

UNIVERSIDADE TECNOLÓGICA FEDERAL DO PARANÁ
DEPARTAMENTO ACADÊMICO DE ENGENHARIA QUÍMICA
CURSO DE ENGENHARIA QUÍMICA

DANIELA CARLINI RODRIGUES DA SILVA

**AVALIAÇÃO DA ECOTOXICIDADE NO SOLO ENTORNO DE UMA
FONTE NATURAL DE ÁGUA PELO TESTE *ALLIUM CEPA* L. E SUA
CORRELAÇÃO COM A PRESENÇA DE RESÍDUOS DE
AGROTÓXICOS**

FRANCISCO BELTRÃO
NOVEMBRO/2018

DANIELA CARLINI RODRIGUES DA SILVA

**AVALIAÇÃO DA ECOTOXICIDADE NO SOLO ENTORNO DE UMA
FONTE NATURAL DE ÁGUA PELO TESTE *ALLIUM CEPA* L. E SUA
CORRELAÇÃO COM A PRESENÇA DE RESÍDUOS DE
AGROTÓXICOS**

Trabalho de Conclusão de Curso do Curso
de Engenharia Química da Universidade
Tecnológica Federal do Paraná.

Orientadora: Prof.^a Dr.^a Thalita Grando
Rauen.

Coorientadoras: Prof.^a Prof.^a Dr.^a Elisângela
Dusman e Prof.^a Dr.^a Ana Paula de Oliveira

FRANCISCO BELTRÃO
NOVEMBRO/2018



TERMO DE APROVAÇÃO

Trabalho de Conclusão de Curso – TCC2

Avaliação da ecotoxicidade no solo entorno de uma fonte natural de água pelo teste *Allium cepa* L. e sua correlação com a presença de resíduos de agrotóxicos

por

Daniela Carlini Rodrigues da Silva

Trabalho de Conclusão de Curso 2 apresentado às 09 horas e 0 min., do dia 22 de novembro de 2018, como requisito para aprovação da disciplina Trabalho de Conclusão de Curso 2, do Curso de Engenharia Química da Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Campus Francisco Beltrão. O candidato foi arguido pela Banca Avaliadora composta pelos professores abaixo assinados. Após deliberação, a Banca Avaliadora considerou o trabalho Aprovado.

Banca Avaliadora:

Prof. Dr. André Zuber

Coordenador do Curso

Thalita Grando Rauen

Professora Orientadora

Prof.^a Dr.^a Elisângela Dusmam

Professora Coorientadora

Prof.^a Dr.^a Ana Paula de Oliveira

Professora Coorientadora

Prof.^a Dr.^a Michele Di Domenico

Professora do TCC2

AGRADECIMENTOS

Primeiramente aos meus pais, Paulo e Marisa, e ao meu irmão, Luan, que com muito apoio e incentivo não mediram esforços para que eu chegasse até essa etapa da minha vida.

Às Prof^{as}. Dr^{as}. Thalita Grando Rauen, orientadora, Elisângela Düsman e Ana Paula de Oliveira, coorientadoras, pela orientação, ensinamentos, dedicação, confiança, e todo o apoio fornecido para o desenvolvimento deste trabalho.

Aos meus amigos, Jackeline, Leonardo, Amanda, Andrielle e Alana, por estarem sempre presentes nessa caminhada, dando apoio total, desde os momentos mais difíceis até as maiores conquistas.

Aos demais amigos, família, colegas e pessoas que de uma forma ou de outra contribuíram e participaram da minha formação.

Aos Profs. Drs. Sílvio César Sampaio e Marcelo Bevilacqua Remor da Universidade Estadual do Oeste do Paraná (Unioeste) pela parceria na realização das análises de identificação e quantificação de resíduos de agrotóxicos.

RESUMO

O uso de agrotóxicos no Brasil cresce significativamente a cada ano. Junto com ele, aumentam os casos de intoxicações humanas, de alimentos e ambientes contaminados. Uma das problemáticas da contaminação do meio ambiente é que existe um desconhecimento qualitativo e quantitativo acerca do nível de contaminação do solo por agentes químicos associados à ação humana. Estudos neste sentido permitem avaliar o impacto desses contaminantes tanto sobre o equilíbrio do meio ambiente, quanto para a saúde do ser humano e, em adição, possibilitar a proposição de alternativas biotecnológicas que busquem a resolução ou a minimização deste problema. Sob tal motivação, o presente trabalho visou estudar três pontos (Pontos 1, 2 e 3) de um solo utilizado em práticas agrícolas, localizado no sudoeste do Paraná, que tem contribuição para a qualidade da água de uma fonte natural próxima ao mesmo, avaliando parâmetros físico-químicos, teores de substâncias organocloradas e organofosforadas, e os índices de citotoxicidade e mutagenicidade para o bioindicador *Allium cepa* L. Verificou-se que os índices mitóticos das amostras de solo foram maiores que o índice mitótico do controle negativo, sendo estatisticamente diferente deste somente para o Ponto 2, indicando a presença de substâncias com capacidade mitogênica neste ponto de coleta. Estes dados podem ser justificados pela maior presença de fósforo e potássio neste ponto de coleta do solo, pois estes são fundamentais para a divisão celular, sendo crucial para o crescimento radicular. Os índices mutagênicos também apresentaram um aumento estatístico em relação ao controle negativo, indicando a presença de substâncias mutagênicas nas amostras dos três pontos de coleta. Possivelmente estes efeitos podem ser devido a presença de trifluralina, cianazina, aldeído endrina, endrina, mevinfós, etoprofós, paraoxão-metilo e sulfona de dissulfotão, no teste de identificação e quantificação de compostos organofosforados e organoclorados, até porque, alguns destes compostos agroquímicos possuem uso vedado no país. Estes dados mostram a importância de estudos de monitoramento da qualidade dos solos, tanto para a qualidade deste ambiente e dos seres que nele habitam ou dependem e, principalmente, pela proximidade de fontes de água de abastecimento humano.

Palavras-chave: Solo. Ecotoxicidade. Resíduos de agrotóxicos. Análises físico-químicas.

ABSTRACT

The use of agrochemicals in Brazil grows significantly each year. Along with it, cases of human poisoning, food and contaminated environments increase. One of the problems of environmental contamination is that there is a qualitative and quantitative lack of knowledge about the level of contamination of the soil by chemical agents associated with human action. Studies in this sense allow to evaluate the impact of these contaminants on the balance of the environment as well as the health of the human being and, in addition, make possible the proposition of biotechnological alternatives that seek the resolution or the minimization of this problem. Under such motivation, the present study aimed to study three points (Points 1, 2 and 3) of a soil used in agricultural practices, located in the southwest of Paraná, which contributes to the water quality of a natural source close to it, physical-chemical parameters, organochlorine and organophosphorous substances contents, and cytotoxicity and mutagenicity indexes for the bioindicator *Allium cepa* L. The mitotic indexes of the soil samples were found to be higher than the mitotic index of the negative control, being statistically different of this only to Point 2, indicating the presence of substances with mitogenic capacity at this point of collection. These data can be justified by the greater presence of phosphorus and potassium in this point of collection of the ground, because these are fundamental for the cellular division, being crucial for the radicular growth. The mutagenic indexes also presented a statistical increase in relation to the negative control, indicating the presence of mutagenic substances in the samples of the three points of collection. Possibly these effects may be due to the presence of trifluralin, cyanazine, endrin aldehyde, endrin, mevinphos, etoprophos, methyl paraxone and disulfoton sulfone in the identification and quantification test of organophosphorus and organochlorine compounds, because some of these agrochemical compounds are used prohibited in the country. These data show the importance of soil quality monitoring studies, both for the quality of this environment and the beings that inhabit or depend on it and, mainly, for the proximity of sources of human water supply.

Keywords: Soil. Ecotoxicity. Residues of agrochemicals. Physicochemical analysis.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 – Estrutura geral dos organofosforados	20
Figura 2 – Estrutura química do DDT - organofosforado	21
Figura 3 – Local da fonte e coleta das amostras	29
Figura 4 – Distribuição das partículas das amostras de solo	37
Figura 5 – Interpretação dos parâmetros químicos para o Ponto 1	39
Figura 6 – Interpretação dos parâmetros químicos para o Ponto 2	39
Figura 7 – Interpretação dos parâmetros químicos para o Ponto 3	40
Figura 8 – Índice Mitótico (IM) médio do grupo controle negativo e tratados com as amostras dos três pontos de coleta de solo	45
Figura 9 – Índice de Mutagenicidade (IMG) médio do grupo controle negativo e tratados com as amostras dos três pontos de coleta de solo	46

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Classificação dos agrotóxicos de acordo com o ingrediente ativo	18
Tabela 2 – Classificação dos agrotóxicos de acordo com o grau de toxicidade	18
Tabela 3 – Classificação dos agrotóxicos de acordo com o grau de toxicidade ao meio ambiente	18
Tabela 4 – Classificação dos agrotóxicos de acordo com o grupo químico	18
Tabela 5 – Principais compostos organoclorados e organofosforados e seu número CAS (Chemical Abstract Service)	19
Tabela 6 – Dados da umidade das amostras e valores de água utilizados para calibração da umidade em 45%	37
Tabela 7 – Propriedades e comportamento de solos predominantemente compostos por argila	38
Tabela 8 – Concentração de organoclorados e organofosforados nas amostras de estudo	42
Tabela 9 – Limites máximos de resíduos (LMR) de agrotóxicos segundo ANVISA	42
Tabela 10 – Limites máximos de resíduos (LMR) de agrotóxicos segundo a União Europeia	43
Tabela 11 – Índices mitóticos (IM), parciais e médio total, número total de células em diferentes fases do ciclo celular dos grupos controle negativo (CO-) e tratados com as três amostras dos três pontos de coleta de solo	55
Tabela 12 – Resultado final do cálculo do teste t não pareado referente aos índices mitóticos de cada grupo e as comparações realizadas	56
Tabela 13 – Resultado final do cálculo do teste t não pareado referente aos índices mutagênicos de cada grupo e as comparações realizadas	56
Tabela 14 – Tipos, números, total de alterações e índice de mutagenicidade (IM) médios obtidos para o grupo controle negativo e tratados com as amostras dos três pontos de coleta de solo	47

LISTA DE SÍMBOLOS

Ca	Cálcio
Mg	Magnésio
Al	Alumínio
K	Potássio
P	Fósforo
Fe	Ferro
Mn	Manganês
Cu	Cobre
Zn	Zinco
S	Enxofre
B	Boro

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	12
2 OBJETIVOS	15
2.1 OBJETIVO GERAL	15
2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS	15
3 FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA	16
3.1 PRÁTICAS AGRÍCOLAS E O CONSUMO DE AGROTÓXICOS NO BRASIL	16
3.2 AGROTÓXICOS	17
3.2.1 Inseticidas	19
3.2.1.1 Organofosforados	19
3.2.1.2 Organoclorados	20
3.2.2 Danos ao Ser Humano e ao Meio Ambiente	21
3.2.2.1 Contaminação de solos e águas	22
3.2.3 Determinação de Resíduos de Agrotóxicos em Solos	23
3.3 ECOTOXICOLOGIA	24
3.3.1 Testes de Toxicidade Aguda e Crônica	25
3.3.2 Organismo Teste	26
3.4 ANÁLISES FÍSICO-QUÍMICAS	27
4 METODOLOGIA	29
4.1 COLETA DAS AMOSTRAS	29
4.1.1 Preparo do solo Controle Negativo	30
4.1.2 Teste de Calibração da Umidade	30
4.2 COLETAS FÍSICO-QUÍMICAS	30
4.2.1 pH em Água (H ₂ O) e Cloreto de Cálcio (CaCl ₂)	30
4.2.2 Acidez Potencial	30
4.2.3 Macro e Micronutrientes	31
4.2.4 Matéria Orgânica	33
4.2.5 Granulometria	33
4.3 DETECÇÃO E QUANTIFICAÇÃO DE RESÍDUOS DE AGROTÓXICOS	34
4.4 TESTE ECOTOXICOLÓGICO	35
4.4.3 Teste de Citotoxicidade e Mutagenicidade com <i>Allium cepa</i> L.	35
5 APRESENTAÇÃO E DISCUSSÃO DOS RESULTADOS	37
5.1 TESTE E CALIBRAÇÃO DA UMIDADE	37

5.2 ABÁLISES FÍSICO-QUÍMICAS	37
5.3 DETECÇÃO E QUANTIFICAÇÃO DE RESÍDUOS DE AGROTÓXICOS	41
5.4 TESTE ECOTOXICOLÓGICO	44
6 CONCLUSÃO	48
REFERÊNCIAS	49
APÊNDICE A - Tabelas referentes ao teste de citotoxicidade e mutagenicidade	55

1 INTRODUÇÃO

O contínuo crescimento da população mundial acoplado à necessidade, cada vez maior, de produção de alimentos, estão diretamente ligados ao desenvolvimento de práticas agrícolas que exigem progressivamente aplicações de substâncias químicas no cultivo de plantas, devido sua capacidade de combate às pragas e de outras espécies vegetais que interferem negativamente no desempenho da colheita (STEFFEN; STEFFEN; ANTONIOLLI, 2011).

Agrotóxicos, fertilizantes e reguladores de crescimento são exemplos de substâncias aplicadas no cultivo em práticas agrícolas. Dentre elas, os agrotóxicos se destacam como principais agentes poluentes do meio ambiente. Além destes, os metais pesados e nitrogênio também são contaminantes encontrados em solos e águas. O nitrogênio advém dos processos de adubação e fixação biológica (captura e fixação do nitrogênio presente na atmosfera por bactérias presentes em solos), enquanto os metais pesados são oriundos de fertilizantes e corretivos agrícolas (COELHO et al., 2002; STEFFEN; STEFFEN; ANTONIOLLI, 2011).

Segundo Silva (2013), o maior dano dos agrotóxicos ao meio é o acúmulo de seus resíduos, tanto no local em que foi aplicado quanto nas proximidades dele, pois um ambiente pode ser também contaminado de forma indireta, pela ação do vento, chuva, irrigação e incorporação dos restos de culturas. Desta forma, ocorre a destruição de espécies inofensivas às lavouras, acumulação das substâncias na cadeia alimentícia e contaminação de solos e águas. Silva (2013) ainda destaca que, ao longo dos anos, as pragas e doenças presentes em lavouras vão adquirindo resistência aos defensivos agrícolas, exigindo aplicações mais frequentes dos mesmos. Em consequência disso, agravam-se os danos ao meio ambiente e à saúde do ser humano, bem como de toda a fauna e flora adjacentes.

Dentre os problemas da contaminação do solo, há uma grande preocupação com o fato de que as substâncias poluentes podem atingir os recursos hídricos em decorrência de processos naturais da natureza e do próprio meio (CASARINI et al., 2004). Além disso, a contaminação da água por tais substâncias pode não só afetar o ecossistema aquático, como também o seu uso pelo ser humano, pois ao entrar em contato com contaminantes, esta pode sofrer alterações em seu odor e sabor, além de possuir elementos tóxicos (MERTEN; MINELLA, 2002).

Steffen, Steffen e Antonioli (2011), reportam que “o solo e a água são recursos naturais indispensáveis à sobrevivência da vida no planeta Terra, sendo a produção de alimentos dependente destes bens”. A importância do solo é destacada também por Ribeiro (2013):

O solo constitui um substrato essencial para a biosfera terrestre e contribui, num sistema complexo e interativo, para regularizar o ciclo hidrológico e condicionar a quantidade e qualidade da água, nomeadamente através da sua capacidade de transformação, filtro e tampão.

A ciência que estuda os efeitos tóxicos de substâncias poluentes ao meio ambiente é chamada de ecotoxicologia (termo sugerido por René Truhaut, em 1969). Nela, organismos testes são utilizados em ensaios laboratoriais para a determinação da toxicidade de amostras ambientais. O procedimento se baseia em expor o organismo escolhido em diferentes concentrações de amostras para analisar e quantificar os efeitos tóxicos (MAGALHÃES; FERRÃO FILHO, 2008).

Os testes de ecotoxicidade, assim como as análises físico-químicas, são importantes para a análise de contaminantes presentes no meio ambiente. As análises físico-químicas são responsáveis pela identificação e quantificação de substâncias tóxicas. Já os testes de toxicidade são responsáveis pela avaliação dos efeitos das substâncias tóxicas sobre o meio em que elas se encontram (COSTA et al., 2008). Desse modo, a complementariedade das duas áreas fornece resultados satisfatórios em estudos de toxicidade e ambientes impactados.

Além dos testes de ecotoxicidade, a identificação dos resíduos presentes no solo, principalmente os advindos de agrotóxicos, também se faz necessária para o estudo do ambiente. Lesuer et al. (2008) explicam que devido ao grande uso de agrotóxicos na prática agrícola, é de suma importância realizar o monitoramento de seus resíduos no solo. Porém, há uma deficiência em métodos neste ramo devido a enorme gama de substâncias existentes com variadas propriedades físico-químicas, dificultando os processos de extração, além de exigirem o uso de equipamentos de alto custo para análises cromatográficas.

Lesuer et al. (2008) ainda destacam que, estudos têm sido realizados para o surgimento e/ou adaptação de métodos de extração já existentes, pois, a maioria destes, é para a análise de resíduos em alimentos e não em solos. Uma destas metodologias é conhecida como QuEChERS (*Quick, Easy, Cheap, Effective,*

Rugged, Safe), cujos resultados para análises de resíduos em solos vêm se mostrando satisfatórios.

Com base no exposto, identificar e quantificar as substâncias tóxicas em solos é de suma importância para a avaliação do quão tóxico o terreno se encontra. Neste contexto, a aplicação da ecotoxicologia se mostra vantajosa em termos de índices de ecotoxicidade, enquanto a cromatografia se destaca na identificação e quantificação das substâncias.

2 OBJETIVOS

2.1 OBJETIVO GERAL

Avaliar e quantificar os parâmetros físico-químicos, teor de agroquímicos e a ecotoxicidade do solo entorno de uma fonte natural em uma propriedade rural, localizada no sudoeste do Estado do Paraná.

2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Coletar amostras de um solo, cujo uso é destinado à prática agrícola, localizado entorno de uma fonte natural que abastece a família residente no local;
- Avaliar o índice mitótico das células meristemáticas de raiz de *Allium cepa* L. para determinar a citotoxicidade das amostras de solo;
- Avaliar o percentual de alterações cromossômicas das células meristemáticas de raiz de *Allium cepa* L. para determinar a mutagenicidade das amostras de solo;
- Caracterizar o solo por meio de análises físico-químicas;
- Identificar a quantidade de agrotóxicos organofosforados e organoclorados nas amostras de solo utilizando o método QuEChERS modificado e GC-MS/MS;
- Correlacionar os parâmetros físico-químicos e os resíduos presentes nas amostras com os resultados obtidos no teste ecotoxicológico.

3 FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

3.1 PRÁTICAS AGRÍCOLAS E O CONSUMO DE AGROTÓXICOS NO BRASIL

Ao longo dos anos, o Brasil vem utilizando intensivamente as práticas agrícolas objetivando maiores produções de alimentos e fornecimento de matérias primas para a indústria (CARNEIRO et al., 2015). Mesmo que a agricultura seja responsável pela produção de boa parte dos alimentos consumidos, sua prática resulta em danos ao meio ambiente, principalmente de solos e águas. A situação se agrava ainda mais quando as atividades envolvidas no processo de cultivo das culturas são feitas de forma inadequada, como por exemplo, com desmatamento, queimadas, manejo de terras de forma incorreta, uso intensivo de terras e de agrotóxicos (KUSS; KUSS, 2014).

Ao se falar em práticas inadequadas na agricultura, grande destaque é o uso de agrotóxicos, que além de perigosos, ganham cada vez mais espaço no mercado brasileiro. Dados do Sindag (Sindicato Nacional da Indústria de Produtos para Defesa Agrícola) mostraram que entre os anos de 2001 e 2008, houve um salto de US\$ 2 bilhões para mais US\$ 7 bilhões na venda dos mesmos (LONDRES, 2011). A partir de então, segundo dados do SINDIVEG (Sindicato Nacional da Indústria de Produtos para Defesa Vegetal), o número continuou crescendo chegando à US\$ 12,3 bilhões em 2014. Porém, desde 2015 ocorreram quedas no setor, totalizando US\$ 9,56 bilhões em vendas no ano de 2016 (SINDIVEG, 2017).

O Instituto Brasileiro do Meio Ambiente e dos Recursos Naturais Renováveis (IBAMA) revelou que dos anos de 2000 a 2016 o consumo de agrotóxicos e afins aumentou mais que três vezes chegando a um valor de aproximadamente 550.000 toneladas consumidas (IBAMA, 2017).

Além destes, recentemente uma matéria publicada pelo Jornal Brasil de Fato, mostrou que os estados brasileiros que mais consomem agrotóxicos são o Mato Grosso, São Paulo e Paraná. Mesmo não estando em primeiro lugar, os paranaenses são os que mais ingerem os produtos, sendo em média 7,5 litros por ano (ROHDEN, 2018).

Carneiro et al. (2015) alertam que se o consumo de agrotóxicos no Brasil já é preocupante nos dias de hoje, deve ser dada atenção às perspectivas futuras, pois

seu consumo tende a aumentar e junto com ele seus agravantes, principalmente a saúde humana.

3.2 AGROTÓXICOS

Também conhecidos como defensivos agrícolas, os agrotóxicos são utilizados com a intenção de combater pragas que danificam e/ou prejudicam o desenvolvimento da cultura agrícola (IBAMA, 2010).

Segundo o Decreto Nº 4.074/2002, artigo 1º, inciso IV, que regulamenta a Lei Federal 7.802 de 11 de julho de 1989 define-se agrotóxicos e afins como:

Produtos e agentes de processos físicos, químicos ou biológicos, destinados ao uso nos setores de produção, no armazenamento e beneficiamento de produtos agrícolas, nas pastagens, na proteção de florestas, nativas ou plantadas, e de outros ecossistemas e de ambientes urbanos, hídricos e industriais, cuja finalidade seja alterar a composição da flora ou da fauna, a fim de preservá-las da ação danosa de seres vivos considerados nocivos, bem como as substâncias e produtos empregados como desfolhantes, dessecantes, estimuladores e inibidores de crescimento (BRASIL, 1989).

Sua composição é dada por ingrediente ativo (ou princípio ativo), ingrediente inerte e impureza. O ingrediente ativo é um agente químico, físico ou biológico que garante a ação dos agrotóxicos e afins; o ingrediente inerte é a substância que é utilizada apenas como veículo, diluente ou para dar características que são necessárias à formulação, não tendo vínculo com o efeito do produto; e a impureza é a substância derivada do processo de produção do ingrediente ativo; (BRASIL, 1989).

Existem diversas formas de classificação dos agrotóxicos. Uma destas é a classificação de acordo com o modo de ação do ingrediente ativo ou da natureza da praga combatida. Outras duas formas é quanto o grau de toxicidade ao ser humano e ao meio ambiente (SAVOY, 2011). Nas Tabelas 1, 2 e 3 são apresentadas as classificações mencionadas.

A classificação dos agrotóxicos de acordo com o grau de toxicidade é baseada em resultados obtidos por testes e estudos que determinaram a dosagem letal (DL) do agrotóxico para 50% dos organismos utilizados naquela concentração,

sendo identificada pelas cores: vermelha, amarela, azul e verde (PERES; MOREIRA; DUBOIS, 2003).

Tabela 1 - Classificação dos agrotóxicos de acordo com o ingrediente ativo

Classificação	Aplicação
Inseticidas	Controle de insetos
Fungicidas	Controle de fungos
Herbicidas	Controle de ervas daninha (plantas invasoras)
Rodenticidas (raticidas)	Controle de roedores
Desfolhantes	Controle de folhas indesejáveis

Fonte: Adaptado de Peres, Moreira e Dubois (2003).

Tabela 2 - Classificação dos agrotóxicos de acordo com o grau de toxicidade

Classes	Toxicidade	DL₅₀	Faixa de cores
I	Extremamente tóxico	≥ 5 mg/kg	Vermelha
II	Altamente tóxico	Entre 5 e 50 mg/kg	Amarela
III	Medianamente tóxico	Entre 50 e 500 mg/kg	Azul
IV	Pouco tóxico	Entre 500 e 5.000 mg/kg	Verde

Fonte: Adaptado de Peres, Moreira e Dubois (2003).

Nota: DL (dose letal).

Tabela 3 - Classificação dos agrotóxicos de acordo com o grau de toxidade ao meio ambiente

Classes	Toxicidade
I	Altamente perigosos ao meio ambiente
II	Muito perigosos ao meio ambiente
III	Perigosos ao meio ambiente
IV	Pouco perigosos ao meio ambiente

Fonte: Adaptado de Ribas e Matsumura (2009).

Dentro da classificação dos agrotóxicos de acordo com o ingrediente ativo, existe outra subdivisão onde, para cada grupo de ingrediente ativo, existem diferentes grupos químicos (PERES; MOREIRA; DUBOIS, 2003). A classificação, das classes mais utilizadas, de acordo com o grupo químico está apresentada na Tabela 4.

Tabela 4 - Classificação dos agrotóxicos de acordo com o grupo químico

Classes	Grupo químico
Inseticidas	Organoclorados, organofosforados, piretróides sintéticos e carbamatos.
Herbicidas	Fenoxiacéticos e dipiridilos.
Fungicidas	Ditiocarbamatos, Fentalamidas, dinitrofenóis e pantaclorofenol.

Fonte: Adaptado de Ribas e Matsumura (2009).

Por meio destas classificações é possível entender por qual motivo o agrotóxico é aplicado na lavoura e qual é o grau de periculosidade do produto ao meio ambiente e ao ser humano. Devido ao fato do amplo uso de inseticidas e sua periculosidade ao meio ambiente e ser humano, grande atenção vem sendo dada para esta classe de agrotóxico.

3.2.1 Inseticidas

Os inseticidas são substâncias que podem ser tanto naturais como sintéticas, sendo encontrados de diversas formas nos comércios, como pós, sprays, líquidos, etc. Estes compostos tem ação neurotóxica, atuando no sistema nervoso dos organismos-alvo (SILVA, 2015).

Como mostrado na Tabela 4, os inseticidas podem ser classificados de acordo com o grupo químico. Os subgrupos de interesse deste estudo são especificados como inseticidas sintéticos orgânicos, sendo eles: organofosforados e organoclorados (SOUSA, 2002). Dentre os organofosforados e organoclorados, pode-se citar alguns compostos químicos principais, conforme dados da Tabela 5.

Tabela 5 – Principais compostos organoclorados e organofosforados e seu número CAS (Chemical Abstracts Service)

Compostos	Número CAS
Organoclorados	
Trifluralina	1582-09-8
Lindano	58-89-9
Heptacloro	1024-57-3
Cianazina	21725-46-2
Aldeído endrina	7421-93-4
Endrina	53894-70-5
Metoxicloro	72-43-5
Organofosforados	
Mevinfós	7786-34-7
Etoprofós	13194-48-4
Paraoxão metilo	950-35-6
Sulfona de dissulfotão	2497.06-5

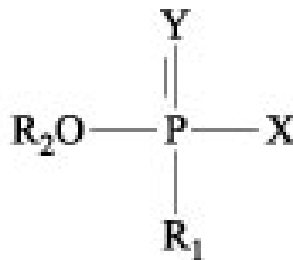
Fonte: Adaptado de Modelo et al. (2018).

3.2.1.1 Organofosforados

Os organofosforados são os responsáveis na atualidade pelo maior número de intoxicação por agrotóxicos. Seu uso ganhou espaço devido ao fato de serem muito eficazes ao combate de várias espécies de insetos. Em adição, são menos tóxicos ao ambiente que os organoclorados, porém devido a sua degradação mais rápida, este exige aplicações mais frequentes, justificando o alto número de intoxicação sofrida com o mesmo (SILVA, 2015).

Em sua estrutura química, representada na Figura 1, além da presença do fósforo (P), há pelo menos um átomo de carbono (C) na estrutura, podendo apresentar em X oxigênio (O) ou enxofre (S), em R1 e R2 grupos alquilo, alcoxi, alquiltio, arilo ou grupos substitutos de amina, e em Y halogênios, grupos alcóxidos, grupos alquilaminas, entre outros. Os organofosforados geralmente são éteres de ácido fosfórico e seus derivados (BARBOZA et al., 2018; SILVA, 2015).

Figura 1 - Estrutura geral dos organofosforados



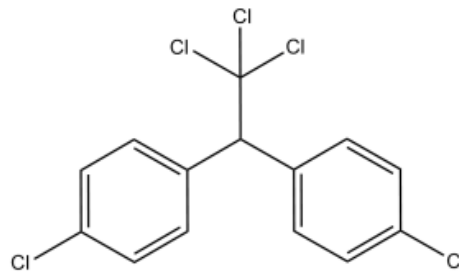
Fonte: Silva, Borges Jr. e Figueroa-Villar (2012).

3.2.1.2 Organoclorados

Os organoclorados são substâncias tóxicas, cuja permanência no meio é de longo prazo, causando o acúmulo desses compostos e sérios problemas ao meio ambiente e ao ser humano. Devido a dificuldade de degradação dessas substâncias, muitas tiveram seu uso vedado em vários países, porém ainda existem casos em que estes são utilizados por não haver outra substância substituta (KASEMODEL; PORTO; NITSCHKE, 2014).

Esses compostos são derivados do difenil etano, hexaclorobenzeno, hexaclorociclohexanos, ciclodienos e hidrocarbonetos clorados (KASEMODEL; PORTO; NITSCHKE, 2014). Em sua composição, encontramos hidrocarbonetos com múltiplas substituições de cloro, sendo as principais substâncias desta classe os dicloro-difenil-tricloroetano (DDT), ciclodienos, benzenos clorados e ciclohexanos, onde todos possuem um par similar de anéis de carbono fortemente clorado apresentando, geralmente, estrutura química constante (BARBOZA et al., 2018; UK ESSAYS, 2013). Na Figura 2 está representada a estrutura química do DDT, como exemplo de organoclorado.

Figura 2 - Estrutura química do DDT - organoclorado



Fonte: UK Essays (2013).

3.2.2 Danos ao Ser Humano e ao Meio Ambiente

O uso intensivo de agrotóxicos pelo ser humano é um assunto que vem sendo debatido cada vez mais, devido as suas consequências a saúde humana e ao meio ambiente. Em muitos casos, além da aplicação dos agrotóxicos ser frequente, ela é feita de forma inadequada, agravando ainda mais suas consequências (CARNEIRO et al., 2015; TAVELLA et al., 2011).

Dentre os fatores envolvidos na intoxicação do ser humano pelo uso de agrotóxicos podem ser citados: a falta de orientação no momento da compra do produto; o não uso ou uso incorreto dos equipamentos de proteção; a aplicação de doses que não respeitam o receituário do produto; a classe toxicológica do agrotóxico; e a falta de vigilância dos órgãos responsáveis (CARNEIRO et al., 2015; SOARES; PORTO, 2011).

Peres, Moreira e Dubois (2003), explicam que, na saúde humana, os efeitos dos agrotóxicos podem ser: agudos ou crônicos. Os efeitos agudos são os registrados em curtos períodos de tempo após a exposição ao produto. Já os efeitos crônicos são decorrentes da exposição contínua ao produto, sendo registrados dias, meses e até anos depois do contato com o agrotóxico. Além disso, os autores destacam que em ambos os casos há uma série de sintomas que indicam e identificam a intoxicação, como por exemplo, tonturas, dores de cabeça, tremores, dificuldades respiratórias, convulsões, hipertermia, doença de Parkinson e cânceres.

Além da contaminação pela aplicação dos agrotóxicos, existem os danos causados pelo acúmulo destas substâncias em alimentos, águas e até mesmo no organismo humano (CARNEIRO et al., 2015; PERES; MOREIRA; DUBOIS, 2003). Estudos mostram que um terço dos alimentos consumidos no Brasil possuem substâncias oriundas dos agrotóxicos, sendo que destes, quase metade apresentam

substâncias não autorizadas para aquele tipo de cultivo ou que excedem os limites permitidos. Outros estudos mostraram que, quando acumulado no organismo, um dos principais agravantes dos agrotóxicos é a sua presença no leite materno, principal fonte de alimentação dos recém-nascidos (CARNEIRO et al., 2015).

No meio ambiente o uso dos agrotóxicos também vem trazendo problemas. Como já mencionado, as substâncias presentes nos agrotóxicos podem se acumular nos organismos humanos e contribuir para o desenvolvimento de sérios problemas de saúde. Da mesma forma, essas mesmas substâncias podem se acumular nos outros seres vivos que habitam o meio, causando danos aos mesmos e provocando modificações na fauna do ambiente. Além disso, o acúmulo das substâncias poluentes, principalmente em solos e águas, também contribui para que ocorram modificações no ambiente, afetando todos os seus constituintes (CARNEIRO et al., 2015; PERES; MOREIRA, DUBOIS, 2003).

Os principais agravos causados ao meio ambiente pelo uso de agrotóxicos são listados por Peres, Moreira e Dubois (2003), sendo eles: a destruição de espécies que não são alvo dos agrotóxicos; a contaminação de espécies, animais ou vegetais, que servem de alimento para outras, afetando toda cadeia alimentar; contaminação de águas superficiais e subterrâneas, fazendo com que não só a população que reside próximo ao local de aplicação do agrotóxico seja contaminada, mas também todas as outras localidades que utilizam destas águas; a degradação do meio em que as substâncias se depositam, afetando suas atividades naturais e deixando o ambiente frágil; e o descarte inadequado das embalagens, prejudicial pela contaminação e pelo despejo de resíduos sólidos.

3.2.2.1 Contaminação de solos e águas

O solo é um recurso natural que possui grande capacidade de decomposição ou inativação de elementos que possam afetar negativamente o mesmo. Ao absorver uma substância, ele pode não sofrer as consequências de forma imediata, pois geralmente não é o agrotóxico que causa o dano, mas sim os produtos que resultam da sua decomposição ou transformação. Assim, conforme vão ocorrendo às transformações no solo, os danos também vão sendo causados, se tornando processos irreversíveis e de difícil recuperação (SILVA, 2013; STEFFEN; STEFFEN; ANTONIOLLI, 2011).

A forma com que as substâncias advindas dos agrotóxicos permanecem e se comportam no solo depende tanto do tipo do mesmo, das características físicas, químicas e biológicas, bem como das características do produto aplicado, seus resíduos gerados e das condições climáticas do ambiente (SILVA, 2013; STEFFEN; STEFFEN; ANTONIOLLI, 2011). Além disso, os mecanismos de retenção, transformação e transporte das substâncias também interferem neste processo. Por isso, a presença dos agrotóxicos no meio pode variar entre dias e até mesmo décadas (SILVA, 2013).

Além de serem importantes na retenção e degradação dos agrotóxicos, algumas das características do solo ajudam na determinação do potencial de poluição destas substâncias em águas (STEFFEN; STEFFEN; ANTONIOLLI, 2011). Como destacado anteriormente, a contaminação de águas por resíduos de agrotóxicos é um dos principais problemas decorrentes do uso de tais produtos, podendo atingir recursos hídricos superficiais e subterrâneos (PERES; MOREIRA; DUBOIS, 2003).

Segundo Silva (2013), há distinção entre o modo de contaminação em águas superficiais e em águas subterrâneas. Quando se trata do primeiro caso, as substâncias escoam até o local pela ação da chuva, atingindo córregos, rios, lagos e açudes. Já no segundo caso, a contaminação é dada pelo transporte vertical da água presente no solo juntamente com os contaminantes dissolvidos nela. A autora ainda destaca que, dois dos grandes problemas da contaminação de águas superficiais e subterrâneas é a morte da fauna aquática e seu consumo pela população, contribuindo para os problemas ambientais e de saúde pública.

Neste contexto, as matas ciliares se tornam um elemento de suma importância para fontes naturais. Além de serem responsáveis pela atenuação de degradações e erosões nos solos, estas agem como barreiras às substâncias contaminantes dos solos, evitando que atinjam os recursos hídricos e provoquem o desequilíbrio do meio (MOCELLIN, 2014).

3.2.3 Determinação de Resíduos de Agrotóxicos em Solos

A grande variedade de agrotóxicos aplicados atualmente exige a utilização de métodos multirresíduos para a identificação e quantificação da presença dessas substâncias em solos, águas e teias alimentares (FERNANDES et al., 2013). A

dificuldade de identificação de multirresíduos em um único teste é a obtenção de resultados precisos para todos os analitos, devido à ampla variedade de propriedades físico-químicas que se tem no mesmo ensaio (BATISTA, 2015).

Neste contexto, o método QuEChERS vem sendo utilizado para a identificação de multirresíduos de agrotóxicos, em substituição aos métodos tradicionais, devido a sua alta recuperação em uma ampla gama de polaridade e de volatilidade de agrotóxicos, tendo baixo consumo de solventes e resultados de alta qualidade com baixo custo e pouco trabalho (BATISTA, 2015; FERNANDES et al. 2013).

Basicamente, as etapas envolvidas no método QuEChERS são: extração, realizada pela adição de acetonitrila à amostras; partição, consiste na adição de sais tamponantes para ajuste do pH, separação de fases e remoção da água; e limpeza do extrato, realizada por extração em fase sólida dispersiva (d-SPE), consistindo na adição de um sal tamponante e um adsorvente a fase orgânica superior da amostra, para remover o restante da água e impurezas indesejadas (BATISTA, 2015).

Vale ressaltar que, inicialmente, o método QuEChERS apresentou ótimos resultados nos mais diversos tipos de amostras, porém algumas aplicações do teste exigiram modificações do mesmo, para que os resultados pudessem ser mais satisfatórios, fazendo com que hoje existam variações deste método (BATISTA, 2015; FERNANDES et al. 2013).

Para a identificação e quantificação das substâncias extraídas pelo método QuEChERS, uma das técnicas mais utilizadas é a cromatografia gasosa, podendo ser combinada com diferentes sistemas de detecção. Uma delas é o acoplamento da cromatografia gasosa com a espectrometria de massa, cuja combinação fornece vantagens como aumento seletividade e alta eficiência de separação. Além disso, devido à sensibilidade da espectrometria de massas é possível realizar o processo com baixa quantidade de amostra e, até mesmo, em baixas concentrações (BATISTA, 2015).

3.3 ECOTOXICOLOGIA

A toxicologia é a ciência responsável pelo estudo dos efeitos causados pelas substâncias químicas e os efeitos físicos nos organismos, determinando os riscos que uma determinada substância oferece e em quais condições. Esta ciência está

dividida em três áreas: toxicologia clínica, toxicologia forense e toxicologia ambiental. Dentre estas áreas, a que se preocupa com o bem-estar do ser humano, animais e plantas, é a toxicologia ambiental (COSTA et al., 2008).

O termo ecotoxicologia, ramo da toxicologia ambiental, foi proposto pela primeira vez em 1969, pelo toxicologista René Truhaut, durante a reunião do *Committee of the International Council of Scientific Unions* (MAGALHÃES; FERRÃO FILHO, 2008). O toxicologista definiu o termo como a ciência que estuda os efeitos tóxicos de diversos agentes, naturais ou sintéticos, sobre os seres vivos, animais e vegetais, terrestres ou aquáticos que constituem os ecossistemas (MAGALHÃES; FERRÃO FILHO, 2008; MONTEIRO, 2009).

A ecotoxicologia é fundamentada no estudo do ambiente e das interações dos compostos químicos com os organismos vivos, objetivando, por meio de um método, determinar a intoxicação ambiental, para impedir e/ou prevenir a mesma (MAGALHÃES; FERRÃO FILHO, 2008; MONTEIRO, 2009).

Por meio das informações obtidas nos testes ecotoxicológicos, é possível determinar os níveis de contaminantes no ambiente, bem como seu destino, grau de periculosidade e os limites máximos permitidos. Além disso, pode-se detectar e prever os efeitos das substâncias poluentes ao meio, os riscos ecológicos e o efeito das possíveis medidas a serem adotadas (COSTA et al., 2008).

Os testes de ecotoxicidade utilizam sistemas biológicos para identificar os efeitos tóxicos. Isso se deve ao fato que somente esses organismos são capazes de fornecer este tipo de resultado. Além de que, a ecotoxicologia busca quantificar a toxicidade do meio e não identificar os agentes tóxicos de forma isolada. Os autores ainda explicam que, ao ser expostos a toxicidade do meio de estudo, os organismos testes apresentam alguma alteração fisiológica, morfológica ou comportamental. Por isso, durante os testes, os organismos são expostos a diferentes concentrações das amostras e por diferentes períodos de tempo, permitindo resultados de melhor acurácia (MAGALHÃES; FERRÃO FILHO, 2008).

3.3.1 Testes de Toxicidade Aguda e Crônica

A avaliação ecotoxicológica do ambiente de estudo pode ser aguda ou crônica. Os testes de toxicidade aguda referem-se à exposição do organismo teste a amostra por um período curto de tempo. Neste caso, a exposição varia de 0 a 96h, e

o teste consiste em avaliar a mortalidade ou outra forma de manifestação do organismo a toxicidade, como por exemplo, a imobilidade do mesmo (COSTA et al., 2009; MAGALHÃES; FERRÃO FILHO, 2008).

Já os testes de toxicidade crônica expõem os organismos testes por um período longo de tempo, compreendendo os efeitos que abrangem boa parte da vida do organismo teste, ou até mesmo toda ela. Assim, o organismo é exposto a concentrações que não são letais a ele, mas que afetam suas funções biológicas, como reprodução e crescimento (COSTA et al., 2009).

3.3.2 Organismo Teste

A escolha do organismo teste é um dos fatores mais importantes nos testes ecotoxicológicos, pois é por meio da resposta do organismo de escolha que será determinada o grau de toxidade do ambiente estudado. Para uma escolha adequada, alguns fatores devem ser levados em consideração, dentre eles os principais são: sensibilidade; abundância; disponibilidade; espécies com ampla distribuição geográfica; espécies de biologia, fisiologia e hábitos alimentares conhecidos; espécies estáveis geneticamente e com uniformidade das populações (MONTEIRO, 2009; MAGALHÃES; FERRÃO FILHO, 2008).

Devido à diferença de reação de cada organismo teste a um dado efeito tóxico, os testes ecotoxicológicos devem, preferencialmente, ser realizados com mais de um tipo do mesmo e de níveis diferentes na cadeia trófica, para garantir uma boa avaliação e caracterização dos efeitos tóxicos sobre o ambiente (COSTA et al., 2009; MAGALHÃES; FERRÃO FILHO, 2008).

Os indicadores biológicos mais empregados são: vegetais, microalgas, microcrustáceos, bactérias, peixes, equinoides e poliquetas, oligoquetas (MAGALHÃES; FERRÃO FILHO, 2008). Dentre estes, destaca-se a espécie vegetal *Allium cepa* L., que vem sendo amplamente utilizada devido sua grande sensibilidade e correlação com os meios testados, se destacando, entre os bioensaios com vegetais, para a identificação de efeitos genotóxicos e mutagênicos de poluentes em solos e águas (ARRAES; LONGHIN, 2012; KRÜGER, 2009).

O uso da espécie como bioindicadora em testes de toxicidade iniciou em 1938 quando Levan estudou os efeitos da colchicina. A partir de então o teste foi sendo empregado para diversos estudos de toxicidade, sendo sugeridas algumas

modificações no método de ensaio para a obtenção de melhores resultados (FISKESJÖ, 1985).

Ensaio com o organismo teste *A. cepa* têm sido utilizados para avaliar a citotoxicidade (distúrbios no ciclo mitótico) e mutagenicidade (aberrações cromossômicas), devido à sensibilidade do organismo aos poluentes ambientais. O índice mitótico refere-se ao número total de células em divisão no ciclo celular, onde valores maiores ou menores deste, comparado a um padrão (controle negativo), são utilizados para a avaliação do monitoramento da poluição ambiental. As aberrações cromossômicas referem-se às alterações na estrutura ou no número de cromossomos podendo ser causadas por exposição a agentes mutagênicos físicos e/ou químicos (ARRAES; LONGHIN, 2012).

Além das características já mencionadas, o teste com *A. cepa* se torna vantajoso pelo fato de a espécie ser acessível durante todo ano e com um baixo custo (FISKESJÖ, 1985; KRÜGER, 2009). Outro ponto que vale ser destacado é que os bioensaios com a espécie podem ser utilizados tanto para o estudo de mecanismos básicos quanto para a indicação dos efeitos causados por produtos químicos (FISKESJÖ, 1985).

3.4 ANÁLISES FÍSICO-QUÍMICAS

O conhecimento da capacidade de fornecimento de nutrientes de um solo para as plantas é um aspecto importante a ser avaliado para o uso de corretivos e fertilizantes no manejo das culturas, sendo que, as análises físico-químicas (métodos quantitativos), são as únicas que podem fornecer informações para este tipo de avaliação. Além de possuírem baixo custo e rapidez na obtenção de resultados, este tipo de análise evita gastos desnecessários com insumos e mão-de-obra, evita desequilíbrios nutricionais e minimiza os danos ao meio ambiente, principalmente a contaminação de águas (CARDOSO; FERNANDES; FERNANDES, 2009).

As análises químicas classificam os solos, explicam sua formação, contribuem para a avaliação da relação entre o solo e a planta, além de serem importantes no entendimento da atenuação de poluentes nos mesmos (LEITE, 2010). Já as análises físicas auxiliam no entendimento do crescimento das plantas,

transporte de substâncias, seu comportamento no meio e qual a melhor forma de manejo (BRADY; WEIL, 1986).

Para uma avaliação completa da fertilidade do solo são utilizadas as seguintes análises físico-químicas: pH, macronutrientes (nitrogênio, fósforo, potássio, cálcio, magnésio, enxofre), micronutrientes (zinco, manganês, cobre, ferro, boro), alumínio, acidez potencial, matéria orgânica e granulometria (CARDOSO; FERNANDES; FERNANDES, 2009).

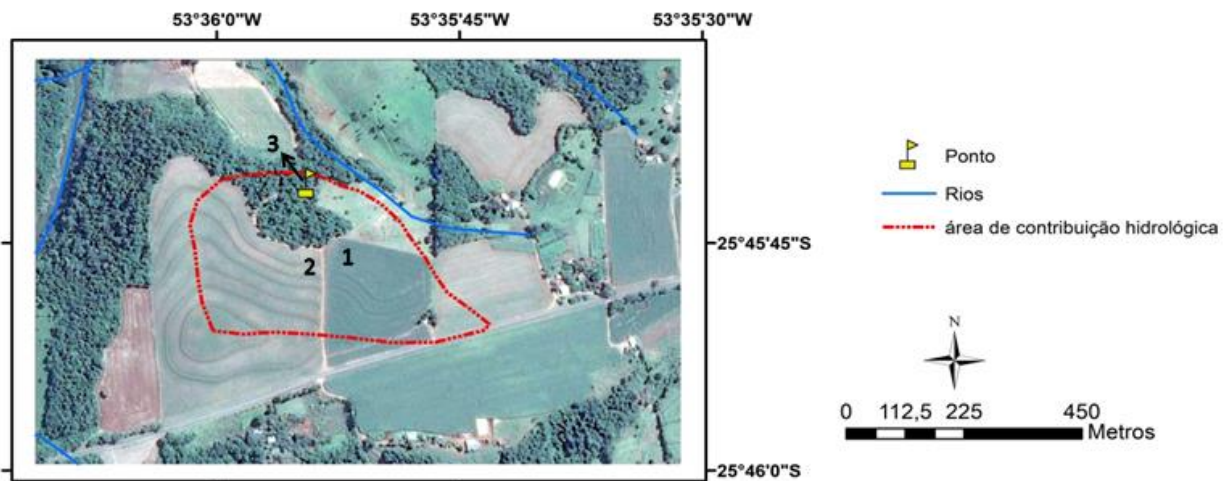
4 METODOLOGIA

4.1 COLETA DAS AMOSTRAS

Coletaram-se amostras de solo em uma propriedade rural, localizada no sudoeste do Paraná, onde são cultivadas as culturas de aveia, feijão, milho e soja. A lavoura estudada está localizada entorno de uma fonte natural que abastece a família residente na propriedade (indicador amarelo da Figura 3).

Determinaram-se três pontos de coleta: um próximo à fonte (Ponto 3) e os outros dois em lavouras que possuem influência na qualidade da água (Ponto 1 e Ponto 2) (Figura 3). As coordenadas geográficas para os pontos de coleta, no Google Earth, são: Ponto 1 - 25°45'45"S 53°35'53"W, Ponto 2 - 25°45'40"S 53°35'54"W e Ponto 3 - 25°45'40"S 53°35'53"W.

Figura 3 - Local da fonte e coleta das amostras



Fonte: Autoria própria (2018).

Para a coleta do solo usou-se a profundidade de 10 cm a 20 cm segundo a metodologia de Filizola, Gomes e Souza (2006). O uso deste intervalo é justificado pelo fato de que, em solos cultivados, a camada de interesse de estudo, chamada arável, se localiza de 0 a 20 cm. Assim, retirou-se a camada superior de solo e realizou-se a coleta a partir de 10 cm de profundidade.

Foram coletadas 5 amostras de cada ponto, estas foram misturadas por ponto e colocadas em embalagens plásticas transparentes para armazenamento em ambiente climatizado à 25°C.

4.1.1 Preparo do Solo Controle Negativo

O solo utilizado como controle negativo (CO-) foi preparado com uma mistura de 80% de areia (480 g), 10% de caulim em pó (60 g) e 10% de fibra de coco (60 g), totalizando 600 g. Antes do preparo do solo CO- a areia foi seca em estufa à 105°C por 24h. Após, ela foi peneirada em peneira de 2 mm (10 mesh).

4.1.2 Teste e Calibração da Umidade

Pesou-se 100 g de cada amostra (CO-, Ponto 1, Ponto 2 e Ponto 3) em uma placa de Petri e colocou-se as mesmas para secar na estufa à 105°C por 24h. Após a secagem as amostras foram pesadas novamente e foram calculadas as umidades de cada amostra em base seca.

4.2 ANÁLISES FÍSICO-QUÍMICAS

As análises físico-químicas para a caracterização das amostras de solo foram realizadas no Laboratório SOLANALISE na cidade de Francisco Beltrão.

4.2.1 pH em Água Destilada e Cloreto de Cálcio (CaCl₂)

Determinou-se o pH segundo a metodologia de Embrapa (1997). Preparou-se uma suspensão, adicionando-se 10mL de solo em um béquer de 100mL juntamente com 25mL de líquido (água destilada ou CaCl₂ 0,1 mol/L). Em seguida, agitou-se a amostra com bastão de vidro e deixou-se a mesma em repouso por 1 hora. Por fim, calibrou-se o pHmetro e mediu-se o pH.

4.2.2 Acidez potencial

Para a acidez potencial, utilizou-se a metodologia disposta em Silva et al. (1998). Colocou-se 10 g de solo em um erlenmeyer de 125 mL, adicionando-se 75 mL de acetato de cálcio (C₄H₆O₄Ca) 0,5 mol/L. Agitou-se a solução, deixando em repouso por 12 horas.

Pipetaram-se 25 mL do extrato em um béquer de 100 mL para titulação com hidróxido de sódio (NaOH) 0,025 mol/L, utilizando-se fenolftaleína (C₂₀H₁₄O₄) como indicador. Preparou-se também uma solução branco, realizando-se o mesmo procedimento. Anotaram-se os volumes gastos nas titulações, calculando-se a acidez potencial.

4.2.3 Macro e Micronutrientes

Para a determinação de cálcio (Ca), magnésio (Mg) e alumínio (Al) utilizou-se extração com cloreto de potássio (KCl) 1 mol/L de acordo com a metodologia de Silva et al. (1998).

Colocou-se 10 cm³ de solo em erlenmeyer de 125 mL juntamente com 100 mL de solução de KCl, agitando-se a solução por 5 min em agitador horizontal circular, deixando decantar 12 horas.

Primeiramente determinaram-se as concentrações de Ca e Mg. Para isso, pipetaram-se 25 mL do extrato em um erlenmeyer de 125 mL, adicionando-se 4 mL de uma solução de cianeto de potássio (KCN), trietanolamina (C₆H₁₅NO₃) e solução tampão, juntamente com 30 mg de ácido ascórbico (C₆H₈O₆) e 3 gotas do indicador negro de eriocromo-T (C₂₀H₁₂N₃O₇SNa). Titulou-se a solução com sal dissódico de ácido etilenodiamino tetra-acético (EDTA) 0,0125 mol/L até o aparecimento da cor azul, anotando o volume da solução de EDTA gasto. Por meio do volume calcularam-se as concentrações de Ca e Mg (concentração total dos componentes somados) na amostra.

Para a determinação somente do Ca pipetaram-se 25 mL do extrato em um erlenmeyer de 125 mL, adicionando 3 mL de hidróxido de potássio (KOH) 100g/L e 30 mg do indicador calconcarbônico + sulfato de sódio. Titulou-se a solução com EDTA 0,0125 mol/L até o aparecimento da cor azul, anotando o volume gasto. Calculou-se a concentração de Ca pelo volume da solução de EDTA gasto na titulação e a concentração de Mg pela diferença das concentrações obtidas nas duas titulações.

Por fim, para a determinação do Al, pipetaram-se 25 mL do extrato em um erlenmeyer de 125 mL, adicionando 3 gotas do indicador azul de bromotimol (C₂₇H₂₈Br₂O₅S) 1g/L. Titulou-se a solução com hidróxido de sódio (NaOH)

0,025mol/L até o aparecimento da cor verde, anotando o volume gasto para o cálculo da concentração de Al.

Já para a determinação das concentrações de potássio (K), fósforo (P), ferro (Fe), manganês (Mn), cobre (Cu) e zinco (Zn) utilizou-se o método de extrator Mehlich 1 de acordo com a metodologia de Silva et al. (1998).

Inicialmente, mediram-se 10 cm³ de solo colocando-o em erlenmeyer de 125 mL. Adicionou-se 100 mL de solução extratora duplo-ácida (ácido clorídrico, HCl, 0,05M + ácido sulfúrico, H₂SO₄, 0,0125 mol/L, agitou-se a solução por 5 min em agitador horizontal circular para posterior repouso até o dia seguinte.

Para a determinação de P pipetaram-se 25 mL do extrato, colocando em recipientes plásticos de aproximadamente 30 mL. Pipetou-se 5 mL desse extrato colocando em erlenmeyer de 125 mL juntamente com 10 mL de solução ácida de molibdato de amônio ((NH₄)₆Mo₇O₂₄) diluída e 30 mg de ácido ascórbico em pó. Agitou-se a solução por 2 min em agitador horizontal circular e depois de 1 hora efetuou-se a leitura da densidade ótica no fotocolorímetro, usando filtro vermelho e comprimento de onda de 660 nm. Para a construção da curva de calibração padrão, pipetaram-se 5 mL de cada solução padrão diluída de fósforo (soluções preparadas a partir da diluição da solução padrão de fósforo, coletando-se 10, 20, 30 e 40 mL da mesma em balões volumétricos de 250 mL, completando o volume com solução extratora) em erlenmeyers de 125 mL juntamente com 10 mL de solução ácida de molibdato de amônio diluída e 30 mg de ácido ascórbico em pó, realizando o mesmo procedimento para a determinação de P no extrato. Com os dados obtidos, construiu-se a curva de calibração e determinou-se o teor de P no solo.

Com o mesmo extrato retirado para a análise de P (30 mL no recipiente plástico), coletou-se 20 mL para a determinação de K nas amostras e levou-se ao fotômetro de chama para leitura das amostras, selecionando o filtro próprio para o potássio aferindo o aparelho com água destilada. Para a construção da curva de calibração padrão, realizaram-se as leituras das soluções padrões diluídas de potássio (soluções preparadas a partir da diluição da solução padrão de potássio, coletando-se 50, 100, 150 e 200 mL da mesma em balões volumétricos de 500 mL, completando o volume com solução extratora obtendo-se as concentrações de 0,1, 0,2, 0,3 e 0,4 mmol/L) no fotômetro de chama, construindo a curva de calibração para posterior determinação de potássio no solo.

Para a determinação dos micronutrientes (Fe, Cu, Zn, Mn) colocou-se 5 g de solo em erlenmeyer de 125 mL juntamente com 25 mL da solução extratora duplo-ácida. Agitou-se a mistura por 5 min em agitador circular horizontal. Filtrou-se a suspensão e fez-se a leitura do filtrado em espectrofotômetro de absorção de luz atômica. Para a construção da curva de calibração prepararam-se as soluções padrões por meio da diluição da solução inicial pipetando-se desta 5, 10, 25, 50 e 75 mL colocando em balão volumétrico e completando o volume com água destilada. Mediram-se as absorbâncias de cada solução e construíram-se as respectivas curvas de calibração para determinação da concentração de cada componente nas amostras de solo. Cada metal possui sua solução inicial, sendo construídas curvas de calibração para cada componente avaliado.

4.2.4 Matéria Orgânica

A matéria orgânica das amostras foi quantificada segundo o método de Walkley e Black sendo a metodologia descrita em Gatto et al. (2009). Pesaram-se 0,5 g do solo seco e peneirado em um erlenmeyer de 500 mL, adicionando-se 10 mL de solução de dicromato de potássio ($K_2Cr_2O_7$) 0,167 mol/L e 20 mL de H_2SO_4 concentrado a cada amostra. Agitaram-se as soluções e em seguida deixaram-se as mesmas em repouso por 30 min. Após, adicionou-se 150 mL de água destilada e realizou-se filtração a vácuo para cada uma das soluções. Em seguida, adicionaram-se 10 mL de ácido fosfórico (H_3PO_4) concentrado e 10 mL de do indicador difenilamina ($C_{12}H_{11}N$). Titularam-se as soluções com sulfato ferroso heptahidratado ($FeSO_4 \cdot 7H_2O$) a 0,25 mol/L até o aparecimento da coloração verde, anotando o volume gasto. O mesmo procedimento foi realizado para a solução branco. Calcularam-se então os teores de carbono orgânico e matéria orgânica.

4.2.5 Granulometria

A composição granulométrica de cada amostra de solo foi determinada segundo a metodologia de Embrapa (1997). Colocaram-se inicialmente 20g de cada solo em copos plásticos de 250 mL e adicionaram-se 100 mL de água e 100 mL de solução de NaOH 1N. Agitaram-se as soluções e deixaram-se as mesmas tampadas e em repouso por 12 horas.

Transferiu-se o conteúdo para o copo metálico do agitador elétrico “stirrer” com o auxílio de um jato de água, deixando o volume em torno de 300 mL. Colocou-se o copo no agitador e agitou-se durante 15 minutos. Peneiraram-se as amostras e colocaram-se as mesmas em provetas de 1000 mL, completando o volume com água, agitando-as. Preparou-se a prova em branco colocando-se o dispersante em uma proveta de 1000 mL contendo água. Completou-se o volume e agitou-se.

Mediram-se a temperatura da prova em branco e das amostras e verificou-se por meio de tabela o tempo de sedimentação da fração argila para 5 cm de profundidade. Calculado o tempo, introduziu-se uma pipeta de 50 mL até a profundidade de 5 cm e coletou-se as suspensões transferindo-as para uma cápsula de porcelana, juntamente com a porção proveniente da lavagem da pipeta.

Colocaram-se as cápsulas na estufa e deixaram-se até evaporar completamente a suspensão. Após, colocaram-se as cápsulas no dessecador, deixando esfriar e pesando-as em seguida, concluindo assim, a determinação da argila.

Completaram-se as lavagens da areia retida nas peneiras com água e transferiram-se as frações de areia de cada amostra para a lata de alumínio de peso conhecido, eliminando o excesso de água e colocando na estufa. Após a secagem, deixaram-se as amostras esfriarem e pesaram-se as mesmas, obtendo-se assim o peso da areia.

Calcularam-se as frações de silte nas amostras descontando os valores de areia e argilas obtidos do valor total de amostra.

4.3 DETECÇÃO E QUANTIFICAÇÃO DE RESÍDUOS DE AGROTÓXICOS

O método QuEChERS modificado foi empregado para a extração dos resíduos oriundos de agrotóxicos presentes nas amostras do solo controle negativo e dos três pontos amostrais (Pontos 1, 2 e 3). Utilizou-se a metodologia proposta em Fernandes et al., (2013), utilizando a versão 4.

Pesaram-se 5 g de solo em um tubo de centrífuga de 50 mL adicionando-se a solução padrão e deixou-se a amostra de solo durante 30 min à temperatura ambiente. Adicionaram-se 10 mL de acetonitrila (ACN), 3 mL de água, 6 g de sulfato de magnésio anidro ($MgSO_4$), 1,5 g de cloreto de sódio (NaCl), 1,5 g de citrato trissódico dihidratado ($C_6H_5Na_3O_7 \cdot 2H_2O$) e 0,75 g de dissódico hidrogenocitrato

sesquihidratado, colocando-se, em seguida, em agitador vórtex por 1 min. Colocou-se então o tubo de centrífuga durante 5 min em banho ultrassônico, a 50/60 Hz e 100 W, para posterior centrifugação a 300 rpm por 5 min.

Para a limpeza da amostra, retirou-se uma alíquota de 1,5 mL da camada superior e colocou-se em um mini tubo de limpeza de 2 mL de extração em fase sólida dispersiva (d-SPE) contendo 150 mg de amina secundária primária (PSA), 150 mg de sulfato de magnésio (MgSO₄) e 50 mg C18 (composto octadecilsilano). Centrifugou-se durante 5 min a 4000 rpm. Da camada superior da amostra preparada, transferiu-se uma alíquota de 500 µL para um frasco e colocou-se no amostrador automático do cromatógrafo gasoso.

Realizou-se a análise cromatográfica em cromatógrafo gasoso acoplado a um espectrômetro de massas (Shimadzu, GCMS-QP2010 SE) e separação na coluna capilar SLB[®]-5ms, da Sigma-Aldrich (30 m x 0,25 mm, x 0,25 µm). A temperatura do forno da coluna iniciou em 150 °C, aumentando 4 °C/min até atingir 300 °C, mantendo-a durante 4 min com uma taxa de arraste de hélio de 1,08 mL/min. Operou-se com temperatura da fonte de íons de 280 °C, volume injetado de 1 µL e tempo de operação com gás de aproximadamente 40 min.

4.4 TESTE ECOTOXICOLÓGICO

Para o procedimento do teste ecotoxicológico, precisou-se preparar um solo de controle negativo, bem como estimar sua umidade e das amostras de solo coletadas. Em seguida, prepararam-se as lâminas e realizaram-se as análises.

4.4.1 Teste de citotoxicidade e mutagenicidade com *Allium cepa* L.

Determinou-se a toxicidade do solo por meio do ensaio ecotoxicológico utilizando o organismo teste *A. cepa.*, seguindo a metodologia introduzida por Levan em 1949 (FISKESJÖ, 1985), com modificações baseadas no trabalho de Verma e Srivastava (2018).

Limparam-se bulbos de cebolas saudáveis e colocaram-se para enraizar nos solos controle negativo e nos três pontos amostrais (Pontos 1, 2 e 3). Realizaram-se duas repetições biológicas com três cebolas em cada repetição. Após três dias, coletaram-se raízes de cada grupo, colocando-as em frascos de vidro juntamente

com solução fixadora (3 metanol, CH₃OH: 1 ácido acético, CH₃COOH) suficiente para cobrir as raízes. Após pelo menos 24h na geladeira com o fixador, prepararam-se as raízes pela reação de Feulgen, sendo que lavaram-se as mesmas com água destilada e colocaram-se 5 mL de HCl 1N a 60 °C, por 10 minutos, em estufa a 60°C para sofrer hidrólise. Após lavagem, coraram-se as raízes com 5 mL do reativo de Schiff, por 45 minutos.

Para a confecção das lâminas, utilizou-se a região mais corada das raízes, contendo as células meristemáticas, macerando-as comorceína acética e cobrindo-as com lamínula. Colaram-se as lamínulas com esmalte incolor, a fim de garantir um maior tempo de viabilidade das lâminas. Após a confecção das lâminas armazenaram-se as mesmas na geladeira para posterior análise.

A análise das lâminas realizou-se em teste cego, em microscópico de luz (Leica, ICC50), com objetiva de 40x. Analisaram-se 1.000 células por bulbo, totalizando 6.000 células por grupo controle ou tratado.

Para a determinação da citotoxicidade contabilizaram-se as células nas diferentes fases da divisão celular mitótica (intérfase, prófase, metáfase, anáfase e telófase), e calculou-se o Índice Mitótico (IM %) de acordo com a Equação (1):

$$IM = \frac{\text{número de células em divisão}}{\text{número total de células analisadas}} * 100 \quad (1)$$

Para a avaliação da mutagenicidade das amostras diferenciaram-se as células com alterações estruturais, como metáfases colchicínicas ou desorganizadas, anáfases desorganizadas ou com pontes, telófase com ponte e outras, e calculou-se o Índice de Mutagenicidade (IMG %) de acordo com a Equação (2):

$$IMG = \frac{\text{número de células alteradas}}{\text{número total de células analisadas}} * 100$$

A análise estatística realizou-se pelo teste t não pareado (com nível de significância $\alpha=0,05$).

5 APRESENTAÇÃO E DISCUSSÃO DOS RESULTADOS

5.1 TESTE E CALIBRAÇÃO DA UMIDADE

A umidade total do solo utilizada para a realização do teste com a *A. cepa* foi de 45%, ajustada baseada na umidade de cada amostra controle ou tratada, conforme dados da Tabela 6.

Tabela 6: Dados da umidade das amostras e valores de água utilizados para calibração da umidade em 45%

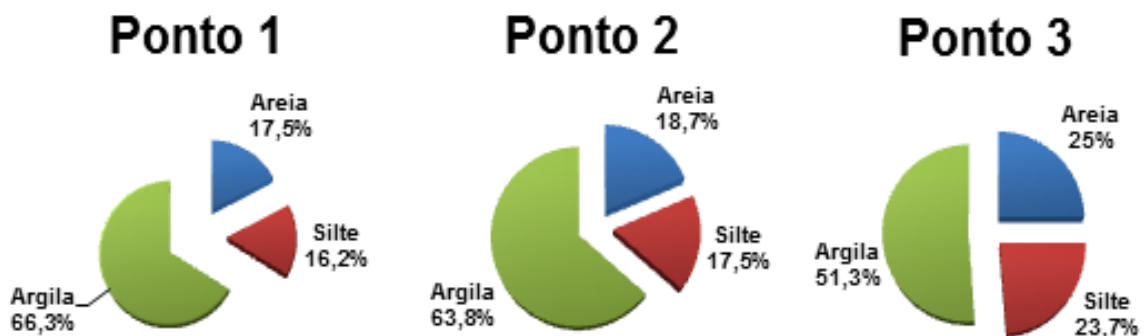
Amostra	Umidade em 100 g	mL de H ₂ O para 100 g	mL de H ₂ O para 600 g
CO-	4,76 % ≈ 5,0 %	40,0	240,0
Ponto 1	33,12 % ≈ 33,0 %	12,0	72,0
Ponto 2	32,27 % ≈ 32,0 %	13,0	78,0
Ponto 3	38,03 % ≈ 38,0 %	7,0	42,0

Fonte: Autoria própria (2018).

5.2 ANÁLISES FÍSICO-QUÍMICAS

A distribuição das partículas no solo é determinada de acordo com o tamanho de cada uma delas, sendo classificadas em três grupos: areia, silte e argila. A areia possui um diâmetro médio entre 2 e 0,05 mm, o silte entre 0,05 e 0,002 mm e a argila menor ou igual à 0,002 mm (BRADY; WEIL, 1986). Na Figura 4 apresenta-se a distribuição percentual de cada tipo de partícula para os Pontos 1, 2 e 3:

Figura 4 - Distribuição das partículas das amostras de solo



Fonte: Autoria própria (2018).

De acordo com o triângulo para determinação de classes texturais (BRADY; WEIL, 1986), que leva em consideração as frações de cada componente do solo, os Pontos 1 e 2 são classificados como solos muito argilosos e o Ponto 3 como argiloso.

Em análise aos gráficos nota-se que a distribuição dos componentes é semelhante entre as amostras, sendo a argila o componente predominante. Segundo Brady e Weil (1986), devido ao fato da argila ser uma partícula muito pequena, a sua área superficial específica é muito grande, permitindo que esta tenha uma enorme capacidade de absorção de água e substâncias.

Brady e Weil (1986) ainda destacam que a superfície específica das partículas influencia em propriedades e comportamentos do solo. Desta forma, na Tabela 7 estão apresentadas algumas propriedades e comportamentos de solos, cuja argila é o componente de maior presença na composição, característica atribuída às amostras analisadas.

Tabela 7 - Propriedades e comportamento de solos predominantemente compostos por argila

Propriedades/Comportamento	Índice
Capacidade de retenção de água	Alto
Teor de matéria orgânica	Médio a alto
Suscetibilidade a erosão eólica	Baixo
Suscetibilidade a erosão hídrica	Baixo, se agregado; Alto, quando não
Potencial de lixiviação de poluentes	Baixo
Capacidade de armazenamento de nutrientes	Alta
Resistência de mudança de pH	Alta

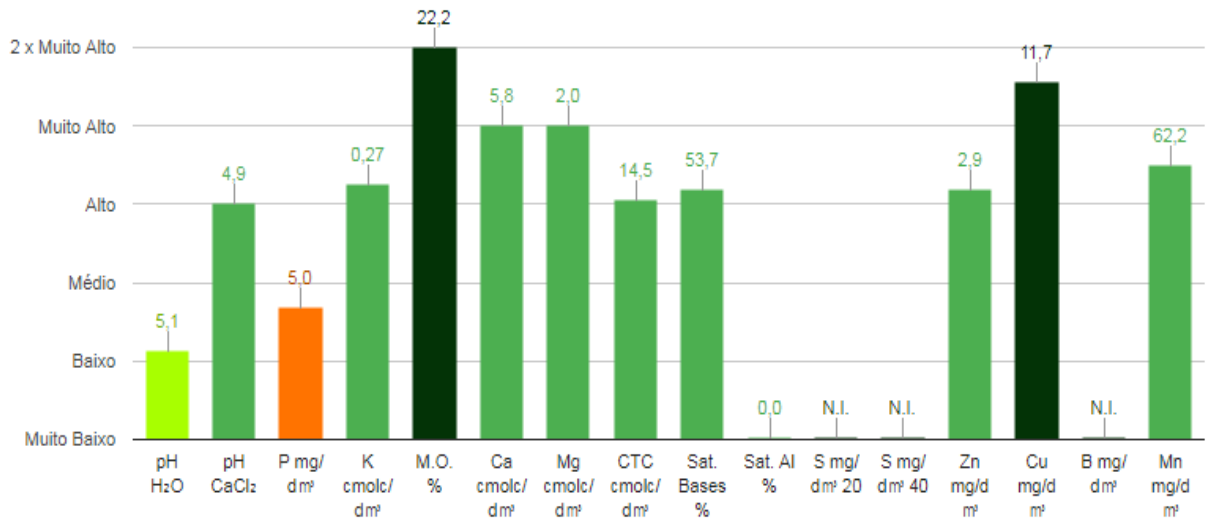
Fonte: Adaptado de Brady e Weil (1986).

Para as análises químicas, utilizou-se o sistema FertFacil para a interpretação dos resultados obtidos. Este sistema utiliza diversos manuais de recomendação de fertilização e calagem para análises de solo de acordo com o estado em que o mesmo se localiza. Assim, ao inserir os resultados, o sistema apresenta em forma de gráfico indicando sua classe de interpretação. Nas Figuras 5, 6 e 7 estão apresentados os resultados para os Pontos 1, 2 e 3, respectivamente. Vale ressaltar que o sistema possui um modo padrão de inserção de dados, não sendo possível excluir as colunas referentes a análises não realizadas, neste caso a de enxofre (S) e Boro (B).

Realizaram-se medidas de pH em água e CaCl_2 apenas para comparação dos resultados. O problema de se avaliar o pH medido em água é que este não consegue quantificar os ácidos fracos presentes nas amostras e também como algumas amostras podem estar úmidas no momento da análise, a concentração de sal aumenta, acarretando num valor de pH maior. Já a leitura do pH em CaCl_2 não apresenta os problemas descritos, por isso seu valor é sempre menor do que o pH medido em água, fato que ocorreu nas três amostras. Mesmo os valores de pH de

ambos os métodos não serem tão distintos, para a análise do pH levou-se em consideração os resultados obtidos para a análise com CaCl_2 .

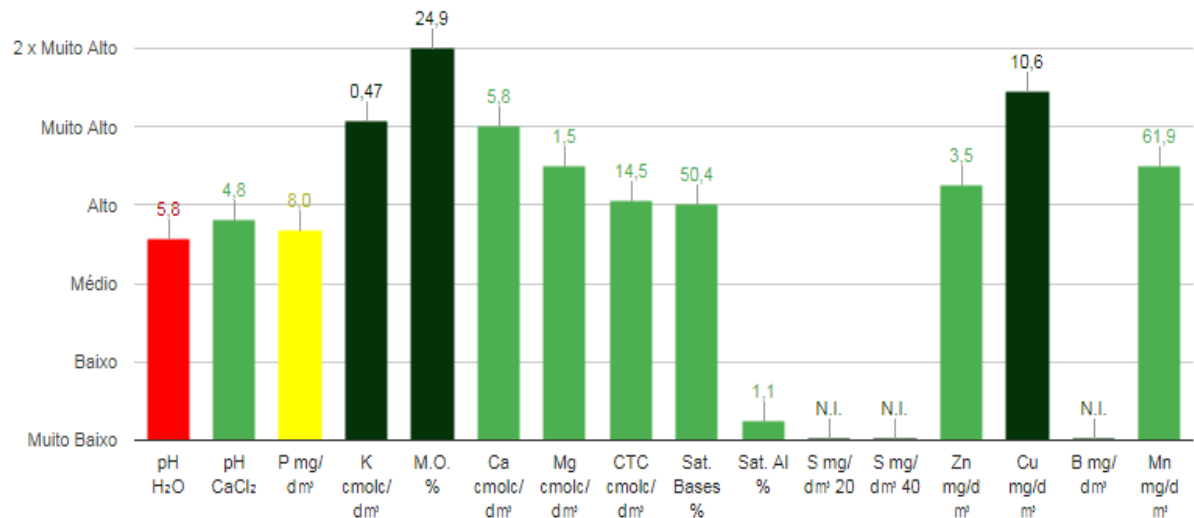
Figura 5 - Interpretação dos parâmetros químicos para o Ponto 1



Fonte: Autoria própria (2018).

Nota: P (fósforo), K (potássio), M.O. (matéria orgânica), Ca (cálcio), Mg (magnésio), CTC (capacidade de troca iônica), Sat. (saturação), Al (alumínio), S (enxofre), Zn (zinco), Cu (cobre), B (boro) e Mn (manganês).

Figura 6 - Interpretação dos parâmetros químicos para o Ponto 2



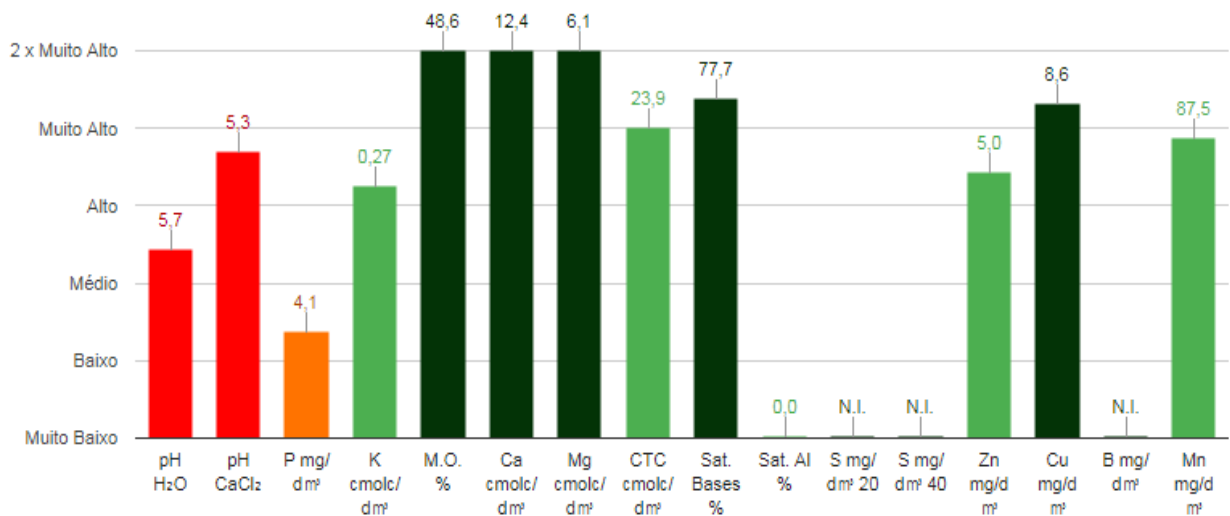
Fonte: Autoria própria (2018).

Nota: P (fósforo), K (potássio), M.O. (matéria orgânica), Ca (cálcio), Mg (magnésio), CTC (capacidade de troca iônica), Sat. (saturação), Al (alumínio), S (enxofre), Zn (zinco), Cu (cobre), B (boro) e Mn (manganês).

A análise da Figura 5 indica que o Ponto 1 apresenta o valor de pH igual a 4,9. Valores de pH de solos compreendidos entre 4 e 5 indicam a presença de Al, enquanto valores próximos de 5,2 e 5,3 indicam que o Al está tão solubilizado que

não causa danos as raízes. A presença do Al no solo pode inibir o crescimento das raízes das plantas e influenciar na disponibilidade de nutrientes e processos naturais do solo (SOBRAL et al., 2015). Entretanto, os dados (Figura 5) mostram ausência de saturação de alumínio, mas presença muito alta de cálcio. De acordo com Leite (2010), o teor de Al é baixo em solos onde o teor de Ca é alto, fazendo com que as plantas utilizem Ca para crescer sem que os efeitos maléficos do Al sejam prejudiciais ao processo.

Figura 7 - Interpretação dos parâmetros químicos para o Ponto 3



Fonte: Autoria própria (2018).

Nota: P (fósforo), K (potássio), M.O. (matéria orgânica), Ca (cálcio), Mg (magnésio), CTC (capacidade de troca iônica), Sat. (saturação), Al (alumínio), S (enxofre), Zn (zinco), Cu (cobre), B (boro) e Mn (manganês).

O Ponto 2 (Figura 6), apresenta o valor de pH igual a 4,8, também contido na faixa onde o Al pode causar danos aos vegetais e, neste caso, comprovado pela presença de Al na amostra (saturação de 1,15%).

O Ponto 3 (Figura 7) apresentou valor de pH igual a 5,3, contido na faixa onde o Al não causa danos, confirmado pela ausência de saturação de alumínio e presença 2 vezes maior de cálcio na amostra, comparado os Pontos 1 e 2.

Outros dados importantes na avaliação do solo são a saturação por bases e a capacidade de troca iônica (CTC). O primeiro corresponde à soma dos valores obtidos para o Ca, Mg, K e Na, sendo que valores de saturação de bases menores que 50% indicam a necessidade de correção do solo (SOBRAL et al., 2015). Já o segundo, corresponde à soma de Ca, Mg, K, Na e acidez potencial (H + Al), sendo um dado utilizado para o manejo da adubação. A CTC fornece a quantidade de

cargas negativas presentes no solo, responsáveis pela retenção de elementos importantes para as plantas, consistindo em um indicativo da reserva de nutrientes para as plantas. Além disso, valores baixos de CTC indicam a necessidade de adição de N e K ao solo para evitar perdas por lixiviação (SOBRAL et al., 2015; LEITE, 2010).

Os valores obtidos para saturação de bases para os Pontos 1, 2 e 3 são respectivamente, 54,62%, 51,94% e 48,59%. Segundo Ronquim (2010), a saturação de bases é utilizada para a avaliação da fertilidade do solo, sendo que solos eutróficos, considerados férteis e sem necessidade de calagem (aplicação de calcário no solo), apresentam saturação de bases maior que 50%, e solos distróficos, considerados pouco férteis e com necessidade de calagem, apresentam saturação de bases menores que 50%. Apesar do valor de saturação de bases do Ponto 3 ser menor que 50% , este solo não apresenta necessidade de correção pela proximidade do valor obtido com o valor de comparação. Assim como o Ponto 3, os Pontos 1 e 2 também não necessitam de adubação, pois apresentam valores superiores ao de comparação. Em relação a CTC, todos os pontos apresentam valores classificados como altos, indicando que não há necessidade de adubação do solo.

Em uma análise de modo geral, nota-se que os resultados obtidos para macronutrientes (P, K, Ca e Mg) e micronutrientes (Cu, Fe, Mn e Zn), substâncias essenciais para o metabolismo das plantas, estão classificados como médios e altos, não apresentando nem escassez e nem excesso de nutrientes. Além destes, os teores de matéria orgânica (MO), constituinte fundamental para a manutenção do solo, também apresentam classificação média e alta, mostrando que o solo encontra-se em boas condições, não necessitando de correção e adubação.

5.3 DETECÇÃO E QUANTIFICAÇÃO DE RESÍDUOS AGROTÓXICOS

A Tabela 8 apresenta os resultados dos resíduos de agrotóxicos detectados e quantificados. Como esperado, o controle negativo não apresentou nenhum resíduo de agrotóxico. Já os Pontos 1, 2 e 3 apresentaram alguns compostos organoclorados e organofosforados na sua composição. Para os Pontos 1 e 2 a presença é justificada pelo fato do uso destes solos em atividades agrícolas, enquanto para o Ponto 3 a presença deve ser devido ao arraste das substâncias

pelos mecanismos naturais do ambiente, já que este não é usado no cultivo, estando localizado próximo a fonte, protegida por mata ciliar.

O único composto presente em todas as amostras é o sulfona de dissulfotão. Todos os demais estão presentes em apenas duas amostras ou até mesmo em uma única amostra. Em relação à concentração das substâncias detectadas não há um limite máximo permitido para solos, existem somente limites máximos permitidos nas culturas cultivadas nos solos, alimentos e águas.

No Brasil, o órgão responsável pela determinação dos limites máximos de resíduos (LMR) de agrotóxicos em alimentos é a ANVISA (Agência Nacional de Vigilância Sanitária). Para as substâncias em que os limites máximos nacionais não foram ainda determinados, utilizam-se os limites da União Europeia como referência (LEITE, 2017). Nas Tabelas 9 e 10 estão apresentados os LMR segundo a ANVISA e União Europeia, respectivamente. Em relação aos limites nacionais, para os compostos paraoxão metilo e sulfona de dissulfotão não há limites estabelecidos pelo órgão responsável. Para o etoprofós somente há limite para a batata. Já para a trifluralina e mevinfós há limites para várias culturas, porém somente apresentaram-se os valores para as culturas cultivadas nas amostras de solo estudadas.

Tabela 8 – Concentração de organoclorados e organofosforados nas amostras de estudo

Compostos	CO-	Ponto 1	Ponto 2	Ponto 3
Organoclorados (mg/Kg)				
Trifluralina	n.d.	1485	3065	n.d.
Lindano	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
Heptacloro	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
Cianazina	n.d.	n.d.	3440	n.d.
Aldeído endrina	n.d.	n.d.	1149	1148
Endrina	n.d.	1621	n.d.	1610
Metoxicloro	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
Organofosforados (ng/g)				
Mevinfós	n.d.	4019	4023	n.d.
Etoprofós	n.d.	n.d.	n.d.	2737
Paraoxão metilo	n.d.	8430	n.d.	n.d.
Sulfona de dissulfotão	n.d.	5534	5526	5569

Fonte: Autoria própria (2018).

Nota: n.d. (não detectado).

Tabela 9 – Limites máximos de resíduos (LMR) de agrotóxicos segundo a ANVISA

Composto	Cultura	LMR (mg/Kg) - ANVISA
Trifluralina	Feijão, milho e soja	0,05
Mevinfós	Feijão	0,10
Etoprofós	Batata	0,05
Paraoxão metilo	-	-
Sulfona de dissulfotão	-	-

Fonte: Adaptado de ANVISA (2018).

Tabela 10 – Limites máximos de resíduos (LMR) de agrotóxicos segundo a União Europeia

Composto	Cultura	LMR (mg/Kg) - ANVISA
Trifluralina	Aveia, feijão, milho e soja	0,01
Mevinfós	Aveia, feijão, milho e soja	0,01
Etoprofós	Aveia, feijão, milho e soja	0,02
Paraoxão metilo	Aveia, milho e soja	0,02
	Feijão	0,01
Sulfona de dissulfotão	Aveia, milho e soja	0,02
	Feijão	0,01

Fonte: Adaptado de EU Pesticides database (2016).

Em relação ao percentual de presença de cada composto nas amostras como um todo, tem-se o composto sulfona de dissulfotão (organofosforado) como o de maior presença, com 33,69%, seguido do paraoxão metilo (organofosforado) com 17,08%, mevinfós (organofosforado) com 16,29%, trifluralina (organoclorado) com 9,22%, cianazina (organoclorado) com 6,97%, endrina (organoclorado) com 6,55%, etoprofós (organofosforado) com 5,55% e endrina aldeído (organoclorado) com 4,66%. Em termos somente de grupos, tem-se a presença de organofosforados em 72,61% e organoclorados em 27,39%.

Já em relação ao percentual total dos compostos relacionados a cada amostra, o Ponto 1 se destaca com o maior índice de resíduos, sendo 42,73%, seguido do Ponto 2 com 34,86% e, por fim, o Ponto 3 com 22,42%. Nota-se que o percentual do Ponto 3 é o menor, resultado já esperado, pois não há aplicação de agrotóxicos neste local, como mencionado anteriormente. Em relação a presença somente de organoclorados, o Ponto 2 possui 44,49%, seguido do Ponto 3 com 24,93% e, por fim, o Ponto 1 com 14,73%. E para os compostos organofosforados, o Ponto 1 possui 85,27%, o Ponto 3 indica 75,07% e o Ponto 2 com 55,51%.

Tanto os organoclorados quanto os organofosforados estão relacionados com a toxicidade aguda (SILVA, 2015). No caso de alguns compostos organoclorados, sua comercialização, venda e usos são proibidos na agropecuária desde 1985, como é o caso do lindano, heptacloro, endrinas e metoxicloro (BRASIL, 1985). Como observado na Tabela 8, dos compostos proibidos, há presença de endrinas nos Pontos 1 e 3.

Quanto aos organofosforados, nota-se a presença de todos os compostos estudados nas amostras. Atualmente, este grupo está entre os herbicidas mais utilizados no mundo com a finalidade de aumentar a produtividade agrícola. Além de possuírem baixo custo, o seu tempo de meia vida é curto, resultando em uma degradação mais rápida no meio ambiente. O surgimento dos organofosforados foi

devido à necessidade de substituir os organoclorados, já que estes se acumulam no ambiente por um longo período de tempo e possuem elevada toxicidade ambiental (BARBOZA et al., 2018).

Apesar da permanência dos organoclorados em solos por maiores períodos que a dos organofosforados, o uso dos organofosforados é muito maior, justificando sua maior incidência nas amostras.

Tanto as características físico-químicas dos solos quanto dos agrotóxicos influenciam nos processos de transformação e degradação das substâncias. Solos argilosos e com alto teor de matéria orgânica, como é o caso dos solos estudados, retêm as substâncias por mais tempo, favorecendo a permanência dos resíduos de agrotóxicos nos mesmos. Além disso, substâncias com maior massa molecular e presença de anéis aromáticos, como por exemplo, os organoclorados, também contribuem para a permanência destes resíduos no solo (FLORES et al., 2004).

5.4 TESTE ECOTOXICOLÓGICO

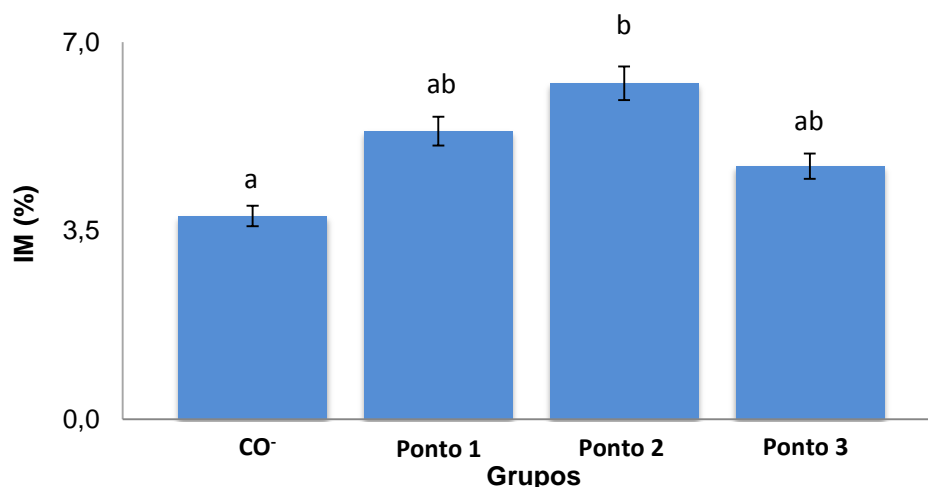
Na Figura 8 apresenta-se o resultado dos índices mitóticos (IMs) médios obtidos pelo teste de citotoxicidade com *A. cepa* (os dados do número de células em cada fase da divisão celular, seu total, respectivos índices mitóticos individuais e médios na Tabela 9 do Apêndice A). A análise estatística pelo teste t não pareado (Tabela 10 do Apêndice A) mostra que somente houve diferença estatisticamente significativa na comparação entre o CO- e o Ponto 2, os demais grupos foram semelhantes ao controle negativo e todos os grupos foram semelhantes entre si.

Os dados de estímulo das divisões celulares mitóticas, indicado pelo aumento do índice mitótico médio do Ponto 2, pode ser justificado pela maior presença de P e K neste ponto (Figura 6). Os nutrientes P e K são essenciais para o desenvolvimento das plantas, sendo que, no caso das cebolas, ambos se acumulam, principalmente, no bulbo. O K é um dos nutrientes mais exigidos pela espécie, enquanto o P é requerido apenas em pequenas quantidades. Mesmo assim, o P desempenha papel fundamental na divisão celular, sendo crucial para o crescimento radicular das mesmas estando relacionado com o armazenamento e fornecimento de energia. Como um dos principais sintomas da carência de P e K é a redução do tamanho e qualidade dos bulbos (COSTA et al., 2009; MORAES, 2016; RESENDE; COSTA; YURI, 2016), a maior quantidade destes nutrientes pode ter

ocasionado o estímulo no crescimento e, conseqüentemente, das divisões celulares mitóticas e do índice mitótico das raízes de cebola. Tanto que, as maiores concentrações de P e K foram correspondentes aos maiores valores de índices mitóticos. No Ponto 2 pode-se observar maior presença de ambas as substâncias (P: 7,95 mg/dm³ e K: 0,47 Cmol/dm³), seguido do Ponto 1 (P: 5,03 mg/dm³ e K: 0,27 Cmol/dm³) e, por fim, o Ponto 3 (P: 4,13 mg/dm³ e K: 0,27 Cmol/dm³). A mesma seqüência foi observada nos índices mitóticos médios: Ponto 2: 6,24%; Ponto 1: 5,35% e Ponto 3: 4,70%.

Em relação ao teste de mutagenicidade com as raízes de *A. cepa* (Figura 9), a comparação estatística do índice de mutagenicidade (IMG), pelo teste t não pareado (Tabela 11 do Apêndice A), mostrou que todos os tratamentos foram estatisticamente diferentes do controle negativo, indicando a presença de substâncias mutagênicas nas amostras destes solos. Porém, nas comparações entre os tratamentos, não houve diferença estatisticamente significativa para nenhum dos casos. Esses dados podem ser justificados pela presença de resíduos de agrotóxicos nas amostras dos solos utilizados na prática agrícola e a ausência dos mesmos no solo controle. Como mostrado anteriormente, as diferenças percentuais da quantidade de agrotóxicos entre os Pontos 1, 2 e 3 não foram discrepantes, fazendo com que as comparações entre as amostras de tratamento não apresentassem diferenças estatisticamente significativas.

Figura 8 – Índice Mitótico (IM) médio do grupo controle negativo e tratados com as amostras dos três pontos de coleta de solo



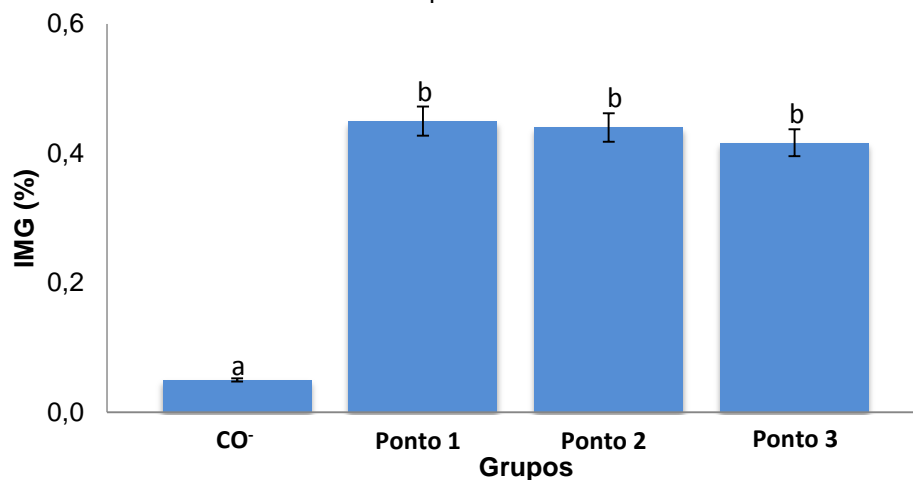
Fonte: Autoria própria (2018).

Nota: Médias seguidas pela mesma letra não diferem entre si pelo teste t não pareado ($p < 0,05$).

Sabe-se que, além das mutações espontâneas que podem ocorrer no organismo, a maioria das mutações é causada pela ação de agentes, físico-químicos e biológicos (FERNANDES, 2005). Apesar de escassos, alguns estudos vêm sendo realizados para a investigação dos efeitos mutagênicos de agrotóxicos (KRUGUER, 2009).

Conforme já explicado, o uso de agrotóxicos pode acarretar em uma série de danos tanto para o ser humano quanto para o meio ambiente. Além de possibilitarem o aparecimento de cânceres, as substâncias advindas dos agrotóxicos podem contribuir para doenças reprodutivas e degenerativas, já que em sua composição existem, geralmente, compostos de características genotóxicas e/ou mutagênicas. Assim, a problemática da presença destas substâncias devido à capacidade que elas possuem de interagir com o ácido desoxirribonucleico (DNA), promovendo alterações numéricas e estruturais nos cromossomos, ativação e inativação de genes (BIANCHI, 2008), ressaltando que, dentre essas, as alterações cromossômicas são umas das consequências mais notáveis nos organismos devido ao uso de agentes químicos (KRUGUER, 2009).

Figura 9 – Índice de Mutagenicidade (IMG) médio do grupo controle negativo e tratados com as amostras dos três pontos de coleta de solo



Fonte: Autoria própria (2018).

Nota: Médias seguidas pela mesma letra não diferem entre si pelo teste t não pareado ($p < 0,05$).

As alterações podem ocorrer em todas as fases do ciclo celular, sendo alguns exemplos de alterações cromossômicas, quebras de cromossomos, anáfases com ponte, anáfases e metáfases com perda de cromossomos (FERNANDES, 2005). Neste estudo, as alterações identificadas foram nas fases metáfase, anáfase e telófase, sendo elas: metáfase com cromossomos soltos, colchicínica, com perda

de cromossomos e desorganizada e com cromossomos desalinhados; anáfases com cromossomos tardios, desorganizadas e com pontes; e telófases com pontes, conforme mostrado na Tabela 14.

Tabela 14: Tipos, números, total de alterações e índice de mutagenicidade (IMG) médios obtidos para o grupo controle negativo (CO-) e tratados com as amostras dos três pontos de coleta de solo

Ponto de Coleta	Fases da Mitose									Total de Alterações	IMG* %
	Metáfase				Anáfase			Telófase			
	CS	CH	PC	CD	DE	DE	CT	PT	PT		
CO-	0	0	0	1	1	0	0	0	0	2	0,05
Ponto 1	1	0	0	0	13	6	2	4	1	27	0,45
Ponto 2	2	1	0	0	5	8	1	5	0	22	0,44
Ponto 3	3	1	0	0	12	3	1	5	0	25	0,42

Fonte: Autoria própria (2018).

Nota: CS (Cromossomos Soltos), CH (Colchicínica), PC (Perda de Cromossomos), CD (Cromossomos Desalinhados), DE (Desorganizada), CT (Cromossomos Tardios) e PT (Ponte).

6 CONCLUSÃO

Com relação às análises físico-químicas, os resultados obtidos permitem avaliar a qualidade e características do solo. Vale ressaltar que uma das maiores vantagens deste tipo de análise é a verificação se há necessidade ou não de aplicação de fertilizantes e corretivos no solo, diminuindo os custos de produção, danos ao meio ambiente e ao ser humano.

Em relação à identificação de resíduos de agrotóxicos, identificarem-se alguns compostos organofosforados e organoclorados, sendo que alguns destes são proibidos no Brasil.

Já em relação ao teste ecotoxicológico com o organismo teste *Allium cepa* L., verificou-se o aumento tanto do índice mitótico e do índice mutagênico, causados pela presença de P e K (substâncias que aumentam a divisão celular) nas amostras, e a presença de resíduos de agrotóxicos (substâncias mutagênicas).

Assim, com este estudo, é possível concluir que a avaliação da qualidade do solo é de suma importância para seu manejo, preservação do meio ambiente e saúde do ser humano.

REFERÊNCIAS

- ANVISA. Regularização de Produtos - Agrotóxicos. **Agência Nacional de Vigilância Sanitária**. Disponível em: < <http://portal.anvisa.gov.br/registros-e-autorizacoes/agrotoxicos/produtos/monografia-de-agrotoxicos/autorizadas>>. Acesso em: 10 nov. 2018.
- ARRAES, Aliny Inocência Oliveira Melo e; LONGHIN, Sandra Regina. Otimização de ensaio de toxicidade utilizando o bioindicador *Allium cepa* como organismo teste. **Enciclopédia Biosfera, Centro Científico Conhecer**, Goiânia, v.8, n.14; p. 1958 – 2012, jun 2012.
- BARBOZA, H. T. G.; NASCIMENTO, X. P. R.; FREITAS-SILVA, O.; SOARES, A. G.; DACOSTA, J. B. N. Compostos Organofosforados e seu Papel na Agricultura. **Revista Virtual de Química**. Niterói, v. 10, n. 1, p. 172-193, mar., 2018.
- BATISTA, Juliana Luiz da Silva. **Determinação multiclasse de resíduos de agrotóxicos em cenoura empregando QuEChERS e GC-MS**. 2015. 50 f. Dissertação (Pós Graduação em Química Tecnológica e Ambiental) - Universidade Federal do Rio Grande, Santo Antônio da Patrulha, 2015.
- BIANCHI, Jaqueline. **Análise dos efeitos citotóxicos, genotóxicos e mutagênicos do inseticida malation, utilizando os sistemas teste de *allium cepa* e células de mamíferos**. 2008, 165p. Dissertação (Mestrado em Ciências Biológicas). Universidade Estadual Paulista, Rio Claro, 2008.
- BRADY, Nyle C.; WEIL, Ray R. **Elementos da natureza e propriedades do solo**. 3 ed. Porto Alegre: Bookman, 2013.
- BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Decreto nº 4074, de 04 de janeiro de 2002. Regulamenta a Lei no 7.802, de 11 de julho de 1989, que 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. Disponível em: < http://www.planalto.gov.br/ccivil_03/decreto/2002/d4074.htm>. Acesso em: 30 abr. 2018.
- BRASIL. Ministério da Agricultura. Portaria nº 329, de 02 de setembro de 1985. Proíbe, em todo o território nacional, a comercialização, o uso e a distribuição dos produtos agrotóxicos organoclorados, destinados à agropecuária dentre outros. Disponível em: <http://bvsms.saude.gov.br/bvs/saudelegis/mapa_gm/1985/prt0329_02_09_1985.html>. Acesso em: 10 nov. 2018.
- CARDOSO, E. L., FERNANDES, A. H. B. M.; FERNANDES, F. A. **Análise de Solos: Finalidade e Procedimentos de Amostragem**. Corumbá, Embrapa Pantanal, 2009. 5p. (Embrapa Pantanal. Comunicado Técnico, 79).

CARNEIRO, Fernando Ferreira; SILVA AUGUSTO, Lia Giraldo da; RIGOTTO, Raquel Maria; FRIEDRICH, Karen; BÚRIGO, André Campos, org. **Dossiê ABRASCO: um alerta sobre os impactos dos agrotóxicos na saúde**. Rio de Janeiro: EPSJV; São Paulo: Expressão Popular, 2015.

CASARINI, Dorothy Carmen Pinatti; DIAS, Claudio Luiz; BARBOUR, Elzira; TOFFOLI, Fabiano Fernandes. Gestão da qualidade e risco de contaminação Do recurso hídrico subterrâneo. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE ÁGUAS SUBTERRÂNEAS, 13, 2004, Cuiabá, MT. **Anais eletrônicos**. São Paulo: Revista águas Subterrâneas, 2004. Disponível em: <<https://aguassubterraneas.abas.org/asubterraneas/issue/view/1186>>. Acessado em: 15 abr. 2018.

COELHO, Maurício Rizzato; SANTOS, Humberto Gonçalves dos; SILVA, Enio Fraga da; AGLIO, Mario Luiz Diamante. Contaminação dos solos em áreas agrícolas. In: MANZATTO, C. V.; FREITAS JUNIOR, E. de; PERES, J. R. R.. **Uso agrícola de solos brasileiros**. Rio de Janeiro: Embrapa Solos, 2002, 174 p.. cap. 1, p. 1-11.

COSTA, Carla Regina; OLIVI, Paulo; BOTTA, Clarice M. R.; ESPINDOLA, Evaldo L. G.; A toxicidade em ambientes aquáticos: discussão e métodos de avaliação. **Química Nova**. São Paulo, v. 31, n. 7, p. 1820-1830, 2008.

COSTA, Nivaldo D.; RESENDE, Geraldo M. de; ARAUJO, Jairton F.; SANTOS, Carlos Antonio F.; CANDEIA Jonas Araújo; BANDEIRA, Gorge Ricardo L. Resposta de cultivares de cebola (*Allium cepa* L.) a doses de fósforo em cultivo orgânico no Vale do São Francisco. **Horticultura Brasileira**. Brasília, V. 27, n. 2, p. 3428-3432, 2009.

EMBRAPA. **Manual de métodos de análise de solo / Centro Nacional de Pesquisa de Solos**. Rio de Janeiro: Embrapa, 1997.

EU Pesticides database. Current MRL values. **Food Safety Brasil**. 2016. Disponível em: <<http://ec.europa.eu/food/plant/pesticides/eu-pesticides-database/public/?event=pesticide.residue.CurrentMRL&language=PT>>. Acesso em: 10 nov. 2018.

FERNANDES, Thaís Cristina Casimiro. **Investigação dos efeitos tóxicos, mutagênicos e genotóxicos do herbicida trifluralina, utilizando *allium cepa* e *oreochromis niloticus* como sistemas-testes**. 2005, 211p. Dissertação (Mestrado em Ciências Biológicas). Universidade Estadual Paulista, Rio Claro, 2005.

FERNANDES, Virgínia C; DOMINGUES, Valentina F.; MATEUS, Nuno; DELERUE-MATOS, Cristina. Multiresidue pesticides analysis in soils using modified QuEChERS with disposable pipette extraction and dispersive solid-phase extraction. **Journal of Separation Science**. v. 36, p. 376-382, 2013.

FILIZOLA, Heloisa Ferreira; GOMES, Marco Antônio Ferreira; SOUZA, Manoel Dornelas de. **Manual de procedimentos de coleta de amostras em áreas agrícolas para análise da qualidade ambiental: solo, água e sedimentos**. Jaguariúna: Embrapa Meio Ambiente, 2006.

FLORES, Araceli Verônica; RIBEIRO, Joselito Nardy; NEVES, Antonio Augusto; QUEIROZ, Eliana Lopes Ribeiro de. Organoclorados: um problema de saúde pública. **Ambiente e Sociedade**. V. 7, n. 2, p. 11-125, jul./dez. 2004.

FISKESJÖ, Geirid. The Allium test as a standard in environmental monitoring. **Hereditas**. v. 102, n. 1, p. 99-112, 1985.

GATTO, Alcides; BARROS, Nairam Félix de; NOVAIS, Roberto Ferreira; SILVA, Ivo Ribeiro; MENDONÇA, Eduardo de Sá; VILLANI, Ecila Mercês de Albuquerque. Comparação de métodos de determinação do carbono orgânico em solos cultivados com eucalipto. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**. Viçosa. v. 33, n.3, p.735-740, mar./jun. 2009.

IBAMA. **Produtos agrotóxicos e afins comercializados em 2009 no Brasil: uma abordagem ambiental**. Brasília: Ibama, 2010.

IBAMA. **Relatório de comercialização de agrotóxicos**. Brasília, 2017. Disponível em: <<http://www.ibama.gov.br/phocadownload/qualidadeambiental/relatorios/2016/gRafico-consumo-agrotoxicos-2000-2016.pdf>>. Acesso em: 30 abr. 2018.

KASEMODEL, Mariana Consiglio; PORTO, André Luiz Meleiro; NITSCHKE, Marcia. Biodegradação bacteriana de compostos organoclorados. **Revista Química Nova**. São Paulo, v. 37, n. 8, p. 1351-1356, ago., 2014.

KRÜGER, Rosangela Angelise. **Análise da toxicidade e da genotoxicidade de agrotóxicos utilizados na agricultura utilizando bioensaios com *Allium cepa***. 2009, 58p. Dissertação (Mestrado em Qualidade Ambiental). Centro Universitário Feevale, Novo Hamburgo, 2009.

KUSS, Anelise Vicentini; KUSS, Vivian Vicentini. **Ar, água, solo e energia: temas para discussão em educação ambiental com propostas de atividades**. Pelotas: Editora Cópias Santa Cruz Ltda, 2014.

LEITE, Daiani Canabarro. **Análise de macro e micronutrientes e estudo comparativo de solo inerte para processos de biorremediação**. 2010. 47 f. Trabalho de conclusão de curso (Bacharel em Química) – Centro Universitário La Salle, Canoas, 2010.

LEITE, Roberta. Como consultar os agrotóxicos que podem ser utilizados nos alimentos e quais os limites máximos. **Food Safety Brasil**. 2017. Disponível em: <<https://foodsafetybrazil.org/como-consultar-os-agrotoxicos-que-podem-ser-utilizados-nos-alimentos-e-quais-os-limites-maximos/>>. Acesso em: 10 nov. 2018.

LESUER, C.; GARTNER, M.; MENTLER, A.; FUERHACKER, M. Comparison of four extraction methods for the analysis of 24 pesticides in soil samples with gas chromatography–mass spectrometry and liquid chromatography–ion trap–mass spectrometry. **Talanta**. v. 75, n. 1, p. 286-293, mar., 2008.

LONDRES, Flavia. **Agrotóxicos no Brasil: um guia para ação em defesa da vida.** Rio de Janeiro: AS-PTA – Assessoria e Serviços a Projetos em Agricultura Alternativa, 2011.

MAGALHÃES, Danielly de Paiva; FERRÃO FILHO, Aloysio da Silva. A ecotoxicologia como ferramenta no biomonitoramento de ecossistemas aquáticos. **Oecologia brasiliensis.** Rio de Janeiro, v. 12, n. 3, p. 355-381, 2008.

MERTEN, Gustavo H.; MINELLA, Jean P.. Qualidade da água em bacias hidrográficas rurais: um desafio atual para a sobrevivência futura. **Agroecologia e Desenvolvimento Rural Sustentável.** Porto Alegre, v.3, n.4, p. 33-38, out/dez 2002.

MOCELLIN, Giani Motin. **Conscientização da importância da mata ciliar no ensino fundamental na região rural do município de Colombo/pr.** 2014 55p. Monografia (Especialização em Ensino de Ciências). Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Medianeira, 2014.

MODEL, Kathleen J.; SAMPAIO, Silvio C.; REMOR, Marcelo B.; MERCANTE, Erivelto; VILAS BOAS, Márcio A. Organochlorinated and organophosphorus pesticides in the pelotas river sediment. **Engenharia Agrícola.** Jaboticabal, v.38, n.1, p. 124-134, jan/fev 2018.

MONTEIRO, Suianne Priscilla Passos Barbosa. **Desenvolvimento e aplicação de teste de toxicidade aguda utilizando como organismo-teste *daphnia magna*.** 2009. 81 f. Dissertação (Mestre em Engenharia Civil) - Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, Londrina, 2009.

MORAES, Carolina Cinto de. **Crescimento e acúmulo de nutrientes ao longo do ciclo de cultivo de dois híbridos de cebola** 2016, 69p. Dissertação (Mestrado em Agricultura Tropical e Subtropical). Instituto Agronômico, Campinas, 2016.

PERES, Frederico; MOREIRA, Josino Costa; DUBOIS, Gaetan Serge. **Agrotóxicos, saúde e ambiente: uma introdução ao tema.** Rio de Janeiro: Editora FIOCRUZ, 2003. p. 21-41.

RESENDE, Geraldo Milanez de; COSTA, Nivaldo Duarte da; YURI, Jony Eishi. Efeito de doses de fósforo na produtividade e armazenamento pós-colheita de dois cultivares de cebola. **Revista Ceres,** Viçosa. v. 63, n.2, p.249-255, mar./abr. 2016.

RIBAS, Priscila Pauly; MATSUMURA, Aida Teresinha Santos. A Química dos agrotóxicos: impactos sobre a saúde o meio ambiente. **Revista Liberato,** Novo Hamburgo. v. 10, n.14, p.149-158, jul./dez. 2009.

RIBEIRO, Marcos André Do Côto. **Contaminação Do Solo Por Metais Pesados.** 2013. 249 f. Dissertação (Mestrado em Engenharia do Ambiente) - Universidade Lusófona de Humanidades e Tecnologias, Lisboa, 2013.

ROHDEN, Júlia. Cada paranaense consome 7,5 litros de agrotóxico por ano. **Brasil de Fato.** Curitiba, 14 mar. 2018. Disponível em:

<<https://www.brasildefato.com.br/2018/03/14/cada-paranaense-consome-75-litros-de-agrotoxico-por-ano/>>. Acessado em: 22 abr. 2018.

RONQUIM, Carlos Cesar. **Conceitos de fertilidade do solo e manejo adequado para as regiões tropicais**. Campinas: Embrapa Monitoramento por Satélite, 2010.

SAVOY, Vera Lúcia Tedeschi. Classificação dos Agrotóxicos. **Instituto Biológico, Centro de Pesquisa e Desenvolvimento em Proteção Ambiental**. São Paulo, v.73, n.1, p.91-92, jan./jun., 2011. Disponível em: <<http://livrozilla.com/doc/929072/classifica%C3%A7%C3%A3o-dos-agrot%C3%B3xicos>>. Acessado em: 30 abr. 2018.

SINDIVEG. Sindiveg: Setor de defensivos agrícolas registra queda nas vendas em 2016. 2017. Disponível em: <<http://sindiveg.org.br/sindiveg-setor-de-defensivos-agricolas-registra-queda-nas-vendas-em-2016/>>. Acessado em: 29 nov. 2018.

SILVA, Fábio César da; EIRA, Paulo Augusto da; BARRETO, Washington de Oliveira; PÉREZ, Daniel Vidal; SILVA, Carlos Alberto. **Manual de métodos de análises químicas para avaliação da fertilidade do solo**. Rio de Janeiro: Embrapa-CNPQ, 1998.

SILVA, Gustavo Rocha; BORGES JR., Itamar; FIGUEROA-VILLAR, José Daniel. Defesa química: histórico, classificação dos agentes de guerra e ação dos neurotóxicos. **Revista Química Nova**, São Paulo. vol. 35, n.10, p. 2083-2091 set. 2012.

SILVA, Marcela Arfelli. **Alterações nas propriedades químicas de solos tratados com diferentes doses do herbicida glifosato**. 2013. 107 f. Trabalho de conclusão de curso (Engenharia Ambiental) - Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Câmpus Londrina, Londrina, 2013.

SILVA, Susana Maria Sousa Da. **Intoxicações por inibidores da acetilcolinesterase: etiologia, diagnóstico e tratamento**. 2015. 47 f. Artigo de revisão (Mestrado integrado em Medicina) - Faculdade De Medicina Da Universidade De Coimbra, Coimbra, 2015.

SOARES, Wagner Lopes; PORTO, Marcelo Firpo de Souza. Uso de agrotóxicos e impactos econômicos sobre a saúde. **Revista de saúde pública**, São Paulo. vol. 46, n.2, fev. 2012.

SOBRAL, Lafayette Franco; BARRETTO, Marcos Cabral de Vasconcellos; SILVA, Airon José da; ANJOS, Joézio Luiz dos. **Guia prático para interpretação de resultados de análises de solo**. Aracaju: Embrapa Tabuleiros Costeiros, 2015.

SOUSA, Nilton José. **Classificação de inseticidas e simulação de um programa de manejo de resistência para a mariposa-do-álamo (Condylorrhiza vestigialis (guenée, 1854) - lepidoptera: crambidae)**. 2002. 152 f. Tese (Doutorado em Ciências Florestais) - Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2002.

STEFFEN, Gerusa Paula Kist; STEFFEN, Ricardo Bemfica; ANTONIOLLI, Zaida Inês. Contaminação do solo e da água pelo uso de agrotóxicos. **TECNO-LÓGICA**, Santa Cruz do Sul, v.15, n.1, p. 15-21, jan. 2011.

TAVELLA, Leonardo Barreto et al. O uso de agrotóxicos na agricultura e suas consequências toxicológicas e ambientais. **ACSA - Agropecuária Científica no Semi-Árido**, Patos, v.07, n. 2, p. 06 – 12, abr/jun 2011.

UK Essays. Chemical Structure Of Organochlorine Environmental Sciences Essay. **Uni Assignment Centre**. nov. 2013. Disponível em: <<https://www.uniassignment.com/essay-samples/environmental-sciences/chemical-structure-of-organochlorine-environmental-sciences-essay.php>>. Acessado em: 30 set. 2018.

VERMA, Sonam.; SRIVASTAVA, Alka. Morphotoxicity and cytogenotoxicity of pendimethalin in the test plant *Allium cepa* L. - a biomarker based study. **Chemosphere**. V. 206, p. 248 – 254, set, 2018.

APÊNDICE A – Tabelas referentes ao teste de citotoxicidade e mutagenicidade

Tabela 11: Índices mitóticos (IM), parciais e médio total, número total de células em diferentes fases do ciclo celular dos grupos controle negativo (CO-) e tratados as três amostras de solo

Grupos	Cebolas	Total de Células	IM %	Número de Células				
				I	P	M	A	T
CO-	1	1000	5,10	949	19	13	05	14
	2	1000	3,20	968	15	03	07	07
	3	1000	3,30	967	21	05	03	04
	4	1000	3,50	965	20	05	01	09
	To	4000	3,78	3849	75	26	16	34
Ponto 1	1	1000	8,00	920	25	21	21	13
	2	1000	4,20	958	17	12	08	05
	3	1000	7,80	922	39	03	20	16
	4	1000	4,50	955	17	11	12	05
	5	1000	4,00	960	14	07	07	12
	6	1000	3,60	964	23	05	04	04
To	6000	5,35	5679	135	59	72	55	
Ponto 2	1	1000	7,80	922	54	04	07	13
	2	1000	6,00	940	47	03	04	06
	3	1000	7,20	928	27	10	18	17
	4	1000	5,00	950	26	07	08	09
	5	1000	5,20	948	30	06	09	07
	To	5000	6,24	4688	184	30	46	52
Ponto 3	1	1000	7,30	927	30	11	18	14
	2	1000	4,80	952	25	04	11	08
	3	1000	3,90	961	14	09	10	06
	4	1000	4,70	953	18	08	13	08
	5	1000	2,70	973	15	02	04	06
	6	1000	4,80	952	20	10	10	08
	To	6000	4,70	5718	122	44	66	50

Fonte: Autoria própria (2018).

Nota: I= Interfase, P= Prófase, M= Metáfase, A= Anáfase e T= Telófase.

Tabela 12: Resultado final do cálculo do teste t não pareado referente aos índices mitóticos de cada grupo e as comparações realizadas

CONTROLE X TRATAMENTOS			
Controle/Tratamento	Ponto 1	Ponto 2	Ponto 3
	0,1824	0,0122*	0,3071
TRATAMENTOS X TRATAMENTOS			
Tratamento/ Tratamento	Ponto 1 x Ponto 2	Ponto 1 x Ponto 3	Ponto 2 x Ponto 3
	0,4095	0,5393	0,1011

Fonte: Autoria própria (2018).

Nota: *Resultado estatisticamente significativo ao nível de significância de 5%.

Tabela 13: Resultado final do cálculo do teste t não pareado referente aos índices de mutagenicidade de cada grupo e as comparações realizadas

CONTROLE X TRATAMENTOS			
Controle/Tratamento	Ponto 1	Ponto 2	Ponto 3
	0,0389*	0,0167*	0,0135*
TRATAMENTOS X TRATAMENTOS			
Tratamento/Tratamento	Ponto 1 x Ponto 2	Ponto 1 x Ponto 3	Ponto 2 x Ponto 3
	0,9536	0,8320	0,8656

Fonte: Autoria própria (2018).

Nota: *Resultado estatisticamente significativo ao nível de significância de 5%.