste do Oxigênio Residual (só é feito com peixes e crustáceos)

Cinco indivíduos são colocados em garrafas de DBO (Demanda Bioquímica de Oxigênio) contendo água de controle aerada, ou água de controle mais um determinado nível de tóxico. As garrafas são então seladas e deixadas em observação até que seja constatada a 100% de mortalidade. Imediatamente após, a concentração de oxigênio dissolvido (OD) em cada garrafa é determinada. Os valores de OD, são atribuídos à depleção de oxigênio, sendo medidos numa ordem de dezenas de mg O₂/l. Os valores de OD nas garrafas, em que a mortalidade é atribuída ao tóxico, serão mais altos, pois a mortalidade ocorrerá antes da depleção do oxigênio. Assim, os valores de OD, nas garrafas contendo concentrações mais altas de tóxico, serão maiores do que aquelas que contêm menores concentrações de tóxico. Se a concentração de OD residual for esboçada em um gráfico versus a concentração tóxica logarítmica, um ponto de inflexão é observado quando o OD aumenta com o aumento do nível de tóxico. Os níveis de tóxico abaixo e acima deste ponto são então testados em uma dimensão de dosagem mais estreita para a determinação da CL50-96 horas. Esta dimensão é distribuída em um intervalo logarítmico devido à resposta exponencial dos organismos-teste à dosagem do tóxico (COLER e ROCKWOOD, 1988).

2) Teste de “Triagem”

Este teste é realizado com um grande intervalo entre os níveis de tóxicos diluídos em cada concentração, com réplicas, mais o controle (água livre de contaminação) em recipientes-teste com volume de um litro. São usadas geralmente dez diluições da substância tóxica, cada uma com pelo menos, 50% da concentração anterior, distribuindo-se alguns organismos-teste nos recipientes-teste, e observando-se, durante 24 horas, se houve mortalidade. A partir deste teste inicial, se foi observada a mortalidade, é feito um intervalo mais estreito de dosagem do tóxico para o teste de determinação da CL50-96 horas.

4.2.3 Teste Definitivo

A partir das concentrações determinadas no teste de oxigênio residual ou de Triagem, realiza-se um segundo teste para a determinação da CL50-96 horas. O método usado por LITCHFIELD & WILCOXON (1949) foi adotado por ser amplamente utilizado, e pelos detalhes consideráveis sobre o cálculo estatístico da CL50, com intervalos de confiança.

A avaliação final da toxicidade das amostras é o cálculo da CTMA (Concentração Tóxica Máxima Admissível). A CTMA é demarcada pela mais alta concentração que provoca a mesma resposta que o controle (CENO), e a mais baixa concentração de teste (CÉO) que provoca o chamado **efeito crônico**, que se traduz pela resposta a um estímulo que continua

por longo tempo, geralmente por períodos que podem abranger parte ou todo o ciclo de vida dos organismos.

Este efeito, apesar de não ser letal, é observado em concentrações do agente tóxico e afeta alguma função biológica dos animais, tais como: respiração, excreção, desenvolvimento dos filhotes, crescimento e reprodução.

A CTMA pode ser calculada multiplicando-se a CL50 por um fator de aplicação químico previamente especificado (FA). Hipoteticamente, os valores do FA de 0,05 a 0,1 (SPRAGUE, 1969) e de 0,01 a 0,1 (RAND & PETROCELLI, 1985) têm sido usados para este propósito. Dividindo-se a razão geométrica da diluição da toxicidade pela razão geométrica da CTMA, o pesquisador obterá um razão chamada fator de aplicação (FA). Munido, então com o FA, o biólogo somente precisará de gerar dados de CL50 dos reservatórios, para extrapolar estes valores para níveis críticos de poluição. Os números assim gerados servirão para padronizar os procedimentos de teste/amostragem, em outros reservatórios de água pelo Nordeste do Brasil.

5. Referências Bibliográficas

- APHA, (1995). **Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater**. 16th ed. American Public Health Association, Washington, D.C., 1268p.
- CETESB (SP) (1990). Procedimentos no controle de efluentes líquidos. **Série Manuais**, São Paulo, 20p.
- CETESB (SP) (1990). Teste de Toxicidade aguda com peixes - Parte II - Sistema semi-estático. **Série Manuais**, São Paulo, 24p.
- COLER, R. A. & ROCKWOOD, J. P. ; (1988). **Water pollution biology - A laboratory/field handbook**. University of Massachusetts at Amherst.
- FONSECA, A. L. (1991). **A biologia das espécies *Daphnia laevis*, *Ceriodaphnia dubia silvestris* (Crustacea - Cladocera) e *Poecilia reticulata* (Pisces:Poeciliidae) e o comportamento destes em testes de toxicidade aquática com efluentes industriais**. São Carlos (Dissertação).
- GOLDSTEIN, E.; BERTOLETTI, E.; ZAGATTO, P. (1985). Estimativa de Carga Poluidora de Efluentes Industriais da Região de Cubatão Através de Ensaio Biológicos com Microcrustáceos e Peixes. **CETESB**, Agosto, São Paulo: 06p
- LITCHFIELD, J. T., Jr. & WILCOXON, F. (1949). A Simplified Method of Evaluating Dose-Effect Experiments. **J. Pharmac. Exp. Ther.**, 96:99-113
- RAND, G. M. & PETROCELLI, S. R. (1985). **Fundamentals of aquatic toxicology: Methods and applications**. Washington USA, Hemisphere Publishing, 666p.
- SPRAGUE, J. B. (1969). Measurement of Pollutant Toxicity to Fish - I. Bioassay Methods for Acute Toxicity. **Water Research Pergamon Press**. 3, 793-821
- USEPA(600/ 4-85/ 014) (1985). **Short-term methods for estimating the chronic toxicity of effluents and receiving waters to freshwaters organisms**. 93p.