

---

ECOLOGIA

---

**POLIANA BEATRIZ ARANTES**

**INFLUÊNCIA DO HERBICIDA *GLIFOSATO*  
(N-(FOSFONOMETIL)GLICINA) NA  
FORMAÇÃO DE BIOMASSA DA ALGA  
*Pseudokirchneriella subcapitata*  
(CHLOROPHYCEAE)**

POLIANA BEATRIZ ARANTES

INFLUÊNCIA DO HERBICIDA *GLIFOSATO* (N-(FOSFONOMETIL)GLICINA) NA FORMAÇÃO DE BIOMASSA DA ALGA *Pseudokirchneriella subcapitata* (CHLOROPHYCEAE).

Orientador: Dejanira de Franceschi de Angelis

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado ao Instituto de Biociências da Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho” - Campus de Rio Claro, para obtenção do grau de Ecólogo.

Rio Claro  
2010

581.652 Arantes, Poliana Beatriz  
A662i       Influência do herbicida glifosato (N-(Fosfometil)Glicina) na  
              formação de biomassa da alga Pseudokirchneriella subcapitata  
              (Chlorophyceae) / Poliana Beatriz Arantes. - Rio Claro : [s.n.], 2010  
              89 f. : il., figs., gráfs., tabs., fots.

Trabalho de conclusão de curso (Ecologia) - Universidade Estadual  
Paulista, Instituto de Biociências de Rio Claro  
Orientador: Dejanira de Franceschi de Angelis

1. Herbicidas. 2. Glifosato. 3. Toxicidade. 4. Pseudokirchneriella  
subcapitata. I. Título.

*À XXXI turma de Ecologia e  
aos meus sobrinhos Artur e Douglas*

## AGRADECIMENTOS

Agradeço a Profa. Dra. Dejanira de Franceschi de Angelis.

Agradeço a Profa. Dra. Antonia ~ arli dos Santos e ao Prof. Dr. Romualdo Dias.

Agradeço a Profa. Dra. Dilza Aparecida Nalin, Prof. Dr. Antonio Carlos S. Pião e a todos funcionários e pes~uisadores do departamento de ~icrobiologia: ~ árcio, ~ árcio Ramos, ~ ito, ~ ngela, Eduardo, ~ etícia, Inês, Carmem, ~ uiza, Beto, Fátima, Priscila, Dani, Bia e ~ etícia.

Agradeço as algas *Pseudokirchneriella subcapitata* e as algas do laguinho do IB.

Agradeço ao Diego ~ en Osoega~ a, ~ arcel Henri~ue Silva Godoy e Davi Butturi Gomes.

Agradeço a minha família.

Agradeço a todos meus amigos, em especial: ...

... a turma de Ecologia 2006: Gigi, Tha, Carol, Haruminha, ~ uxu, Paula, Amanda, ~ ívia, Depois, Pedrão, ~ ayon, ~ arronei, ~ enda, ~ adureza, Cappuccino, Ilary, Isa, ~ aspionito, Pocas, ~ ara, Thais, ~ aca, ~ umu, ~ uel, Fernandinha, ~ ayra e agregados: Guandu, ~ eca, Santos, Chuba~ uinha, ~ ayra e Nathi...

... aos amigos com ~ uem morei: D. Odete, Adolfo, Taty, Carol, ~ uel, Gabi, Gigi, Riso, Tatá, Tampinha, Guandu (Carine), Camila, ~ eca, Demor~, Pa~ uito, Terts, Bigato, ~ ayon, Pedrão, ~ ucía, ~ aspion, Tr~ ia, ~ onstro, ~ arina e ~ ariana...

...aos amigos do Pompeu: Thiago, Bud e todos os companheiros de serviço...

... aos amigos de Uberaba: Nayara, Ana, Taty, Aline, Fernando e Nelson...

...aos doces amigos e es~ uadrilha...

...aos amigos não humanos: Pantro, Flatinha, Catita, Nilda, Atum, Toninho e ~ ua, Uruca, ~ oca (Playboy), Pinguim, Coca, Betinha, Ismile, Alegreto, Preciosa, ~ aria...

...aos amigos do Semente: Sementeiros do meu coração e criançada...

...aos amigos do Gira-Sol, principalmente: Carol RA, Cintia, Rafael, ~ os~ Carmelo (Charilo), ~ itor (Caramelo), Bruna, Dai, Fernandinha, ~ arina, Taynara (~ uxa), Aline (Tampinha), Camila (Bituca), ~ atheus (Bigato), ~ inícus (Bixano), ~ ayon (~ ayon), ~ oão Paulo (Royal) e ~ alinka...

...e mais especial ainda: Fernanda de Almeida ~ eirelles, Claudia ~ anessa dos Santos Corrêa, Giovana Cherubim Negreiros de Athayde, Ricardo Santos Duran, Carolina de Souza Rodrigues, Camila Giaj-~ efra Teixeira ~ acerda, ~ ucas Guedes ~ iana, Gerson Costa, ~ atheus ~ ergne, Diego ~ en Osoega~ a, ~ ssika Oliveira Silva, Pedro ~ anholer, ~ arina Gusson Carneiro da Costa e ~ ariana ~ irginia ~ oretti.

Agradeço a Profa. Dra. Rosa ~ aria Feiteiro Cavalari.

Agradeço a todos os funcionários, contribuintes e professores.

Agradeço ao Raul, ~ anis, Douglas, Ana, Dejalma, ~ uis Fabiano e ~ orge.

All in all it as just a brick in the all

*Pink Floyd*

## RESUMO

Os herbicidas são os agentes químicos mais consumidos para a produção agrícola e dentre estes, o *glifosato* (N-(fosfonometil)glicina) representa mais da metade do consumo mundial de herbicidas não seletivos, de ação sistêmica e uso pós-emergente. O presente estudo tem por objetivo a análise da interferência de diferentes concentrações do herbicida *glifosato* no desenvolvimento de microalgas, unicelulares da espécie *Pseudokirchneriella subcapitata*, com complemento na análise da interferência dessas concentrações em algas verdes do lago artificial do Instituto de Biociências da Universidade Estadual Paulista em Rio Claro, SP. Para identificar o efeito do *glifosato* no desenvolvimento das microalgas, as concentrações: 0,118; 0,236; 0,472; 0,944; 1,888 e 3,776mg do produto (todas em tréplicas), mantendo-se o controle sem *glifosato*, foram inoculadas em frascos contendo 150mL de meio de cultura e 5mL de suspensão do inóculo. Cada ensaio foi mantido por 96 horas, em shaker com rotação de 150rpm a 25 +/- 2°C e luz constante de 3200 lux. No tempo inicial e de 48; 72 e 96 horas foram retiradas amostras para os testes de absorvância. A biomassa seca final foi quantificada e para os ensaios com *P. subcapitata* o número de célula foi quantificado ao início e término dos testes utilizando-se a Câmara de Neubauer em microscópio óptico. Para as algas do lago artificial a diversidade de células das microalgas foi identificada mediante documentação fotográfica. A análise de variância comparando os tratamentos para biomassa seca mostrou que não há diferença significativa tanto para os ensaios com *P. subcapitata* quanto para os com algas do lago. A análise de variância MANOVA demonstrou diferença significativa dos tratamentos ao longo do tempo, entretanto não há diferença significativa entre as interações de tratamento para os ensaios com *P. subcapitata* e há diferença significativa para os ensaios com microalgas do lago artificial. Com relação à quantificação celular, encontrou-se que o número de células final foi menor que o inicial para os tratamentos com 0,472; 0,944; 1,888 e 3,776mg de *glifosato*. Para as microalgas do lago artificial, houve a sobreposição da microalga mais abundante, *Pseudokirchneriella subcapitata*, ao término dos testes. Pode-se inferir que o *glifosato* quando presente interfere no desenvolvimento das microalgas.

**Palavras-chave:** Glifosato; Toxicidade; *Pseudokirchneriella subcapitata*.

## ABSTRACT

Herbicides are chemical agents most consumed for agricultural production and of these, glyphosate (N-(phosphonomethyl) glycine) represents more than half of world consumption of non-selective herbicides, use of systemic action and post-emergent. The present study aims to analyze the interference of different concentrations of glyphosate in the development of micro algae, unicellular species *Pseudokirchneriella subcapitata*, with supplementary analysis of the interference of green algae concentrations in the artificial lake Instituto de Biociências Universidade Estadual Paulista in Rio Claro, SP. To identify the effect of glyphosate on the development of microalgae concentrations: 0.118; 0.236; 0.472; 0.944; 1.888 and 3.776 mg of product (all in rejoiners), maintaining control without glyphosate, were inoculated into flasks containing 150mL of medium culture and 5mL of suspension inoculum levels. Each test was continued for 96 hours in a shaker rotating at 150 rpm at 25 / - 2 ° C and constant light of 3200 lux. At baseline and 48; 72 and 96 hours samples were taken for testing for absorbance. The final dry weight was measured and the tests with *P. subcapitata* cell number was quantified at the beginning and end of the tests using the Neubauer chamber under optical microscope. For algae of the artificial lake of the diversity of microalgae cells was identified through photographic documentation. The analysis of variance comparing treatments for dry biomass showed no significant differences in the tests with *P. subcapitata* as for the algae to the lake. The analysis of variance MANOVA showed significant differences between the treatments over time but there was no significant difference between the interactions of treatment for tests with *P. subcapitata* There were significant differences in the tests with microalgae of the artificial lake. With respect to cell quantification, it was found that the final number of cells was lower than the initial treatments with 0.472, 0.944, 1.888 and 3.776 mg of glyphosate. Microalgae for the pond, there was overlap of microalgae more abundant, *Pseudokirchneriella subcapitata*, at the end of the tests. It can be inferred that glyphosate when this interferes with the development of microalgae.

**Keywords:** Glyphosate; Toxicity; *Pseudokirchneriella subcapitata*.



## SUMÁRIO

1 - INTRODUÇÃO.....	9
2 - OBJETIVO.....	11
3 - REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	12
3.1 – Águas doces.....	12
3.1.1 – Distribuição da água doce no mundo.....	14
3.1.2 – Distribuição da água doce no Brasil.....	18
3.1.3 – Usos da água doce.....	20
3.1.4 – Qualidade de água.....	22
3.1.5 – A vida no ambiente aquático de água doce.....	27
3.2 – Algas.....	29
3.2.1 – Filo Chlorophyta.....	32
3.2.2 – <i>Pseudokirchneriella subcapitata</i> .....	35
3.2.3 – Algas como bioindicadores de qualidade ambiental.....	36
3.3 – Agricultura convencional.....	37
3.3.1 – Agentes químicos utilizados na agricultura.....	39
3.3.2 – Herbicidas.....	42
3.3.3 – <i>Glifosato</i> .....	43
3.3.4 – Impactos ambientais do uso de insumos agrícolas.....	47
3.4 – Agricultura “sustentável” – uma alternativa ao modo de produção convencional.....	50
4 – MATERIAL E MÉTODO.....	55
4.1 – Materiais.....	55
4.1.1 – Microrganismos.....	55
4.1.2 – Microalgas do lago artificial.....	55
4.1.3 – Meio de cultivo.....	56
4.1.4 – Herbicida.....	56
4.1.5 – Equipamentos e vidrarias.....	56
4.2 – Métodos.....	57
4.2.1 – Métodos de preservação das microalgas.....	57
4.2.2 – Métodos de cultivo das microalgas.....	57
4.2.3 – Método de cultivo da <i>Pseudokirchneriella subcapitata</i> em diferentes concentrações de glifosato.....	58

4.2.4 – Preparo das soluções.....	58
4.2.5 – Cultivo das microalgas do lago artificial.....	59
4.2.6 – Avaliação da ação do glifosato.....	59
4.2.6.1 – Teste de absorvância.....	59
4.2.6.2 – Quantificação celular.....	60
4.2.6.3 – Quantificação de biomassa.....	60
4.2.6.4 – Quantificação do oxigênio dissolvido em ensaios com <i>Pseudokirchneriella subcapitata</i> .....	60
5 – RESULTDOS E DISCUSSÃO.....	62
5.1 – Identificação das algas.....	62
5.2 – Teste de absorvância.....	63
5.3 – Quantificação de biomassa seca.....	66
3.4 – Quantificação celular.....	67
3.5 – Medida de oxigênio dissolvido.....	70
6 – CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	72
7 – REFERÊNCIAS.....	73
ANEXO 1.....	80
ANEXO 2.....	81
ANEXO 3.....	85
ANEXO 4.....	89

## 1. INTRODUÇÃO

Toda substância pode ser considerada um agente tóxico dependendo das condições de exposição, como dose administrada ou absorvida, tempo e frequência da exposição e vias pela qual é administrada, sendo assim, faz-se necessário conhecer as condições de uso seguro de substâncias químicas para saúde humana e ambiental.

No ambiente está presente um grande número de substâncias potencialmente tóxicas, sendo que muitas delas em concentrações que isoladamente não causam danos, mas a interação com outras substâncias, fatores climáticos ou a natureza do meio de exposição pode resultar em dano.

As fontes de contaminação do ambiente podem ser de origem natural, como as provenientes de atividades vulcânicas, ou antropogênicas que são as decorrentes das atividades humanas. Essa segunda fonte pode ser classificada em doméstica e urbana (esgoto, lixo doméstico, veículos automotores), industrial (esgoto e lixo industrial, queima de combustíveis) e agropecuária (queimadas, fertilizantes e praguicidas).

Na atualidade, é de grande importância conhecimentos sobre os processos de geração, transporte e transformação, os efeitos e os destinos finais dos compostos químicos, orgânicos e inorgânicos, que são contaminantes sólidos, líquidos ou gasosos, incorporados aos ecossistemas aquáticos e terrestres.

Tal preocupação é produto das transformações sociais, econômicas e políticas surgidas a partir do século XVIII, com o Iluminismo e a Revolução Industrial e o novo modelo econômico implantado, o capitalismo, juntamente a concentração populacional urbana e o incentivo ao consumo, que levaram ao agravamento dos problemas ambientais. De acordo com esse autor, assim, em meados do século passado começou a surgir no pensamento humano uma preocupação quanto à

situação ambiental, contaminação e escassez dos recursos naturais.

Nesse contexto, com o advento da agricultura moderna, a acentuada descarga de resíduos provenientes do uso de agentes químicos para produção de alimentos e fontes energéticas, configura-se como sendo a segunda maior emissora de contaminantes nos ambientes aquático e terrestre.

Estima-se que cerca de 2,5 a 3 milhões de toneladas de defensivos agrícolas são utilizados a cada ano na agricultura, sendo que, atualmente o Brasil ocupa o quarto lugar no ranking dos consumidores de agrotóxicos (MOREIRA *et al.*, 2002). De um modo geral, o consumo no meio rural dos agentes herbicidas é maior, seguido do consumo de inseticidas e posteriormente de fungicidas.

A contaminação dos ambientes aquáticos por defensivos agrícolas pode ocorrer mediante aplicação intencional, através do ar, escoamento das aplicações ou liberação acidental. Nos ecossistemas aquáticos alterados, frequentemente correm desequilíbrios bióticos atingindo por vezes os produtores primários (organismos autótrofos) induzindo alterações nas populações chegando a provocar infestações mono filicas ou perda de biomassa.

Os principais produtores primários dos ambientes aquáticos límnicos são algas, macrófitas aquáticas e algumas espécies de bactérias. Uma parte da produção total (produção primária bruta) destes organismos é gasta na manutenção de seu próprio metabolismo enquanto a outra parte é transformada em biomassa (produção primária líquida), que constitui a fonte de energia para as cadeias alimentares de todo o ecossistema.

Portanto, as algas são bons indicadores dos efeitos de contaminantes para esses ambientes, sendo que grande parte dos dados disponíveis sobre agentes químicos agrícolas citados na literatura referem-se as microalgas dos ambientes aquáticos.

## 2. OBJETIVO

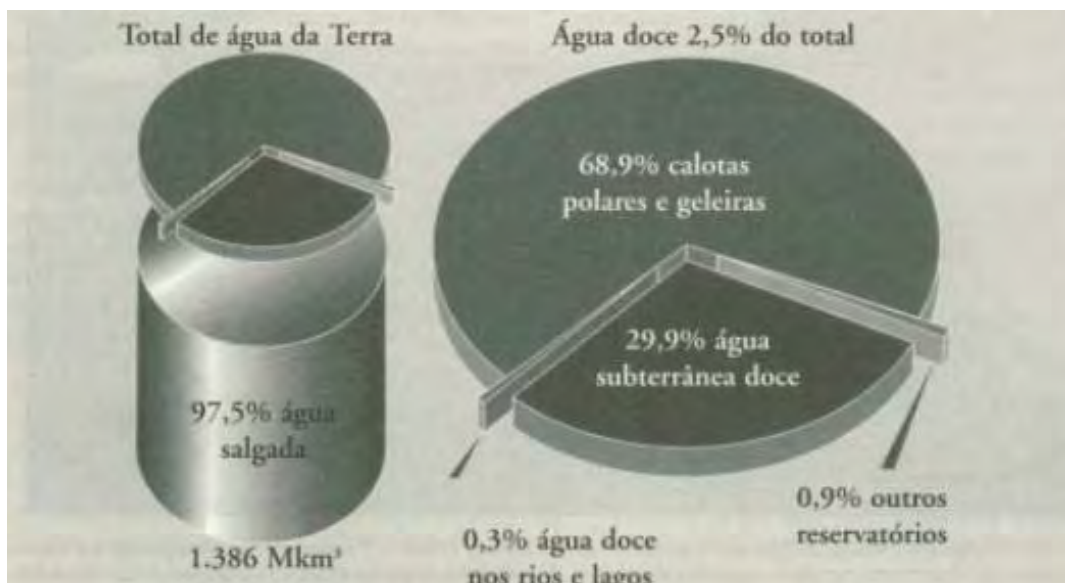
O presente estudo tem por objetivo a análise da interferência de diferentes concentrações do herbicida *glifosato* (*N*-(*fosfometil*)*glicina*) no desenvolvimento de microalgas verdes, unicelulares da espécie *Pseudokirchneriella subcapitata*, com complemento na análise da interferência dessas concentrações em algas verdes do lago artificial do Instituto de Biociências da Universidade Estadual Paulista em Rio Claro, SP.

### 3. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

#### 3.1. Águas doces

Uma parte importante do ciclo da água é a existência de água doce superficial representada pelos cursos d'água, sendo esses de tamanhos variados, desde grandes rios até pequenos riachos, lagoas, lagos, reservatórios artificiais e pântanos de água doce. De modo geral, esta contém menos de 1.000 miligramas de sólidos dissolvidos, freqüentemente sais, por litro (ESTEVES, 1998).

A quantidade de água doce representa 2,5% do total de água da Terra. Desses 0,3% estão nos rios e lagos, os outros 99,7% de água doce, estão presentes nas calotas polares e geleiras, em reservatórios subterrâneos ou em outros reservatórios, portanto inacessíveis ou de difícil acesso para a utilização humana (REBOUÇAS, 2006). A **figura 1** ilustra a distribuição de água na Terra.



**Figura 1:** Quantidade total e distribuição da água doce na Terra (FONTE: Rebouças, 2006).

As características dominantes dos ambientes aquáticos resultam das propriedades físicas e químicas da água, posto que a molécula de água é composta de um átomo de oxigênio, que tem carga ligeiramente negativa, ligado a dois átomos de hidrogênio que tem carga ligeiramente positiva. Essa estrutura dipolar confere à molécula de água a propriedade de atrair e dissolver grande quantidade de substâncias.

A água pode reter íons minerais em solução, proporcionando os recursos nutritivos necessários para o crescimento de algas e plantas superiores. Ainda, deve-se considerar a viscosidade da água, que quando corrente, transporta organismos vivos e oferece resistência ao movimento de animais com mobilidade, os quais necessitam de uma forma aerodinâmica. Outra característica importante para manutenção das formas vivas no ambientes aquáticos é a capacidade térmica da água para retenção do calor, o que mantém a temperatura dos grandes corpos d'água praticamente constante com o ciclo das estações (TOWNSEND; BEGON; HARPER, 2006).

A qualidade e quantidade dos recursos hídricos estão relacionadas e dependem do clima e das características físicas e biológicas dos ecossistemas que compõem a bacia hidrográfica na qual estão inseridos (REBOUÇAS, 1999).

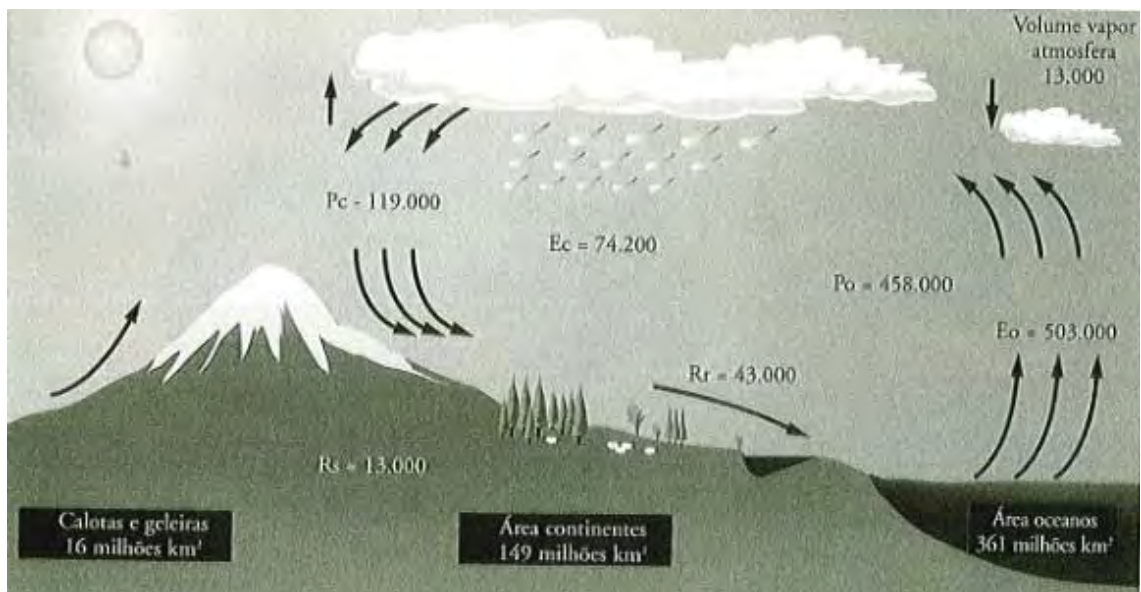
O termo “água” refere-se, de modo geral, ao elemento natural sem a implicação dos usos humanos. O termo “recurso hídrico” refere-se à água como bem econômico, portanto, passível de utilização para esse fim. Contudo, é preciso considerar que nem toda água da Terra é um recurso hídrico, uma vez que seu uso nem sempre é viável economicamente.

As águas de interior, ou seja, de rios, lagos, represas e aquíferos subterrâneos, em sua maioria, representam elemento essencial ao abastecimento do consumo humano e ao desenvolvimento de suas atividades industriais e agrícolas e é de importância vital aos ecossistemas, tanto vegetal quanto animal, das terras emersas (REBOUÇAS, 2006).

Segundo esse autor, nas últimas três décadas, os volumes de água que compõem o ciclo hidrológico foram avaliados por diferentes autores. Os valores encontrados podem diferenciar-se devido à variedade de metodologias empregadas, a escassez de dados, da consideração de parâmetros que são obtidos ao longo de diferentes períodos de tempo e má distribuição das respectivas estações ou postos

de medidas.

A **figura 2** apresenta os valores estimados de água que compõem o ciclo hidrológico da Terra. Um volume da ordem de 577200 Km<sup>3</sup>/ano é transformado em vapor de água, o qual atinge à atmosfera, sendo que 503 mil Km<sup>3</sup>/ano são evaporados dos oceanos e 74200 Km<sup>3</sup>/ano das terras emersas. A quantidade de água meteórica que cai, na forma de chuva, neve e neblina é de 458 mil Km<sup>3</sup>/ano nos oceanos e de 119 mil Km<sup>3</sup>/ano nos continentes.



**Figura 2:** Volume de água em circulação na Terra – Km<sup>3</sup>/ano (FONTE: Shiklomanov, in IHPUnesco, 1998 *apud* Rebouças, 2006).

LEGENDA: Po = precipitação nos oceanos, Eo = evaporação dos oceanos, Pc = precipitação nos continentes, Ec = evaporação dos continentes, Rr = descarga total dos rios, Rs = contribuição dos fluxos subterrâneos às descargas dos rios.

### 3.1.1. Distribuição de água doce no mundo

A distribuição do volume total de água doce não é uniforme pelo mundo. Com base no cálculo da quantidade de água precipitada menos a evapotranspiração potencial, a qual refere-se a transformação da água líquida em vapor, por radiação solar ou transpiração dos organismos vivos, pode-se classificar as regiões do globo em úmidas ou secas. Se o valor desse cálculo for positivo, a região é considerada úmida (REBOUÇAS, 2006).

A manutenção dos ecossistemas está diretamente relacionada a quantidade de água disponível na região, assim como a outros fatores abióticos ligados ou não ao ciclo hidrológico. Por isso tem-se que em regiões muito úmidas e quentes, como



os trópicos há o estabelecimento de grandes e exuberantes florestas como a Amazônica e em regiões secas tanto a biodiversidade quanto a produtividade agrícola são reduzidas, como a região de Sonora, no sudoeste americano, a qual possui a vegetação desértica mais complexa relatada (RICKLEFES, 2003).

Uma parcela desse excedente hídrico que caracteriza as regiões úmidas forma o escoamento superficial que deságua nos rios e lagos. Outra parcela infiltra nos terrenos da bacia hidrográfica alimentando a umidade do solo (REBOUÇAS, 2006). A **figura 3** demonstra a distribuição das lâminas médias escoadas pelos rios do mundo.



**Figura 3:** Distribuição dos fluxos dos rios (FONTE: World Resources Institute *apud* Rebouças, 2006).

Como é possível visualizar na figura a cima, as regiões mais úmidas da Terra localizam-se geograficamente entre os Trópicos de Câncer e de Capricórnio. Os maiores rios do mundo em volume de água, total ou parcialmente, estão inseridos nessa faixa úmida, o que é representado na **tabela 1**:

**Tabela 1:** Os maiores rios do mundo em volume de água (FONTE: adaptado de Rebouças, 2006)

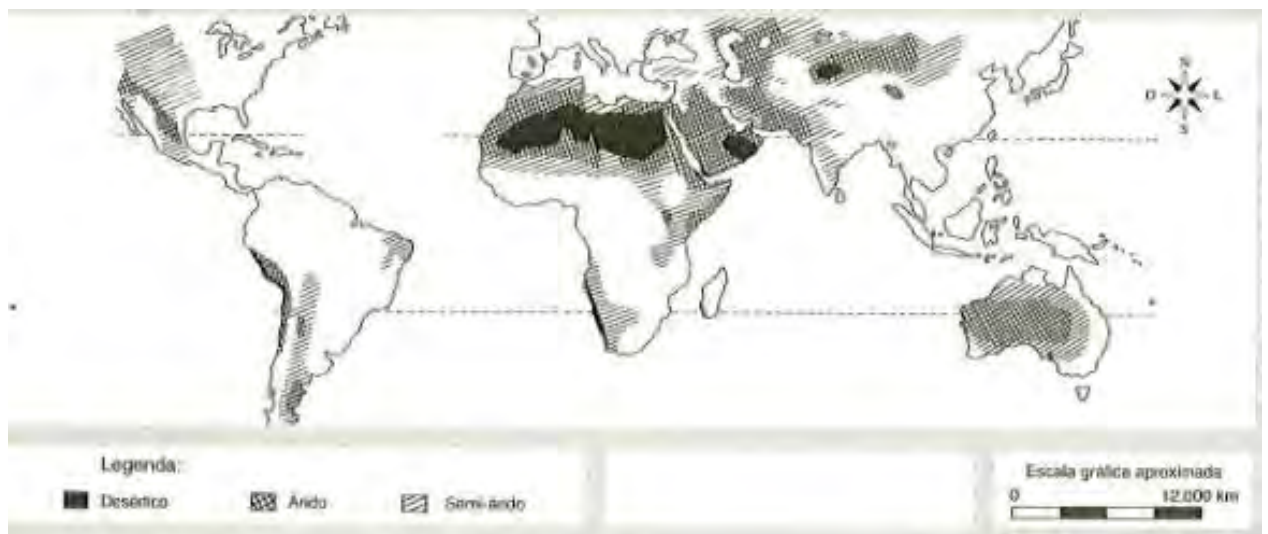
<b>MAIORES RIOS DO MUNDO</b>		
<b>Rio</b>	<b>Continente</b>	<b>Descarga média (m<sup>3</sup>/s)</b>
<b>Amazonas</b>	Sul-Americano	212.000
<b>La Prata</b>	Sul-Americano	42.400
<b>Congo</b>	Africano	38.800
<b>Orinoco</b>	Sul-Americano	28.000
<b>Mekong</b>	Asiático	13.500
<b>Irrawaddy</b>	Europeu	13.400

Os rios mais volumosos estão localizados no continente Sul-Americano, entretanto, o continente asiático é no qual o excedente hídrico é um dos maiores. Considerando que a água doce é um bem fundamental a manutenção da vida e das atividades econômicas humanas, sobretudo no panorama atual de escassez dessa, a distribuição da água pelos continentes torna-se um dado de grande importância (SELBORNE, 2001). A distribuição do excedente de água nos continentes é apresentada na **tabela 2**:

**Tabela 2:** Balanço precipitação menos evapotranspiração nos continentes (FONTE: adaptado de Rebouças, 2006)

<b>EXCEDENTE HÍDRICO NOS CONTINETES</b>			
<b>Região</b>	<b>Precipitação (Km<sup>3</sup>/ano)</b>	<b>Evapotranspiração (Km<sup>3</sup>/ano)</b>	<b>Excedente Hídrico (Km<sup>3</sup>/ano)</b>
<b>Europa</b>	8.290	5.320	2.970
<b>Ásia</b>	32.200	18.100	14.100
<b>África</b>	22.300	17.700	4.600
<b>América do Norte</b>	18.300	10.100	8.180
<b>América do Sul</b>	28.400	16.200	12.200
<b>Austrália e Oceania</b>	7.080	4.570	2.510
<b>Antártica</b>	2.310	0	2.310
<b>Totais</b>	<b>118.880</b>	<b>3.349</b>	<b>46.870</b>

Quando a quantidade de água precipitada é menor do que aquela evapotranspirada, o ambiente é considerado seco. Pela Terra esses ambientes estão distribuídos, principalmente nos continentes africano e Oceania como representado na **figura 4**. Esse “déficit hídrico” torna as recargas de águas subterrâneas e os escoamentos de superfície escassos ou efêmeros, em consequência, os rios e lagos podem secar temporariamente e os solos perdem umidade sob o efeito dos processos de evaporação intensa (REBOUÇAS, 2006).



**Figura 4:** Regiões mais secas da Terra (FONTE: IHP/Unesco *apud* Rebouças, 2006).

Considerando o consumo de água pelo ser humano, tanto para beber, quanto para a irrigação ou a produção de energia elétrica, cerca de 40% da população mundial depende dos 214 principais sistemas hidrográficos compartilhados por dois ou mais países. Em alguns países, quase toda a água superficial tem origem fora das suas fronteiras, por exemplo, no caso do Egito são 97% da água consumida vem de fora do seu território, na Holanda são 89% da água consumida (SELBORNE, 2001).

Segundo esse autor, disputas entre vizinhos, a montante e a jusante dos corpos d'água, a respeito do uso e da qualidade da água acontecem em quase todas as regiões do globo. São conflitos relacionados com a diminuição do fluxo fluvial, o assoreamento devido a uma represa, a diversificação do uso da água para fins de irrigação, a poluição industrial ou agroquímica, a salinização dos fluxos d'água devido a práticas impróprias de irrigação, inundações agravadas pelo desmatamento e a erosão do solo.

O aumento da competição pela água, dentro dos países e entre eles, à medida que as necessidades humanas aumentam enquanto a água como recurso, embora renovável, torna-se mais escassa, poderia representar um sério desafio à segurança da humanidade. Das três forças mais importantes que conspiram para criar escassez, com o seu potencial de conflito estão a carência ou degradação do recurso, o aumento da população e a desigualdade de acesso ou distribuição, sendo que esta última é muitas vezes a mais importante (CONCA, 2008).

Portanto, a **tabela 3** foi elaborada, com base nos países mais ricos e pobres em água doce, de acordo com a descarga média de águas dos rios presentes nos países.

**Tabela 3:** Descargas dos rios nos países mais ricos e nos mais pobres em água doce da Terra

<b>DESCARGA DOS RIOS</b>			
<b>Países ricos em água doce</b>	<b>Descarga média dos rios (m<sup>3</sup>/s)</b>	<b>Países pobres em água doce</b>	<b>Descarga média dos rios (m<sup>3</sup>/s)</b>
<b>Brasil</b>	197.500	<b>Malta</b>	0,5
<b>Rússia</b>	128.857	<b>Gaza</b>	1,5
<b>USA (com Alasca)</b>	119.365	<b>União dos Emirados Árabes</b>	15,9
<b>Canadá</b>	104.444	<b>Líbia</b>	19,0
<b>China</b>	88.888	<b>Cingapura</b>	19,0
<b>Indonésia</b>	80.317	<b>Jordânia</b>	21,6
<b>Índia</b>	58.730	<b>Israel</b>	23,8
<b>Colômbia</b>	38.095	<b>Chipre</b>	28,6
<b>Peru</b>	34.920	FONTE: adaptado de Rebouças, 2006	
<b>Comunidade Européia</b>	37.174		

### 3.1.2. Distribuição de água doce no Brasil

No panorama internacional, o Brasil é considerado o país mais rico em água doce do mundo. A descarga de água doce dos seus rios, que é de 177.900 m<sup>3</sup>/s

mais 73.100 m<sup>3</sup>/s da Amazônia Internacional, representa 53% da produção de água doce do continente sul-americano, que é de 334.000 m<sup>3</sup>/s, e 12% do total mundial, 1.488 milhões de m<sup>3</sup>/s (REBOUÇAS, 2006).

Segundo esse autor, toda essa vazão de água doce do país está distribuída de forma desigual pelas regiões geográficas, devido o clima e a formações geológicas diferenciadas entre essas. Portanto, tem-se que 80% da água doce brasileira estão localizadas em três bacias hidrográficas: Amazonas, São Francisco e Paraná. A **figura 5** representa a distribuição das bacias hidrográficas no território brasileiro. A bacia Costeira da Norte, onde se encontra o Agreste ou o Sertão Nordestino, insere a região com a menor precipitação anual.



**Figura 5:** Regiões das Bacias Hidrográficas Brasileiras (FONTE: ANA, 2002 *apud* Rebouças, 2006).

Apesar do grande potencial hídrico do Brasil, existem áreas muito carentes a ponto de transformá-lo em um bem limitado às necessidades do homem. Normalmente, a escassez de água é muito mais grave em regiões onde o desenvolvimento ocorreu de forma desordenada, provocando a deterioração das águas disponíveis, devido ao lançamento indiscriminado de esgotos domésticos, despejos industriais, agrotóxicos e outros poluentes (MOITA, CUDO, 1991).

Tomando por base o quadro mundial delineado pela Organização das Nações

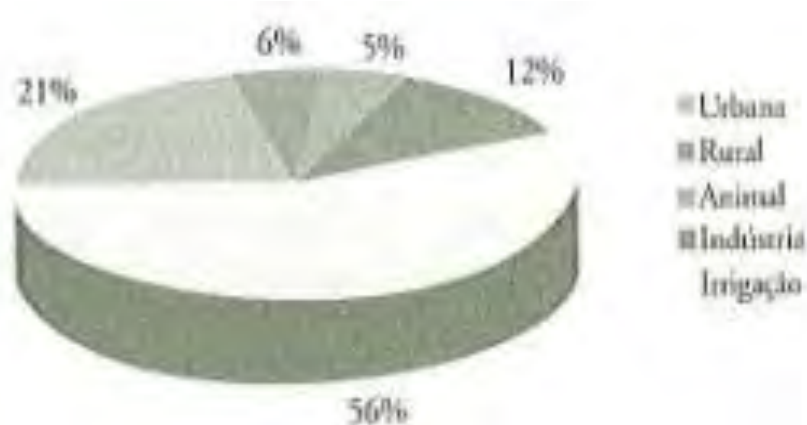
Unidas (ONU) o qual classifica os países quanto à disponibilidade de recursos hídricos por m<sup>3</sup>/hab/ano, o Brasil apresenta uma situação confortável. Todos os estados da região Norte são muito ricos em água doce e a maioria dos da região Nordeste situa-se na classe regular, entretanto, em nenhum caso se atinge o nível de “estresse de água” inferior a mil m<sup>3</sup>/hab/ano (MARGAT, 1998).

Contudo, segundo Rebouças (2006), analisando a situação atual das 24 bacias hidrográficas na região Nordeste os problemas de abastecimento de água, em escala local, já atingem uma situação crítica no semi-árido.

### 3.1.3. Usos da água doce

A água doce como “recurso hídrico” desempenha vários papéis na economia dos países. As principais formas de consumo da água ocorrem mundialmente na agricultura e na pecuária, cerca de 65% do total. Os outros 35% são utilizadas, por exemplo, no abastecimento doméstico e industrial, na produção de energia elétrica e para recepção e transporte de dejetos (SALATI, LEMOS, SALATI, 2006)

A irrigação em sistemas agrícolas é responsável pela retirada de 56% da água, e o abastecimento animal, por 5% da retirada total. A **figura 7** apresenta os percentuais de retirada de água por setores usuários de recursos hídricos no Brasil, com base nos dados da Agência Nacional de Recursos Hídricos (ANA) de 2002.



**Figura 7:** Porcentagem de retirada de água pelos setores que a utilizam (FONTE: Salati, Lemos, Salati, 2006).

A utilização da água no setor industrial é altamente diversificada, devido as suas diferentes e anômalas propriedades, estabelecendo uma diversificada gama de



aplicações, como: matéria-prima e reagente, solvente de substâncias sólidas, líquidas e gasosas, lavagem de gases e sólidos para retenção de materiais contidos em misturas esses estados, como veículo de suspensão de materiais em fase sólida e operações envolvendo transmissão de calor entre outras.

Devido o múltiplo uso o setor industrial gera uma grande quantidade de rejeitos na forma de efluentes líquidos a cada ano. A disposição desses contaminantes induz alterações diversas nos corpos receptores desses dejetos, todas essas alterações provocam impactos ambientais significativos. Assim sendo, os efluentes industriais devem passar pelos processos de controle e tratamento, prevenção e diminuição do potencial de contaminação e tendo a legislação brasileira como agente controlador (SILVA, KULAY, 2006).

Outros usos são destinados a água doce pelo ser humano, embora em escala menor, como na mineração, para manutenção do meio urbano de um modo geral, na navegação, aquicultura e, sobretudo nas últimas décadas, para o ecoturismo e apreciação estética (REBOUÇAS, 2006).

O abastecimento de água e a coleta de esgoto não são considerados parâmetros equiparáveis entre muitos países nem para as suas populações. Na América Latina e região do Caribe, a situação é relativamente melhor do que no resto do mundo, entretanto a constatação que a cobertura de saneamento e abastecimento diminuiu nas últimas décadas (de 83 para 73% e de 90 para 88% respectivamente), quando o esperado pela área de saneamento era que aumentasse. Isso desenvolve uma situação preocupante e que possivelmente esteja associado ao surto de cólera em alguns desses países (HESPANHOL, 2006).

De acordo com esse autor, no Brasil o abastecimento de água no setor urbano é de 85% e no rural é de 31%. Com relação à cobertura de saneamento, os dados são ainda mais preocupantes, 55% para o setor urbano e apenas 3% para as áreas rurais. Outro dado a ser considerado é a disparidade de oferta desses atendimentos básicos com relação à renda da população. Tanto o abastecimento de água quanto a coleta de esgoto, que são serviços considerados de responsabilidade pública, são distribuídos de forma desigual. Os serviços de melhor qualidade destinam-se para a faixa da população com maior poder aquisitivo, como é demonstrado na **tabela 4**:

**Tabela 4:** Porcentagem de demanda brasileira atendida por faixa de renda (FONTE: IBGE, 1991 *apud* Hespanhol, 2006)

DEMANDA ATENDIDA POR FAIXA DE RENDA		
Faixa de renda	Abastecimento de água	Coleta de esgoto
0 a 2 salários mínimos	68%	41%
Mais de 10 salários mínimos	99%	81%

De todo o consumo diário, por pessoa, apenas dois ou três litros de água são utilizados, em um país tropical, como bebida ou no preparo de alimentos. Essa parcela, assim como a água utilizada para higiene pessoal, é objeto de preocupação quanto a saúde pública, sendo os padrões de qualidade dessa mais rigorosos e sua utilização, muitas vezes implica na adição de substâncias benéficas a população, como por exemplo, a aplicação na água potável de compostos de flúor para prevenção da cárie dentária (BRANCO, AZEVEDO, TUNDISI, 2006).

A qualidade dos corpos d'água é importante não somente para o consumo de água potável pelos seres humanos, mas também pelo fato de todos os organismos conseguirem viver somente dentro de seus limites de tolerância, ou seja, entre os limites inferiores e superiores de uma série de fatores ambientais (ESTEVES, 1998). Um fator torna-se limitante quando uma variável ambiental, ou a combinação de variáveis, encontra-se em níveis sub-ótimos e impede os organismos de alcançarem plenamente seus potenciais bióticos, inibindo suas taxas de crescimento (ODUM, 1988).

### 3.1.4. Qualidade de água

Os problemas com relação à qualidade da água são determinados, em grande parte, pelas atividades existentes nas bacias hidrográficas. Focos de poluição claramente detectáveis, ou seja pontuais, devem ser monitorados, porém, esses podem ser ultrapassados em importância pela poluição difusa, ou seja não pontual, oriundas por exemplo da agricultura e erosão (TUNDISI, 2000).

Na avaliação da qualidade de uma água, considera-se a composição de uma amostra cujos constituintes são referidos em termos de características físicas,



microbiológicas e químicas, a depender do objetivo a ser alcançado (REBOUÇAS, 2006). A qualidade total pode ser atingida elevados graus de complexidade, como demonstra a **figura 8**:

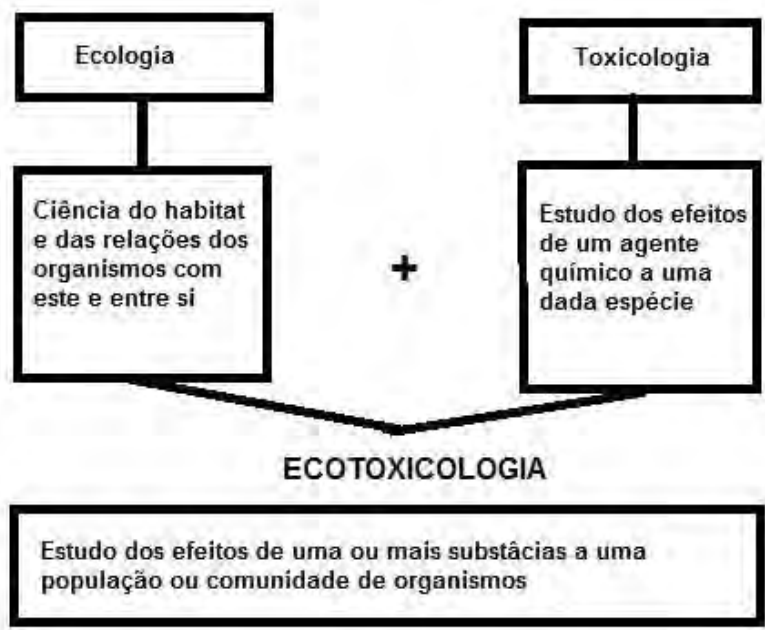


**Figura 8:** Árvore da qualidade total da água (FONTE: adaptado de Rebouças, 2006).

A toxicologia, procura identificar as causas e os efeitos nocivos sobre o indivíduo, quantificar e conhecer seus efeitos, conhecer os mecanismos de ação e outros processos que implicam conhecimento do contaminante no organismo e os fatores que influenciam no seu destino no ambiente (ZAGATTO, 2006).

Segundo esse autor, mais especificamente a Ecotoxicologia foi definida por Ramade (1997) como ciência que tem por objetivo estudar as modalidades de contaminação do ambiente pelos poluentes naturais ou sintéticos, produzidos por atividades humanas, seus mecanismos de ação e seus efeitos sobre o conjunto de seres vivos que habitam a biosfera.

A **figura 9** demonstra a interface entre Toxicologia e Ecologia, para conceituação da Ecotoxicologia.



**Figura 9:** Conceituação da Ecotoxicologia (FONTE: adaptado de Zagatto, 2006).

Quando se trata da qualidade da água, essa se relaciona mais ao uso que os homens fazem dela do que propriamente da identificação dos níveis de elementos aos presentes, além de considerar o tipo de recurso hídrico utilizado e o nível de intervenção praticado sobre um determinado recurso hídrico. Assim sendo, o arcabouço legal e normativo brasileiro adota que a especificação de qualidade da água deve basear-se em limites toleráveis e/ou aceitáveis da presença de elementos estranhos a química natural da água, tendo em vista um particular uso que se pretenda fazer deste recurso. Isto é, não existe uma qualidade única a partir da qual a água é considerada boa ou inadequada, mas estabelece limites específicos dos diversos contaminantes para cada uso em particular (TOLEDO e FERREIRA, 2000).

A resolução CONAMA 357 de 17 de março de 2005, define 9 classes de uso de água, e determina os limites máximos estabelecidos para os contaminantes mais comuns. As classes e suas destinações possíveis são:

Para águas doces (águas com salinidade igual ou inferior a 0,50 ‰):

1 - **Classe Especial** - águas destinadas ao abastecimento doméstico sem prévia ou com simples desinfecção e à preservação do equilíbrio natural das comunidades aquáticas.

2 - **Classe 1** - águas destinadas ao abastecimento doméstico após tratamento simplificado, à proteção das comunidades aquáticas, à recreação de contato

primário (natação, esqui aquático e mergulho), à irrigação de hortaliças que são consumidas cruas e de frutas que se desenvolvam rentes ao solo e que sejam ingeridas cruas sem remoção de película e à criação natural e/ou intensiva (aquicultura) de espécies destinadas á alimentação humana.

3 - **Classe 2** - águas destinadas ao abastecimento doméstico, após tratamento convencional, à proteção das comunidades aquáticas, à recreação de contato primário (esqui aquático, natação e mergulho), à irrigação de hortaliças e plantas frutíferas e à criação natural e/ou intensiva (aquicultura) de espécies destinadas à alimentação humana.

4 - **Classe 3** - águas destinadas: ao abastecimento doméstico, após tratamento convencional, à irrigação de culturas arbóreas, cerealíferas e forrageiras, e à dessedentação de animais.

5 - **Classe 4** - águas destinadas: à navegação, à harmonia paisagística e aos usos menos exigentes.

Para águas salinas (águas com salinidade igual ou inferior a 0,5 ‰ e 30 ‰).

~ - **Classe 5** - águas destinadas: à recreação de contato primário, à proteção das comunidades aquáticas e à criação natural e/ou intensiva (aquicultura) de espécies destinadas à alimentação humana.

7 - **Classe 6** - águas destinadas: à navegação comercial, à harmonia paisagística e à recreação de contato secundário.

Para águas salobras (águas com salinidade igual ou superior a 30 ‰).

8 - **Classe 7** - águas destinadas: à recreação de contato primário, à proteção das comunidades aquáticas e à criação natural e/ou intensiva (aquicultura) de espécies destinadas à alimentação humana.

9 - **Classe 8** - águas destinadas: à navegação comercial, à harmonia paisagística e à recreação de contato secundário.

Para efeito dessa resolução além da qualificação das águas doces, salobras e salinas com base nos usos preponderantes, são adotadas no artigo 2º as seguintes definições:

Quanto ao enquadramento: estabelecimento do nível de qualidade a ser alcançado e/ou mantido em um segmento de corpo d'água ao longo do tempo.

Quanto à condição: qualificação do nível de qualidade apresentado por um segmento de corpo d'água, num determinado momento, em termos dos usos possíveis com segurança adequada.

Quanto à efetivação do enquadramento: conjunto de medidas necessárias para colocar e/ou manter a condição de um segmento de corpo d'água em correspondência com a sua classe.

Os padrões de qualidade, segundo a ABNT (NBR 9896/87), são constituídos por um conjunto de parâmetros e respectivos limites, como por exemplo, concentrações de poluentes, em relação aos quais os resultados dos exames de uma amostra de água são comparados, aquilatando-se a qualidade da água para um determinado fim. Os padrões são estabelecidos com base em critérios científicos que avaliam o risco para uma dada vítima e o dano causado pela exposição a uma dose conhecida de um determinado poluente.

Sobre as classes de qualidade de água, o Decreto de Lei n.º 236/98 de 1 de Agosto, do Ministério do Meio Ambiente – Brasil, firma a classificação das águas superficiais em:

**A) Águas para consumo humano:**

Classe A1) Águas doces superficiais destinadas à produção de água para consumo humano;

Classe A2) Águas subterrâneas destinadas à produção de água para consumo humano;

Classe A3) Águas de abastecimento para consumo humano.

**B) Águas para suporte da vida aquícola:**

Classe B1) Águas doces superficiais para fins aquícolas;

Classe B2) Águas do litoral e salobras para fins aquícolas;

Classe B3) Águas do litoral e salobras para fins aquícolas.

**C) Águas balneares.**

**D) Águas de rega.**

Esse decreto também determina esquemas de tratamento de tipos distintos para as classes de água superficiais, a fim de torná-las aptas para o consumo humano. São esses, para:

Classe A1 - tratamento físico e desinfecção.

Classe A2 - tratamento físico e químico e desinfecção.

Classe A3 - tratamento físico, químico de afinação e desinfecção.

Entre as principais fontes de contaminação do solo e das águas subterrâneas podem-se citar os vazamentos em dutos e tanques de armazenamentos subterrâneos de combustível, atividades de mineração e uso de defensivos

agrícolas. Outras importantes fontes de contaminação são os esgotos que, nas cidades e nas regiões agrícolas, são lançados no solo diariamente em grande quantidade, poluindo rios, lagos e lençol freático. Dos contaminantes das águas subterrâneas os compostos aromáticos, os hidrocarbonetos oxigenados, os íons metálicos, os microorganismos e os compostos nitrogenados são os mais freqüentes. A presença de compostos nitrogenados também indica o grau de contaminação e as condições higiênico-sanitárias do aquífero (REBOUÇAS, 1996).

O ambiente aquático não é um compartimento de diluição infinita da poluição gerada e a superfície da Terra e seus ambientes nada mais são do que compartimentos frágeis de matéria viva dos quais depende a existência humana. Portanto, a caracterização adequada e controle dos resíduos das atividades humanas lançados ao ambiente são importantes papéis destinados a ciência e aos órgãos competentes de cada país (LEFF, 2004).

### **3.1.5. A vida no ambiente aquático de água doce**

As características dominantes dos ambientes aquáticos resultam das propriedades físicas da água, como viscosidade, capacidade térmica alta e capacidade de atrair e dissolver substâncias. A composição biótica dos ambientes aquáticos também varia de acordo com as características e disposição desses sobre a crosta terrestre, como rios, lagos, oceanos e estuários.

Os biomas de rios e lagos são compostos por água doce. Os riachos e rios são caracterizados por sua forma linear, fluxo unidirecional, vazão oscilante e leitos instáveis. A vegetação terrestre que margeia os rios exerce forte influência sobre a disponibilidade de recurso para os organismos aquáticos. A ecologia de lagos é definida pela característica relativamente estacionária da água, sendo que, alguns lagos podem apresentar estratificação vertical em resposta à temperatura, o que oferece conseqüências quanto a disponibilidade de oxigênio e nutrientes para as plantas e animais desses (TOWNSEND, BEGON, HARPER, 2006).

Com relação à diversidade biológica dos ambientes de água doce, a maior parte das espécies descritas e estudadas são vertebrados e invertebrados vetores de doenças humanas. Dentre os principais grupos de organismos que compõem as comunidades aquáticas, estão os vírus, as algas, macrófitas, protozoários, poríferos (esponjas de água doce), cnidários, platelmintos, rotíferos, moluscos, anelídeos,

decápodes, custáceos, insetos aquáticos, peixes, anfíbios, répteis, pássaros e mamíferos (TUNDISI, TUNDISI, 2008).

Segundo esses autores, as algas são um grupo diversificado de organismos fotoautotróficos, que podem constituir parte do fitoplâncton ou manterem-se presos ao substrato. Os organismos que compõem o fitoplâncton são responsáveis por cerca de 45% da produção primária líquida da Terra. Outros organismos fotoautotróficos de grande importância nos ambientes límnicos são as macrófitas submersas ou emersas, que em regiões rasas e iluminadas são as mais importantes produtoras de matéria orgânica.

Os insetos aquáticos e suas larvas são encontrados em abundância nos ecossistemas límnicos. Muitas dessas larvas possuem adaptações morfológicas especiais para resistir ao movimento da água, assim, esses organismos possuem ampla distribuição espacial, podendo sobreviver inclusive nas áreas de maior velocidade da corrente de água em rios e riachos.

Os peixes constituem parte da comunidade nectônica de grande importância evolutiva, econômica e ecológica. A interação desses organismos com o ecossistema e biota aquática ocorre por meio de inter-relações alimentares e de efeitos na composição química das águas e nos sedimentos. Os peixes também são responsáveis pelo transporte de matéria orgânica, vertical e horizontalmente, devido a sua capacidade de deslocamento.

O conjunto de organismos vertebrados, anfíbios, répteis, pássaros e mamíferos, têm um papel extremamente importante nos sistemas aquáticos continentais. A maioria das espécies de anfíbios utilizam-se da água desde os estágios iniciais, posto que os girinos habitam águas rasas de rios e lagos. Esses organismos têm grande importância na rede alimentar próximo a interface entre sistemas aquáticos e terrestres.

A maior parte das espécies de répteis habita águas rasas e são importantes predadores, tendo papel relevante no controle de populações de peixes, pequenos mamíferos e aves de regiões alagadas. Por sua vez, as aves aquáticas desempenham um papel ecológico extraordinário, com efeitos quantitativos e qualitativos sobre a rede alimentar e na reciclagem de nutrientes.

Muitos mamíferos vivem em áreas próximas a ambientes aquáticos continentais. Algumas espécies de mamíferos vivem na água, como castores roedores, lontras e cetáceos, participando diretamente da reciclagem de alguns

nutrientes, remoção de vegetação e controle populacionais que mantêm a estrutura das comunidades desses ambientes equilibrada.

Ainda de acordo com esses autores, os organismos e comunidades têm um papel fundamental nos processos de funcionamento de rios, lagos, represas e áreas alagáveis.

### 3.2. Algas

As algas são organismos de natureza variada, ampla distribuição e presentes em praticamente todos os corpos d'água. São talófitos e protistas clorofilados, de características, ecologia e comportamento tão diferentes entre si, que torna inviável sua identificação dentro de um único grupo (RAVEN *et al*, 2007).

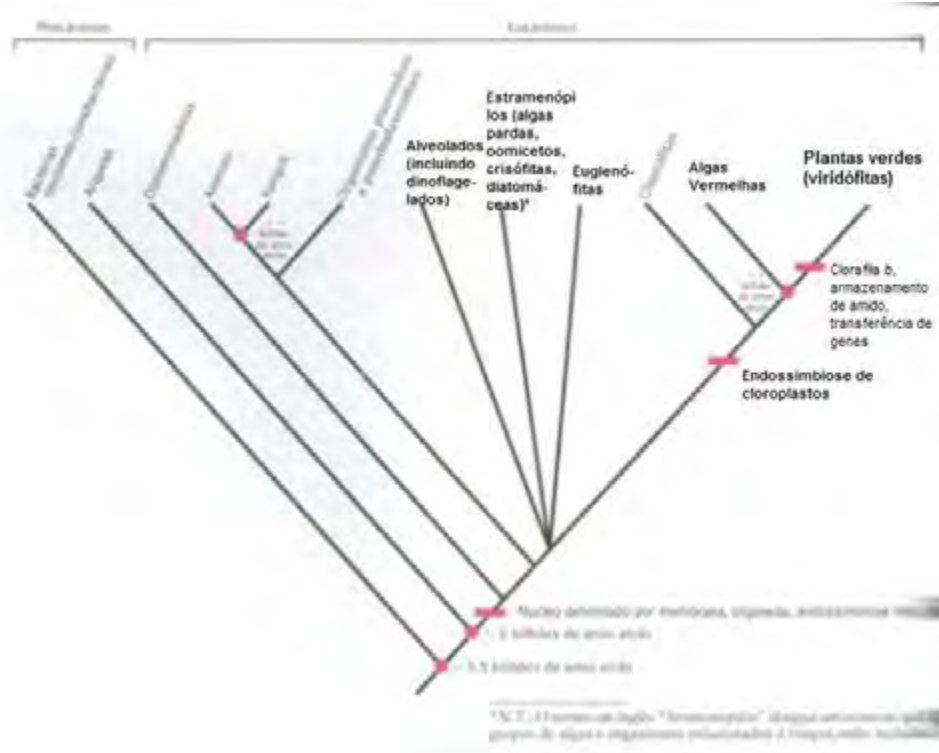
Embora a maioria das algas apresentem tamanho microscópicos, correspondendo claramente a microrganismos, algumas formas são macroscópicas. Filogeneticamente, as microalgas são compostas de espécies eucarióticas, antigas ou mais recentes, conforme o período em que surgiram no planeta (RAVEN *et al.*, 2001).

As algas contêm clorofila e, conseqüentemente, exibem coloração verde. Entretanto, alguns tipos de algas não são verdes, exibindo coloração vermelha ou marrom devido à presença de outros pigmentos como pigmentos tais como xantofilas, além da clorofila, os quais mascaram a coloração verde (MADIGAN, MARTINKO, PARKER, 2004).

As algas constituem um grupo filogeneticamente heterogêneo, distribuídos em seis grandes grupos: Chlorophyta (algas verdes), Rodophyta (algas vermelhas), Phaeophyta (algas pardas), Dinoflagellata (dinoflagelados), Euglenophyta (euglenóides) e Crysophyta (algas marrom-douradas e diatomáceas) (BICUDO; MENEZES, 2006).

Principalmente as algas verdes e em menor extensão as algas vermelhas, exibem relações relativamente próxima às plantas verdes. Os grupos de algas marrons e diatomáceas constituem linhagens mais precoces, sendo que menos derivados ainda estão os euglenóides. Estes estão filogeneticamente mais relacionados aos protozoários flagelados (MADIGAN, MARTINKO, PARKER, 2004). A **figura 10** ilustra a árvore filogenética dos organismos demonstrando o ramo evolutivo dos grupos de algas.





**Figura 10:** Árvore genética dos seres vivos (FONTE: adaptado de Raven *et al*, 2007).

A árvore filogenética representada na figura 10 baseia-se nas seqüências de proteínas combinadas para os organismos representados e demonstra a posição das plantas e de várias algas entre os eucariotas, bem como das características que determinam vários clados importantes.

Diversas características são utilizadas para a classificação das algas, incluindo a natureza da (s) clorofila (s) presente (s), os polímeros de reserva de carbono, a estrutura da parede celular e o tipo de motilidade. Todas as algas contêm clorofila *a*. Algumas, no entanto, contêm outras clorofilas que diferem pouco da clorofila *a*, sendo que a presença dessas que clorofilas adicionais caracteriza um determinado grupo de algas (MADIGAN, MARTINKO, PARKER, 2004).

A clorofila *a* é a que produz energia química na fotossíntese, pois pode doar elétrons como efeito da excitação produzida pela energia radiante entre 360 e 700 nm, assim sendo, os outros pigmentos como, clorofila *b* e *c*, carotenoides, xantofilas, ficocianinas, ficoeritrinas e xicobilinas, são acessórios (REYNOLDS, 1997).

Outra característica empregada na classificação dos grupos de algas corresponde ao polímero de reserva sintetizado como resultado da fotossíntese. Por



exemplo, as algas da divisão Chlorophyta produzem amido de forma muito similar as plantas superiores (MADIGAN, MARTINKO, PARKER, 2004).

Segundo esses autores, as algas possuem considerável diversidade na estrutura e composição química de suas paredes celulares. Em muitos casos, a parede celular é composta por uma rede de fibrilas de celulose, geralmente modificada pela ação de outros polissacarídeos como pectina, xilanas, mananas, ácidos algínicos ou ácido fucínico. Em algumas algas a parede celular é reforçada pela deposição de carbonato de cálcio, quitina ou sílica ou a parede celular é ausente.

Os representantes do filo Euglenophyta são flagelados, com cerca de 900 espécies reconhecidas, sendo que cerca de dois terços dos gêneros são heterotróficos e incolores. Os gêneros clorofilados, incluindo *Euglena*, possuem clorofila *a* e *b* e vários carotenóides semelhantes as algas verdes, o que sugere que os cloroplastos das euglenófitas derivam de uma alga verde endossimbiótica.

Os dinoflagelados são intimamente relacionados com os protozoários ciliados e com os Apicomplexa, um filo de protozoários parasitas cujas células contêm um plasto não pigmentado. Muitos dinoflagelados são unicelulares biflagelados e cerca de metade desses não possuem aparato fotossintetizante e se alimentam por absorção de compostos orgânicos ou ingestão de partículas sólidas. Os que são pigmentados possuem clorofila *a* e *c*, geralmente mascarada pelos carotenóides incluindo a peritidina, sendo que muitos possuem carapaça espessa para alimentação heterotrófica.

As algas pardas compõem um grupo quase exclusivamente marinho. Alguns representantes da ordem Laminariales formam bancos extensivos próximos a costa, conhecidos como *kelps*. As células dessas algas contêm tipicamente plastídios discóides marrom-dourado. Além da clorofila *a* e *c* os cloroplastos das algas pardas também contêm vários carotenóides, incluindo fucoxantina e o material de reserva desse grupo é o carboidrato laminarina, o qual fica armazenado nos vacúolos.

As algas representantes do filo Chrysophyta geralmente possuem clorofila *a* e *c*, cuja cor é mascarada pela abundância de fucoxantina, algumas são incolores sendo que existem poucas formas plasmodiais, filamentosas e parenquimatosas. Diversas crisofíceas são conhecidas por ingerirem bactérias e outras partículas orgânicas. Alguns representantes possuem paredes constituídas de fibrilas celulósicas interligadas que podem estar impregnadas por minerais.

As algas vermelhas (Rodophytas) estão amplamente distribuídas nos ambientes aquáticos, sobretudo águas tropicais e quentes. O cloroplasto dessas contém ficobilinas que mascaram a cor da clorofila *a* e confere a cor avermelhada. Esses pigmentos são bem adaptados a absorção de luz verde e azul-esverdeada que penetra nas águas profundas, onde as algas vermelhas estão bem representadas

As algas verdes podem constituir parte do fitoplâncton ou encontrarem-se presos ao substrato. Habitam uma variada gama de ecossistemas aquáticos continentais e marinhos, podendo ocupar também habitats como neve fundida, casca de árvores, passeios, como simbioses nos líquens, protozoários e invertebrados, sobre outros organismos (RAVEN *et al*, 2007).

### 3.2.1. Filo Chlorophyta

Dentre os grupos de algas com características verdes, as Chlorophytas são as mais diversificadas, sendo que existem mais de 17000 espécies, na sua maioria de águas doces e tem grande importância com produtores primários da matéria orgânica, também para os ecossistemas regiões rasas e iluminadas, macrófitas submersas ou emersas podem ser os produtores primários mais importantes (BRUSCA; BRUSCA, 2003).

Estudos recentes das ultra-estruturas celulares das algas envolvendo de mitose, citocinese e células reprodutivas, possibilitaram informações sobre semelhanças, inclusive moleculares, das diversas espécies de algas, o que possibilitou um novo agrupamento sistemático das algas verdes dentro de várias classes, das quais destacam-se as classes: *Chlorophyceae*, *Ulvophyceae* e *Charophyceae* (RAVEN *et al*, 2007). A **tabela 5** apresenta as principais diferenças entre essas classes.

**Tabela 5:** Diferença entre as três principais classes de algas verdes (FONTE: adaptado de Raven et al, 2007)

<b>DIFERENÇAS ENTRE AS CLASSES DAS ALGAS VERDES</b>			
<b>Classe</b>	<b>Charophyceae</b>	<b>Chlorophyceae</b>	<b>Ulvophyceae</b>
<b>Características Gerais</b>	Unicelular, filamentosa, parenquimatosa, similaridade estrutural e bioquímica	Unicelular, flagelados, colônias móveis ou imóveis, filamentosa, parenquimatosa	Filamentosa, parenquimatosa, cenocítica
<b>Divisão celular</b>	Ficoplastos não encurtam, formando fragmoplastos (nova placa celular), envoltório nuclear desintegram-se	Ficoplastos encurtam-se, envoltório nuclear não desaparece	Ficoplastos não encurtam, porém ao formarem fragmoplastos e envoltório nuclear persiste
<b>Flagelos</b>	Células flageladas assimétricas – células reprodutivas (biflagelas)	Células flageladas	Células flageladas, radial, 2,4 ou + flagelos
<b>Divisão celular</b>	Meiose zigótica com produção de zigósporos dormentes, pirenoídes	Meiose zigótica com produção de zigósporos dormentes, plasmódemas	Alternância de gerações com meiose espórica (única classe), raramente forma zigósporos dormentes
<b>Reprodução</b>	Assexual	Assexual	Assexual
<b>Reprodução sexual</b>	Isogâmica, Oogâmica	Isogâmica, Oogâmica, Anisogâmica	Isogâmica, Oogâmica, Anisogâmica
<b>Ambientes predominantes</b>	Dulcícolas	Dulcícolas, algumas marinhas, solos e madeira	Marinhas

A classe Chlorophyceae inclui uma diversificada morfologia das algas, que vivem principalmente em águas doces, embora algumas espécies planctônicas unicelulares ocorram em águas marinhas costeiras. Algumas Chlorophyceae são essencialmente terrestres, ocorrendo na neve, madeira ou solo.

As Ulvophyceae são principalmente marinhas, porém alguns representantes ocorrem em águas doces, tendo provavelmente migrado do habitat marinho, no passado. Os organismos dessa classe podem ser filamentosas ou laminares e ainda macroscópicas e multinucleadas. Os representantes da classe Charophyceae consistem em gêneros unicelulares, coloniais, filamentosos e parenquimatosos e se assemelham estrutural, bioquímica e geneticamente as briófitas e plantas vasculares (RAVEN *et al.*, 2007).

Tundisi e Tundisi (2008) salientam que a reprodução em clorófitas (algas verdes) é bastante variada, ocorrendo espécies com ciclos de vida haplodiplontes (isomórficos ou heteromórficos) e haplontes. Em condições favoráveis, normalmente ocorre a reprodução assexuada por fragmentação e quando as condições são desfavoráveis ocorre a reprodução sexuada.

Segundo Raven *et al* (2007), os microrganismos fotossintetizantes possuem função ecológica semelhante à das plantas, isto é, são produtores primários que utilizam energia luminosa para fazer seu próprio alimento.

No ambiente límnico, água de interiores, os principais produtores primários são algas, macrófitas aquáticas e algumas espécies de bactérias. Uma parte da produção total (produção primária bruta) destes organismos é gasta na manutenção de seu próprio metabolismo enquanto a outra parte é transformada em biomassa (produção primária líquida), que constitui a fonte de energia para as cadeias alimentares de todo o ecossistema (ESTEVEZ, 1988).

O plâncton animal (plâncton heterotrófico ou zooplâncton), assim como alguns pequenos peixes, nutrem-se do fitoplâncton, desta forma, as algas planctônicas ou fitoplâncton constituem o início da cadeia alimentar para todos os organismos heterotróficos que habitam os oceanos (RAVEN *et al*, 2007). Além disso, dentro desses ambientes aquáticos as microalgas desempenham um papel relevante sendo responsáveis por mais da metade da atividade fotossintética de toda Terra (PELEGRIN, 2004).

O fitoplancton que é freqüentemente chamado "grande pasto marítimo", pode ser comparado aos campos terrestres, servindo como fonte de alimento para organismos heterotróficos (RAVEN *et al*, 2007).

Outro ponto de relevância ecológica é a produção de oxigênio dos seres fotoautotróficos que oxida a atmosfera do Planeta e fixa o CO<sub>2</sub> da atmosfera e da água, sendo considerada uma importante fonte de sumidouro "sink" de carbono da biosfera. Dentre esses grupos deve-se destacar a importância ecológica, evolutiva e bioquímica as *Chlorophyta* ou *algas verdes* (TUNDISI, TUNDISI, 2008).

Tanto no ambiente natural quanto nos cultivos o crescimento de uma população de microalgas é resultado da interação entre fatores biológicos, químicos e físicos (FALKOWSKI, RAVEN, 1997). Os fatores biológicos estão relacionados às próprias taxas metabólicas da espécie cultivada, bem como com a possível influência de organismos contaminantes. Quanto aos fatores físico-químicos que

afetam o crescimento das microalgas são principalmente reportados estudos sobre luz, temperatura, salinidade e disponibilidade de nutrientes (RICHMOND, 2004).

### 3.2.2. *Pseudokirchneriella subcapitata*

Dentre as algas verdes encontra-se a espécie *Pseudokirchneriella subcapitata*, anteriormente denominada *Selenastrum capricornutum*. Esta espécie é frequentemente utilizada para avaliação de toxicidade de amostras de águas superficiais (REYNOLDS *et al*, 1975).

*P. subcapitata* é uma alga unicelular, com um único cloroplasto longo e cor verde brilhante devido a presença de clorofila *a* e *b*. É encontrada em agrupamentos de 4 a 16 indivíduos e mais raramente sozinhas, reproduz-se assexuadamente através de auto-esporos, reproduzindo pequenas réplicas da célula mãe (BICUDO, MENEZES, 2006).

Segundo Reynolds *et al.* (1975), as condições ambientais necessárias para o crescimento dessa espécie incluem, águas com baixa salinidade e com boa quantidade de oxigênio e luz, não necessita de ambiente nutricionalmente rico, mas a presença de fósforo e nitrogênio é importante, sendo que a presença de minerais como o silício, ferro e cobre pode limitar o crescimento dessas e a temperatura ótima de 24°C.

Características como a capacidade de se dividir de maneira uniforme e baixa aderência às superfícies, caracterizam a *P. subcapitata* como bons indicadores biológicos para ensaios de toxicidade (PEREIRA, CEREJEIRA, 2007).

Para o cultivo em laboratório da *P. subcapitata* é recomendável seguir as condições de teste de toxicidade descritas na **tabela 6**.

**Tabela 6:** Condições de teste de toxicidade com *P. subcapitata* (FONTE: adaptado de ABNT, 2005 apud Aragão e Araújo, 2006)

<b>CONDIÇÕES-TESTE PARA <i>Pseudokirchneriella subcapitata</i></b>	
<b>Sistema de teste</b>	Estático
<b>Duração</b>	96 horas
<b>Temperatura</b>	25 +/- 2
<b>Qualidade de luz</b>	Luz fria
<b>Intensidade luminosa</b>	>4500 lux
<b>Fotoperíodo</b>	Luz contínua
<b>Tamanho do frasco-teste</b>	<500 mL
<b>Volume da solução-teste</b>	>100 mL
<b>Renovação da solução-teste</b>	Não
<b>Idade do organismo</b>	Em fase exponencial de crescimento
<b>Nº inicial de organismo/réplica</b>	10.000 células/mL
<b>Nº réplicas/concentração</b>	3
<b>Nº de soluções-teste</b>	5 ou 6 e controle
<b>Fator de diluição</b>	0,3 ou 0,5
<b>Agitação dos frascos-teste</b>	100 a 175 rpm
<b>Aeração da solução-teste</b>	Não
<b>Critério de avaliação de efeito</b>	Inibição da reprodução

### 3.2.3. Algas como bioindicadores de qualidade ambiental

Os bioindicadores são organismos extremamente sensíveis a algum tipo de poluição e se alteram consideravelmente na presença de elementos poluentes. Dessa forma, permitem a análise do grau de poluição de um determinado lugar, seja no meio aéreo, aquático ou terrestre, avaliando a condição de existência e as conseqüências diretas da poluição sobre os seres vivos ali existentes, pela taxa de incidência, pelo acúmulo de substâncias tóxicas, e a ocorrência de doenças desse organismo (ANTUNES, 1997).

A resposta biológica a agressões ao ambiente pode ser evidenciada em todos os níveis de organização, desde ecossistemas, comunidades e populações até organismos e compartimentos subcelulares ou reações bioquímicas intracelulares. Entretanto, para os primeiros as análises são mais difíceis de ser elucidadas devido a fatores como o grande número de variáveis envolvidas e o tempo maior para obtenção de respostas. Portanto, a forma de minimizar as dificuldades de prognóstico é utilizar testes ecotoxicológicos que forneçam respostas para

organismos (NASCIMENTO, PEREIRA, LEITE, 2006).

Para os testes de toxicidades com bioindicadores, a escolha, bem como a manutenção e cultivo do organismo é tão importante quanto os métodos de avaliação da poluição sobre esses (DOMINGUES, BERTOLETTI, 2006).

Segundo esses autores, para os bioensaios em ambiente aquático o organismo a ser utilizado nos testes deve ter relevante representatividade para o ambiente a ser analisado e devem pertencer a certos grupos taxonômicos representativos. Essa representatividade pode-se guiar, por exemplo, considerando-se o nível hierárquico da cadeia trófica que se deseja avaliar o impacto do poluente. Para o nível trófico dos produtores primários recomendam-se os grupos taxonômicos das algas, macrófitas e bactérias autótrofas.

Algumas espécies de algas são utilizadas na avaliação da qualidade dos sistemas aquáticos. Baseado nos gêneros de algas presentes, quanto menos diversificada a população, maior a poluição do sistema. Outro aspecto está relacionado à capacidade em retirar elementos químicos do meio aquoso, o que sugere a utilização de algumas espécies de algas na recuperação de sistemas aquáticos, em especial quanto à presença de íons metálicos e de alguns compostos orgânicos. Finalmente, mais recentemente tem sido avaliado o uso das algas como "reagentes químicos", em processos adsorptivos de pré-concentração avaliados pela química analítica (VIDOTTI, ROLLEMBERG, 2004).

Existem métodos de determinação da presença e intensidade de poluição orgânica, tóxica, salina, entre outros, em águas, baseados exclusivamente na presença de algas diatomáceas e algas verdes. Nessas determinações, são utilizados com mais frequência os dados referentes ao número de indivíduos encontrados na água, do que, propriamente, as espécies, uma vez que estas se apresentam altamente diversificadas em águas isentas de dejetos (BRANCO, 2002).

### **3.3. Agricultura convencional**

O uso de agentes químicos na agricultura é um dos princípios consolidados com a Segunda Revolução Agrícola e a Revolução Verde. Os modos de produção calcados nesses princípios constituem a chamada "agricultura convencional" ou "agricultura clássica", a qual é praticada em larga escala no mundo ocidental (EHLERS, 1996).



Segundo esse autor, para se entender os processos atuais da “agricultura convencional” é preciso pensá-la como sendo o resultado das transformações, na forma de cultivar a terra iniciadas pelo ser humano há milhares de anos. No fim do século XIX e início do século XX, as descobertas científicas e tecnológicas (como os fertilizantes químicos, o melhoramento genético das plantas e os motores a combustão interna), resultaram na Segunda Revolução Agrícola, marcada por um padrão de produção químico, motomecânico e genético, padrão que foi intensificado no fim da Segunda Guerra Mundial e amplamente difundido, sobretudo para os países em desenvolvimento, culminando na década de 70 na dita Revolução Verde.

A agricultura moderna convencional implica em problemas graves como a perda de biodiversidade, que atinge formas extremas de monocultura. A biodiversidade desempenha diversos serviços ecológicos, nos sistemas agrícolas sendo, portanto fundamental para a sua manutenção, restauração e seu incremento na paisagem agrícola. Como exemplo desses serviços, pode-se citar a manutenção do micro-clima local, a ciclagem de nutrientes e a reversão de contaminação por substâncias químicas nocivas. Quando esses serviços são perdidos por simplificação da biodiversidade, os custos ecológicos e econômicos são bastante significativos (ALTIERE, 2002).

São muitas as maneiras, segundo Gliessmam (2001), pelas quais a agricultura convencional afeta a produtividade ecológica futura, destacando-se:

- degradação do solo: pode envolver salinização, alagamento, compactação, contaminação por pesticidas químicos, perda de fertilidade e erosão;
- desperdício e uso exagerado de água: a agricultura é responsável por quase dois terços do uso global de água;
- poluição aquática: por agrotóxicos (inclusive herbicidas), fertilizantes (eutrofização) e sedimentos (assoreamento);
- a perda de controle local, pelas comunidades rurais, sobre a produção agrícola, provocada pela incapacidade de reação da agricultura familiar frente a agricultura industrial;
- a dependência de insumos externos;
- perda de diversidade genética: a base genética da maioria das plantas cultivadas torna-se cada vez mais uniforme.

O argumento convencional em favor dos métodos da agricultura moderna é que eles constituem a única maneira eficiente de resolver o problema da fome



mundial e da alimentação das massas que ainda estão por vir, mas isto é absolutamente correto, uma vez que o maior problema com relação ao abastecimento de alimento está mais na má distribuição deste do que na sua produção em si (LUTZENBERGER, 1998).

Segundo esse autor, o problema fundamental com a agricultura moderna é que ela não é sustentável. Mesmo se fosse tão produtiva quanto é afirmado, o desastre seria apenas postergado e seria então muito pior. Para alimentar a população mundial em longo prazo, torna-se necessário o desenvolvimento de métodos de produção agrícola nos moldes da sustentabilidade.

A agricultura moderna obtém sucesso exaurindo o solo e substituindo a fertilidade perdida por nutrientes sintetizados industrialmente. Fertilizantes comerciais, tais como fosfatos, provém de minas que estarão brevemente esgotadas, têm-se também que a extração e síntese desses compostos consomem enormes quantidades de energia, principalmente energia de combustíveis fósseis e hidroelétricas. Todos os outros insumos, tais como a síntese dos agrotóxicos e a cada vez mais pesada maquinaria, são também grandes consumidores de energia.

As grandes áreas de monocultura no Brasil foram um implemento do colonialismo. Os poderes coloniais não podiam extrair do campesinato tradicional com suas safras altamente diversificadas, para a subsistência e direcionadas para os mercados regionais e locais, as grandes quantidades de algodão, açúcar, café, chá, cacau e outros, que eram desejadas. Isto conduziu à marginalização dos produtores de subsistências e também esteve na raiz do tráfico de escravos da África para as Américas.

Entretanto, a grande transformação da agricultura brasileira aconteceu no processo de modernização, nos anos 60 e 70, caracterizado como excludente e parcial, por ter gerado um modelo dual de produção, situação refletida na atualidade do mundo rural brasileiro e com perspectivas de agravamento diante do processo de globalização (AGRA, SANTOS, 2000).

### **3.3.1. Agentes químicos utilizados na agricultura**

No âmbito da América Latina, o Brasil desponta como o maior consumidor de agrotóxicos, sendo o seu consumo estimado em 50% da quantidade comercializada para a região (GARCIA, 1997). Estima-se que cerca de 2,5 a 3 milhões de toneladas

de agrotóxicos são utilizados a cada ano na agricultura, sendo que, atualmente o Brasil ocupa o quarto lugar no “ranking” mundial dos consumidores de agrotóxicos (MOREIRA *et al*, 2002).

Os agrotóxicos são divididos em diferentes classes, dentre as quais pode-se citar herbicidas, fungicidas, acaricidas, algicidas, larvicidas e inseticidas, sendo que esses possuem as funções de elevar a produção, melhorar a qualidade dos produtos e a reduzir o trabalho e os gastos com energia (COUTINHO *et al.*, 2005).

Os pesticidas ou agrotóxicos, podem ser de origem orgânica ou organo-sintético. O modo de ação das substâncias orgânicas inseticidas ocorre da seguinte maneira: ao entrar em contato com a parte externa do animal, este penetra e atinge suas terminações nervosas, comprometendo a transmissão dos impulsos das sinapses causando paralisia quase instantânea, seguida de morte. Esses são chamados de inseticida de ação de contato. Por outro lado, por substância tóxica como, por exemplo, o ácido bórico que para matar baratas precisa ser ingerido por estas o mecanismo é outro (BRANCO, 1990).

Quanto aos compostos organo-sintéticos, esses se subdividem em clorados, cloro-fosforados, fosforados, carbamatos e fumigantes (FORNARI, 2002):

**- Clorados ou Organoclorados:**

Grupo químico dos agrotóxicos compostos por um hidrocarboneto clorado que possui um ou mais anéis aromáticos, ou mesmo cíclico saturado. Em relação aos outros organo-sintéticos, os clorados são menos tóxicos (em termos de toxicidade aguda), mas são também mais persistentes no corpo e no meio-ambiente, podendo causar efeitos patológicos no longo prazo.

O agrotóxico organoclorado atua no sistema nervoso, interferindo na troca iônica que caracteriza a transmissão do impulso nervoso nas sinapses. Um exemplo deste grupo é o DDT (Dicloro-Difenil-Tricloroetano).

**- Cloro-fosforados:**

Grupo químico dos venenos compostos por um éster de ácido fosfórico (ou tionofosfórico), ditiofosfórico e fosfônico (ou tionofosfônico), que em um dos radicais esterificados possui um ou mais átomos de cloro. Possuem toxicidade aguda semelhante à dos fosforados em geral, sendo, como éster, degradados rapidamente e não se acumulando nos tecidos gordurosos. Atua sobre a colinesterase (enzima de fundamental atuação no sistema nervoso) nas sinapses nervosas.

**- Fosforados ou Organofosforados:**

Grupo químico dos venenos compostos por em éster de ácido fosfórico (ou tionofosfórico), tiolofosfórico, ditiofosfórico, fosfônico, tionofosfônico (ou ditiofosfônico). Atua inibindo a colinesterase nas sinapses nervosas. O problema dos organofosforados é que esta enzima responsável pelos impulsos nervosos no cérebro está presente em todos os animais, incluindo o ser humano. Ou seja, em relação aos agrotóxicos clorados e carbamatos, os organofosforados são mais tóxicos para diversas espécies de seres vivos. E, embora sejam degradados mais rapidamente no meio ambiente, possuem a desvantagem de serem mais solúveis, ou seja, uma vez aplicados, mais facilmente são arrastados pelas águas da chuva para os rios, podendo atingir peixes e outros organismos aquáticos. Exemplos de alguns produtos deste grupo - Clorpirifós, Coumafós, Diazinon, Diclorvos (DDVP), Fenitroton, Fenthion, Supona (Clorfenvinfos) e Triclorfon (Metrifonato).

**- Carbamatos:**

Grupo químico dos venenos compostos por ésteres de ácido metilcarbônico ou dimetilcarbônico. Em relação aos pesticidas organoclorados e organofosforados, os carbamatos são considerados de toxicidade aguda média, sendo degradados rapidamente e não se acumulando nos tecidos gordurosos. Os carbamatos atuam inibindo a colinesterase em sinapses nervosas, e muitos destes produtos já foram proibidos em vários países em virtude de seu efeito altamente cancerígeno. Alguns exemplos - Carbaril, Propoxur, Aldicarb e Carbofuran.

**- Fumigantes:**

Substância química ou mistura de substâncias apresentando propriedade de volatilização e capazes de exterminar insetos ou roedores, devendo ser utilizada em ambientes que possam ser fechados, de maneira a reter o produto resultante da fumigação.

Quanto ao grau de toxicidade desses produtos, ele é subdividido em 04 classes toxicológicas (PLANETA ORGÂNICO, 2005):

**Classe I (Rótulo Vermelho):**

Neste grupo estão às substâncias ou compostos químicos são considerados "altamente tóxicos" para o ser humano. Exemplo: grupo dos clorados (DDT e BHC);

**Classe II (Rótulo Amarelo):**

Este grupo é considerado "medianamente tóxico" para o ser humano. Exemplo: grupo dos carbamatos;

**Classe III (Rótulo Azul):**

Os produtos desta classe são classificados em "pouco tóxico" para o ser humano. Exemplo: grupo dos organofosforados;

#### **Classe IV (Rótulo Verde):**

Esta classe é considerada "praticamente não-tóxica" para o ser humano. Neste grupo estão os piretróides.

Os insumos agrícolas, de modo geral, atingem o objetivo produção de alimentos em larga escala, entretanto, o uso indiscriminado e pouco criterioso de agrotóxicos trouxe e continua trazendo problemas muitos sérios para o ambiente e para a saúde humana (COUTINHO *et al.*, 2005).

Os dados estatísticos da Associação Nacional de Defensivos Agrícolas (ANDEF) mostram que o uso de pesticidas dobrou de volume na década de 90, sendo que os herbicidas representam cerca de 85% desse aumento (SILVA,1999).

#### **3.3.2. Herbicidas**

Os herbicidas como as demais substâncias orgânicas, de modo geral, são decompostas devido à ação microbiana que, por meio de uma cisão, consegue transformá-las em moléculas com uma cadeia, normalmente, composta por três átomos (ADAM; HAGLER; HAGLER, 1991). Entretanto, segundo Lorenzo *et al.* (2009), os herbicidas são um dos compostos mais resistentes ao metabolismo microbiano.

Além da capacidade biodegradativa desses agentes, outros pontos são relevantes na análise dos impactos ao ambiente, como a mobilidade desse agente no solo.

De acordo com Cruciani *et al.* (1996), a mobilidade no solo é especialmente importante no caso dos herbicidas, posto que estes são aplicados diretamente ao mesmo. A mobilidade de um agente químico no solo é dependente de uma série de fatores ligados às características do solo, ao ambiente e a características do próprio produto químico aplicado. Com relação aos herbicidas, a dose aplicada, a solubilidade em água e as características químicas do produto que condicionam a adsorvidade da molécula às partículas coloidais do solo determinam a maior ou menor mobilidade do produto no solo.

Ainda de acordo com esses autores, o ambiente condiciona a movimentação do herbicida no solo mediante a temperatura e, principalmente, da quantidade de

chuva após a aplicação do herbicida. No solo é importante destacar a textura, a drenagem e o teor de matéria orgânica que define a capacidade adsorviva do mesmo, assim, tem – se que quanto maior a capacidade de adsorção de um solo, menor é sua mobilidade.

Sendo assim, os sistemas de drenagem subterrânea, a mobilidade dos agentes no solo, o transporte, o arraste superficial e infiltração desses, levam a consequente contaminação de águas subterrâneas e das drenagens.

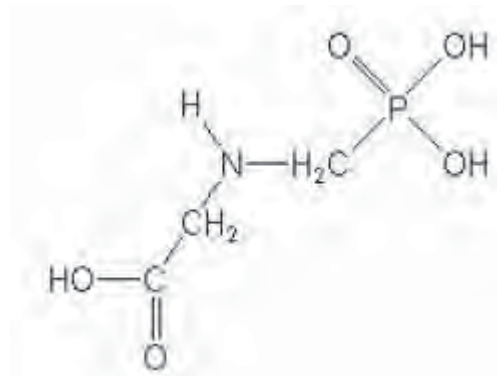
Com relação as plantas aquáticas flutuantes consideradas daninhas, como aguapé (*Eichhornia crassipes*), alface-d'água (*Pistia stratiotes*) e salvinia (*Salvinia auriculata*), alguns herbicidas estão sendo desenvolvidos para o controle dessas plantas, entretanto, esses produtos devem ser amplamente estudados, uma vez que se reporta a um ecossistema diferenciado (CARVALHO *et al.*, 2005).

### 3.3.3. Glifosato

Atualmente, o herbicida *glifosato* (N-(fosfometil)glicina), considerado como não-seletivo, sistêmico, pós-emergente, representa 60% de consumo no mercado mundial de herbicidas dessa classe de produto, ou seja, aqueles que matam todo tipo de planta com a qual entrem em contato (AMARANTE Jr. *et al.* 2002). De acordo com esses autores, o *glifosato* é o herbicida, com essas características, mais consumido no Europa e amplamente utilizado nas lavouras de soja do Brasil, sendo fabricado e ofertado sob várias marcas, das quais o mais comercializado é o Roundup® da Monsanto.

O representante do grupo dos aminoácidos fosforados mais importante é o *glifosato*, e este foi sintetizado a partir da substituição de um hidrogênio amínico do aminoácido glicina pelo radical metilfosfônico (COUTINHO *et al.*, 2005). O *glifosato* é usado para alterar diferentes processos bioquímicos vitais em plantas, como a biossíntese de aminoácidos aromáticos, proteínas e ácidos nucleicos (GLASS, 1984).

De acordo com Camargo (1986) o herbicida *glifosato* apresenta-se como concentrado emulsionável com 480 gramas de ingrediente ativo por litro (g i.a./L), a solubilidade na água é de 10000 ppm a 25°C, está na classe toxicológica III (pouco tóxico) e possui a seguinte fórmula estrutural representada pela **figura 11**:



**Figura 11:** Fórmula estrutural do *glifosato*.

Nas condições ambientes, tanto o *glifosato*, quanto seus sais são sólidos cristalinos muito solúveis em água e quase insolúveis em solventes orgânicos, outra característica é a elevada polaridade de suas moléculas e grande tendência de formar espécies iônicas (CAMARGO, 1986).

De acordo com esse autor, o *glifosato* funde a 200 °C, possui densidade aparente de 0,5 g/cm<sup>3</sup> e apresenta razoável estabilidade em presença de luz, inclusive em temperaturas superiores a 60 °C.

O *glifosato* tende a ser inativo em contato com solo, desde que seja por este adsorvido. O composto livre no solo é degradado rapidamente a dióxido de carbono, pela atividade microbiana, enquanto que o *glifosato* adsorvido é degradado mais lentamente, ou não degradado, persistindo inativo durante anos e tem sido relacionado à inibição da fixação anaeróbia de nitrogênio no solo.

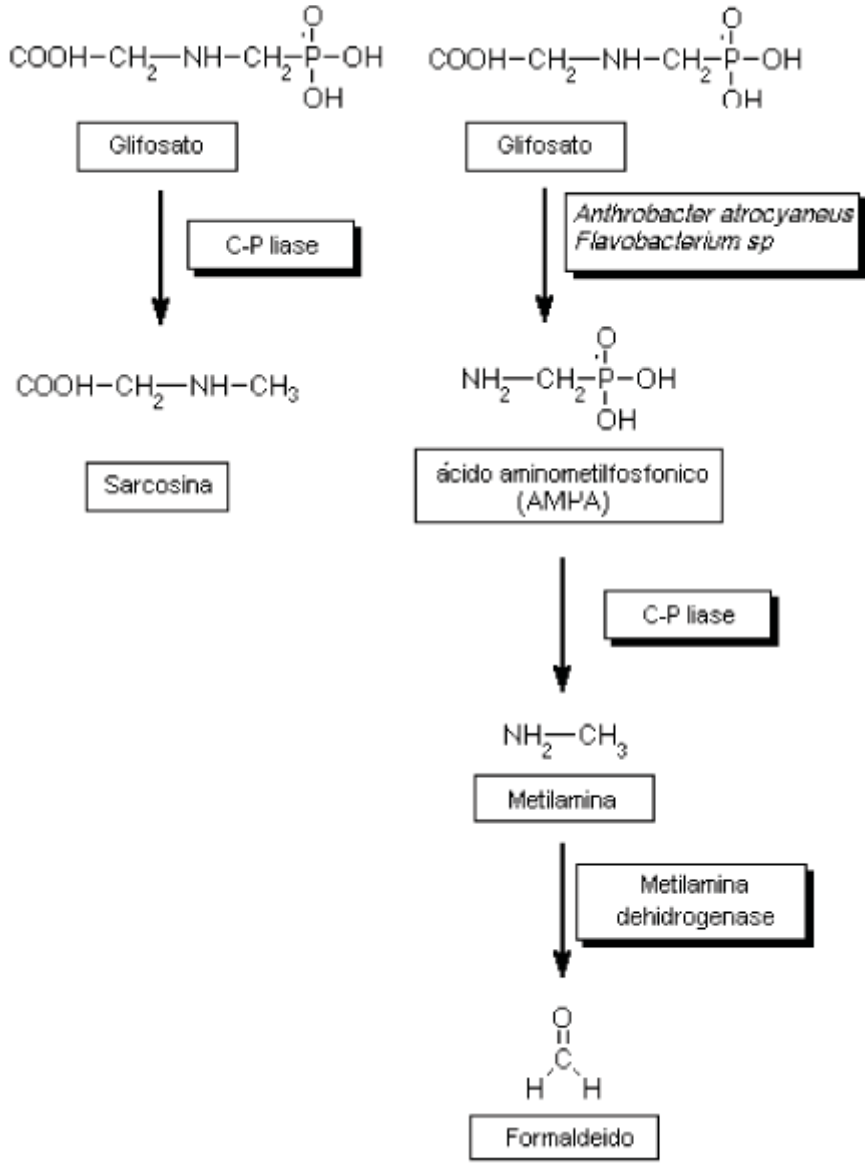
Devido à rápida adsorção no solo, o *glifosato* não é facilmente lixiviado, diminuindo a possibilidade de contaminação em águas subterrâneas. No caso do uso em água, o *glifosato* pode ser adsorvido pelos sedimentos, podendo ser carregado por estes. Esta partição é normalmente rápida e ocorre dentro de 14 dias, ocasionando um processo natural de degradação bem mais lento, o qual pode seguir duas rotas: a transformação do *glifosato* em sarcosina por ação da bactéria *Agrobacterium radiobacter* ou da *Enterobacter aeroneges* ou na transformação do *glifosato* em ácido aminometilfosfônico (AMPA), pelas bactérias *Anthrobacter atrocyanus* e *Flavobacorium* sp (ARAÚJO, 2002; AMARANTE Jr. et al. 2002).

Segundo esses autores, a aplicação desse produto pode resultar na presença de resíduos, tanto de *glifosato* quanto de seu metabólito, o ácido

*aminometilfosfônico*, que são transferidos para os produtos da colheita e em animais que os utilizam como alimento, inclusive o homem.

No ambiente, as maiores concentrações de ambos os compostos deixam vestígios no solo, sendo que o tempo de meia-vida do glifosato no solo pode variar de dias até anos, dependendo do tipo de solo e dos microrganismos presentes (COUTINHO *et al.*, 2005). A ocorrência de *glifosato* em água subterrânea é possível de ser detectada, e a aplicação direta como herbicida em águas superficiais pode ser responsável pela presença de *glifosato* em água disponível para consumo humano (AMARANTE Jr. *et al.* 2002).

A **figura 12** ilustra a transformação estrutural química do *glifosato* em AMPA:



**Figura 12:** Transformação do *glifosato* em ácido aminometilfosfônico. (Fonte: Amarante Jr *et al.* , 2002).



No ambiente, as maiores concentrações de *glifosato* e de AMPA são encontradas no solo. A presença de *glifosato* em águas subterrâneas já foi citada no estado do Texas, EUA em 1989, mas a concentração medida não foi especificada (AMARANTE Jr. *et al.* 2002).

Entretanto, o uso isolado ou combinado do *glifosato* para controle de plantas aquáticas daninhas vem sendo empregado e mostra-se eficiente para tal, como representado no estudo de Carvalho *et al.* (2002). Alguns herbicidas são autorizados para controle de plantas aquáticas invasoras em lagoas e canais. No entanto, o próprio manuseio e uso de herbicidas em áreas aquáticas são especialmente criticadas, pois derramamentos acidentais e superdosagens podem matar ou diminuir a população de peixes ou ainda, causar outros danos ao ambiente (JIRAUNGKOORSKUL *et al.*, 2003). No Brasil não existe nenhum herbicida a base de *glifosato* que esteja registrado no Ministério da Agricultura para utilização no combate a plantas aquáticas invasoras, porém em vários países o uso do *glifosato* para esta finalidade é permitido.

As taxas de aplicação recomendadas para aplicação do glifosato não excedem 5,8kg de ingrediente ativo por hectare e são dependentes do tipo de uso. A exposição ambiental pode ocorrer por causa da deposição devido à deriva e lançamento acidental (WHO, 1994). Com a implementação dos transgênicos, resistentes a herbicidas, o glifosato tornou-se produto imprescindível para a agricultura. Na Argentina o consumo era de 1 milhão de litros no início dos anos 90 e saltou para 150 milhões de litros até 2005.

No Brasil, as estimativas são de que os organismos geneticamente modificados (OGMs) poderão ocupar de 50% a 60% das lavouras de soja, resultando num consumo 46% maior de glifosato, chegando a 190 milhões de litros por ano. O consumo de herbicidas nas lavouras de soja transgênica nos Estados Unidos também tem aumentado: em 1996 eram consumidos 154 gramas de herbicida por hectare nas lavouras transgênicas e em 2004 o consumo alcançou 265 gramas/ha (CUNHA, 2005). A dosagem recomendada de *glifosato* para aplicação em campo depende do tipo da plantação (ALMEIDA e RODRIGUES, 1985) e das espécies mais tolerantes presentes na área, podendo variar de 0,48 a 2,88 kg de i.a /ha-1 (MAIA, 2003).

Entre os contaminantes aquáticos decorrentes das atividades antropogênicas, os agrotóxicos são os mais perigosos, justamente pelo fato de terem sido



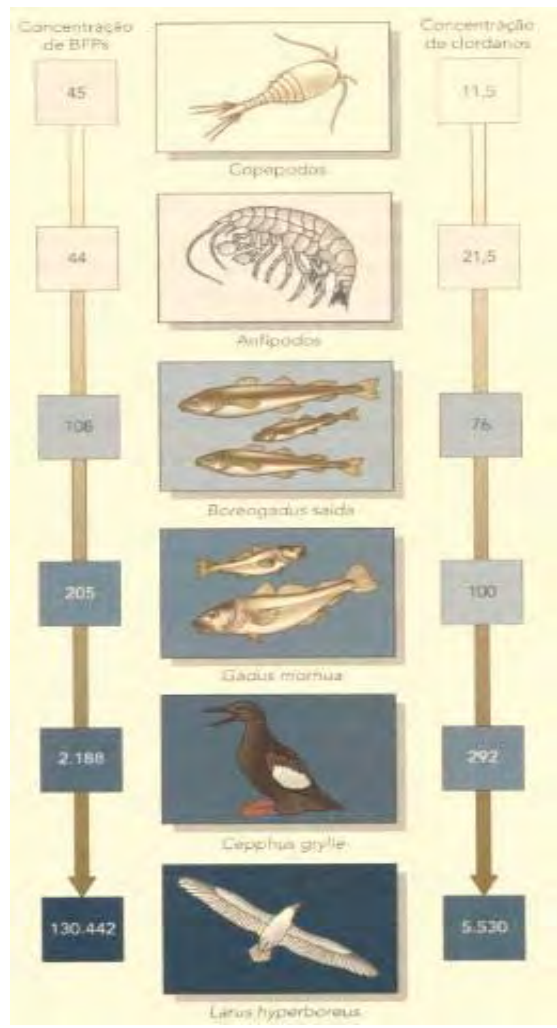
concebidos para eliminar alguma forma de vida e por isso atingirem também de modo letal espécies não-alvo. Muitas vezes, mesmo em concentrações aquáticas não letais, afetam a estrutura e a função das comunidades naturais. Na água, os agrotóxicos provocam impactos em múltiplos níveis, incluindo moléculas, tecidos, órgãos, indivíduos, populações e comunidades (GRISOLIA, 2005).

### 3.4. Impactos ambientais do uso de insumos agrícolas

Historicamente, foi considerado implícita ou explicitamente, que os produtos químicos lançados ao ambiente seriam assimilados pelos mesmos, de forma que ou o sistema natural os transformaria em substâncias de ocorrência natural, não prejudiciais, ou os produtos químicos seriam diluídos em tal extensão que não poderiam ser atribuídos aos mesmos quaisquer riscos para a vida (BAIRD, 2004).

Entretanto, segundo esse autor, nas décadas de 60 e 70 ficou comprovado que alguns desses produtos, como os organoclorados são persistentes no meio, ou seja, não são assimilados ou degradados pela ação de luz, água, ar ou microrganismos. Outra constatação é que alguns produtos produzem subprodutos após a degradação igualmente tóxicos, assim como antes da degradação os produtos químicos ou seus subprodutos oferecem riscos a afetam tanto o equilíbrio ecológico do meio quanto saúde humana.

No caso dos inseticidas organoclorados, os problemas causados por esses são particularmente graves devido a sua característica *biomagnificadora*. A biomagnificação acontece quando um pesticida está presente em um organismo que se torna presa de outro e o predador não consegue excretar o pesticida, assim esse último se acumula no corpo do predador e assim sucessivamente na cadeia trófica (TOWNSEND, BEGON, HARPER, 2010). A **figura 13** demonstra o efeito da biomagnificação na cadeia alimentar marinha no ambiente ártico.



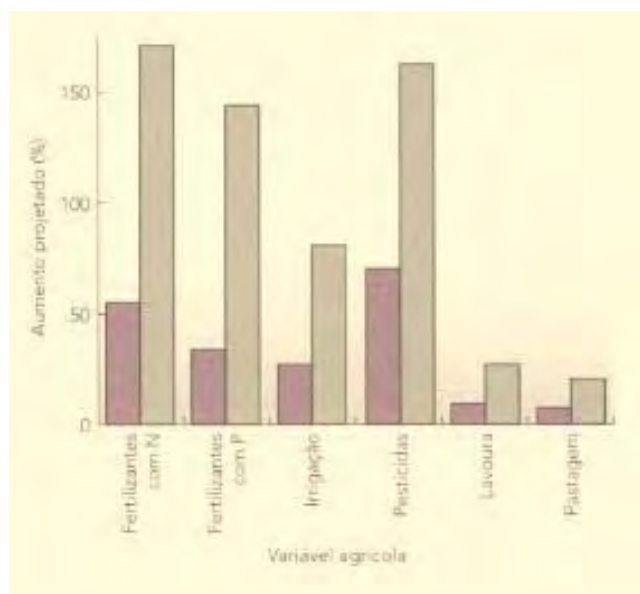
**Figura 13:** Esquema da bioacumulação de pesticidas na cadeia trófica (FONTE: Townsend, Begon, Harper, 2010).

Em geral, os pesticidas são aplicados para controlar pragas específicas em locais e tempos específicos, entretanto grande parte deles pode ser tóxica para muito mais espécies do que apenas aquela desejada. Quando esses pesticidas têm a propriedade de se deslocar para além das áreas-alvo e persistem no ambiente além do tempo desejado os problemas causados por esses agravam-se (TOWNSEND, BEGON, HARPER, 2010).

De acordo com esses autores, por meio do crescente desenvolvimento agrícola, ecossistemas em todo o mundo têm sofrido significativas ameaças. Tendo em vista os processos ecológicos, pode-se apontar os problemas atuais que os ameaçam oriundos da agricultura moderna: impactos associados a erosão dos solos, insustentabilidade de suprimentos hídricos, salinização e desertificação, excesso de nutrientes vegetais dirigidos para os cursos d'água e a poluição por

pesticidas químicos.

As projeções seguindo esse modelo sugerem que os problemas irão tornar-se mais graves nos próximos 50 anos, com alto risco previsto à biodiversidade, em especial porque os maiores aumentos populacionais são previstos para áreas tropicais ricas em espécies. A **figura 14** ilustra essas previsões.



**Figura 14:** Previsão da perda de biodiversidade pelo emprego de técnicas agrícolas vaiadas pela agricultura convencional (FONTE: Townsend, Begon, Harper, 2010).

Em geral, quanto maior a concentração de pesticidas e mais longo o tempo de exposição, maiores as chances dos impactos negativos atingirem níveis superiores de organização biológica, como comunidades e ecossistemas. Se um estresse dura tempo suficiente para levar à morte uma população de organismos, afetando as taxas de crescimento e de reprodução e impedindo o recrutamento de novas espécies, ela é então capaz de alterar a estrutura da comunidade. Os efeitos dos contaminantes em níveis de organização biológica mais baixos, por exemplo, respostas moleculares e bioquímicas ocorrem mais rapidamente, além do que a especificidade das respostas e nossa compreensão sobre os efeitos dos contaminantes são geralmente maiores nos níveis mais baixos de organização. Geralmente, os efeitos em tais níveis podem ser diretamente ligados à exposição aos agentes contaminantes, assim sendo, a presença de resíduos químicos e metabólitos são indicadores diretos da disponibilidade de contaminantes para os organismos (ARIAS *et al.*, 2006).

Os bioensaios de toxicidade para ambiente aquático podem indicar duas situações que refletem a inter-relação entre as espécies, uma delas manifesta um distúrbio que pode ser restrito a apenas um grupo taxonômico, sem consequência aos demais. Outra situação pode ser o crescimento excessivo de determinado grupo, em função da ausência de outro afetado pelo agente químico poluente causando uma desestruturação na comunidade do ambiente (DOMINGUES, BERTOLETTI, 2006).

### **3.5. Agricultura “sustentável” – uma alternativa ao modo de produção convencional**

Os projetos de capitalização do campo, afirmados com a Revolução Verde e reafirmados a partir da década de 80 com os cultivos transgênicos foram incapazes de respeitar o valor dos recursos naturais, culturais e humanos do meio rural, levando a uma sobreprodução e a um subconsumo de produtos alimentícios, com efeitos devastadores em termos de perdas de fertilidade dos solos, salinização e erosão das terras. Sendo possível caracterizar como produto desse processo, ainda segundo esse autor, a diferenciação social e a miséria dos pequenos produtores rurais, geradas pelas empresas agroindustriais intensivas em capital e em insumos híbridos e energéticos (GARCÍA, 1988).

Reconhecendo que a conversão do uso do solo para o desenvolvimento dessa agricultura comercial juntamente com a pecuária extensiva foi a principal causa do desmatamento, bem como da erosão da fertilidade de diferentes ecossistemas, surge a necessidade de reorientar as estratégias de recuperação e de uso sustentável do solo, baseada no manejo múltiplo e integrado dos recursos naturais (LEFF, 2002).

A década de 90 foi marcada pela Eco-92 (Conferência das Nações Unidas para o Meio Ambiente e Desenvolvimento) e pelos valores e conceitos lançados ou reafirmados por essa, como: cidadania planetária e responsabilidade global, desenvolvimento sustentável. A sociedade civil também se mobilizou articulando o chamado “Fórum das ONGs”, uma coalizão de ONGs, movimentos sociais e ecológicos (CARVALHO, 2001).

Desde então uma questão de relevância crescente na agenda de debate público internacional é a idéia de “agricultura sustentável”, ou seja, o termo

“desenvolvimento sustentável” aplicado à agricultura (VEIGA,2003). O termo “desenvolvimento sustentável” pode ser definido ou descrito de várias formas, a usada com mais freqüência é a que o define como desenvolvimento que satisfaz as necessidades do presente sem comprometer a capacidade das gerações futuras de satisfazerem as suas necessidades (UNESCO,1999).

Originalmente o termo empregado foi “ecodesenvolvimento”, em 1972 na conferência das nações Unidas sobre o Meio Ambiente e o Homem, em Estocolmo. Desde então o termo passou a ser citado nas discussões ambientais e posteriormente foi substituído por “desenvolvimento sustentável” (RONCAGLIO,2006).

Em agricultura, esse termo tem sido amplamente utilizado, abarcando vários modelos de agricultura, como: “agricultura orgânica”, “agricultura biológica”, “agricultura alternativa”, “agricultura biodinâmica”, “agroecologia”, entre outros. Fora desse conceito de sustentabilidade está a agricultura convencional, percebida como insustentável (GUIVANT, 1998).

Os movimentos contrários a “agricultura convencional”, os quais se enquadram no padrão de sustentabilidade defendido pelo movimento ecológico, são chamados de “agricultura alternativa” e surgiram década de 20, podendo ser agrupados em quatro vertentes. Dessas, três são de origens européia e fortemente difundidas nos Estados Unidos: a “agricultura biodinâmica” de 1924, a “agricultura orgânica” cujos princípios foram estabelecidos entre 1925 e 1930 e a “agricultura biológica”. Na outra vertente, está a “agricultura natural”, surgida no Japão a partir de 1935 e que baseava-se nas idéias de Mokiti Okada (EHLERS, 1996).

Mokiti Okada foi um pensador japonês que viveu no início século XX e que realizou diferentes estudos em várias áreas do conhecimento humano, dedicando-se principalmente, ao estudo da religião, das artes e da agricultura. Neste último, formulou métodos que preservavam o meio ambiente e promoviam a saúde de produtores e consumidores (Fundação Mokiti Okada, 2007).

De acordo com Ehlers (1996), a “agricultura natural” é também, denominada de “agricultura ecológica”, “agricultura regenerativa”, “sunshine”, ou ainda, “agroecologia”, termo que inicialmente referia-se a uma disciplina científica dedicada ao estudo dos agroecossistemas, mas que a partir dos anos 80, passou a denominar uma prática agrícola propriamente dita.

A “agricultura alternativa” apesar de apresentar distintas vertentes, têm como

princípio básico comum, a exclusão dos agroquímicos e a valorização dos processos biológicos e vegetativos nos sistemas produtivos, o que na prática representa basicamente, a valorização da adubação orgânica, tanto de origem animal quanto vegetal, do plantio consorciado, da rotação de culturas e do controle biológico de pragas (ALTIERI,1989).

Segundo Leff (2002), a validação dos métodos da “agroecologia” não está restrito as regras da produção científica convencional, mas também mostra-se através da experiência dos saberes práticos, sendo que principalmente populações das regiões tropicais do planeta, a produção agrícola e florestal se alimentam do conhecimento milenar acumulado pelas comunidades indígenas e rurais anteriores a “verificação científica” pela etnobotânica e etnotécnica das ditas práticas culturais de manejo sustentável dos recursos.

Na década de 60, em países como os Estados Unidos emergia junto com o movimento ecológico uma preocupação com os impactos ambientais da “agricultura convencional”, demonstrado pela realização de alguns atos e conferências, como a primeira reunião do comitê de peritos em resíduos de pesticidas da Organização Mundial de Saúde, em 61 e a publicação do livro *Primavera Silenciosa* da escritora norte-americana Rachel Carson, em 62, o qual trazia um estudo denunciativo do quadro de degradação ambiental que se estabelecia, inclusive com o avanço do padrão “convencional” de agricultura e obteve grande repercussão na sociedade americana da época (EHLERS,1996).

Ainda de acordo com EHLERS (1996), esses movimentos ganharam visibilidade maior nas décadas de 70 e 80, com a mobilização da opinião pública e uma série de conquistas como a proibição do uso do inseticida DDT dentre outros em 1972, o que só foi possível graças às manifestações da sociedade americana.

Para ALTIERI (1989), esse movimento ambientalista, principalmente nos Estados Unidos foi fundamental para o fortalecimento da “agroecologia”. Nos anos 80, essa foi se firmando no interior do sistema de pesquisa norte-americano e se tornou bastante difundida no chamado “movimento agroecológico”, que se espalhou por vários outros países, inclusive o Brasil, principalmente por se tratar de uma vertente da “agricultura alternativa” que tem como princípio a interação entre agronomia e ecologia, abrangendo também as ciências sociais.

Portanto, o movimento ambiental está abrindo novas vias para reverter a degradação ecológica, bem como, para romper a alienação imposta por um modelo

homogeneizante e desigual, para seguir a evolução da natureza em direção a diversidade biológica e heterogeneidade cultural, sendo a agroecologia uma ferramenta nesse processo de melhoria das formas de convivência social e de relação com a natureza (LEFF, 2002).

Essencialmente, a “agroecologia” baseia-se na idéia de que os campos de culturas são ecossistemas nos quais os processos ecológicos encontrados em outras formações vegetais, como: ciclo de nutrientes, relação presa/predador, competição, sucessão ecológica, também ocorrem. Assim, através da compreensão destes processos e relações, os agroecossistemas podem ser manipulados de forma a produzir melhor, com menos impacto negativos ao ambiente, maior sustentabilidade e menor consumo de insumos externos, ou seja, enfocando não somente a produção, mas principalmente a sustentabilidade ecológica dos sistemas de produção (ALTIERI, 1989).

Além desses princípios agronômicos, fisiológicos e ecológicos, a “agroecologia” também considera os fatores históricos, tecnológicos e socioeconômicos que caracterizam o ambiente e são considerados como determinantes para a produtividade das lavouras (KLAGES,1941 *apud* EHLERS,1996).

A pesquisa e prática agroecologica, assim como as outras vertentes da “agricultura alternativa” ou “agricultura sustentável” tendem a ser paralelas a um declínio no modo de produção convencional, o que significa o início de uma longa fase de transição agroambiental, mas que torna viável pensar na “agricultura sustentável” como nova fase do modo de cultivar a terra exercido pelo homem. Entretanto, esse é um processo repleto de incógnitas a serem esclarecidas, sendo necessária uma investigação aprofundada de todos os processos envolvidos no desenvolvimento do que atualmente é considerado o novo paradigma da produção agrícola: a sustentabilidade (VEIGA,2001).

Segundo Leff (2002) esse movimento firmado em torno da busca por práticas agrícolas sustentáveis, o saber agroecologico oriundo de projetos de pesquisa, desenvolvimento e extensão mostra-se culturalmente compatível com a racionalidade produtiva camponesa e sua ação transformadora implica a inserção de suas técnicas e práticas em uma nova teoria da produção e um novo desenvolvimento rural.

Ainda segundo esse autor, a construção desse novo paradigma produtivo,



tendo por base o saber agroecológico, demonstra a possibilidade de produzir “com a natureza”, de gerar um modo de produção fundado no potencial ecológico – tecnológico da natureza e da cultura, assim como de uma política de reapropriação cultural da natureza.

## 4. MATERIAL E MÉTODO

Os experimentos foram realizados no Departamento de Bioquímica e Microbiologia, Laboratório III, do Instituto de Biociências da Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, UNESP - campus de Rio Claro, SP.

### 4.1. Materiais

#### 4.1.1. Microrganismos

Foram utilizadas para os testes a microalga *Pseudokirchneriella subcapitata* e microalgas do lago artificial do Instituto de Biociências da UNESP de Rio Claro.

#### 4.1.2. Microalgas do lago artificial

As coletas de microalgas no lago artificial do Instituto de Biociências da UNESP Rio Claro foram realizadas no período vespertino, nos meses de abril e maio. A cada coleta 2 litros de água foram retirados para decantação das algas. A **foto 1** ilustra o lago artificial.



**Foto 1:** Lago artificial do Instituto de Biociências da UNESP-RC.

#### 4.1.3. Meio de cultivo

O meio de cultivo da *P. subcaptata* foi preparado segundo ABNT (2005).

- 3.3.  $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$  (40g);
- 3.4.  $\text{KNO}_3$  (100g);
- 3.5.  $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$  (30g);
- 3.6.  $\text{K}_2\text{HPO}_4$  (40g);
- 3.7.  $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$  –  $(\text{NH}_4)_6\text{Mo}_7\text{O}_{24} \cdot 4\text{H}_2\text{O}$  –  $\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$  –  $\text{CoCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$  –  $\text{Mn}(\text{NO}_3)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$  –  $\text{C}_6\text{H}_8\text{O}_2\text{H}_2\text{O}$  –  $\text{H}_3\text{BO}_3$  (0,6g);
- 3.8.  $\text{C}_6\text{H}_5\text{FeO}_7 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$  –  $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$  –  $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$  (16,25g, 62,50g e 62,50g);
- 3.9.  $\text{NaHCO}_3$  (150g);
- 3.10. Água destilada (100 mL).
- 3.11. pH = 7,4.

#### 4.1.4. Herbicida

O herbicida testado no presente estudo foi o *glifosato* (N-(fosfometil)glicina), considerado como não-seletivo, de ação sistêmica e uso pós-emergente, da marca Pikapau®.

#### 4.1.5. Equipamentos e vidrarias

Os equipamentos utilizados foram:

- Phmetro – marca Digimed;
- Autoclave – marca soc. Fabbe Ltda.;
- Bico de Bunsen;
- Shaker – marca Catel, modelo CFW08;
- Depurador de células ultra-sônico – marca Unique;
- Espectrofotômetro – marca BEL photonis®;
- Câmara de Neubauer;
- Microscópio óptico;
- Estufas para esterilização e secagem – marca Marte e marca Fanem,

modelo 315SE;

- Centrifuga da marca SORVALL® modelo RC-5B+;
- Balança analítica – marca Engelux, modelo UPPERline TME1110;
- Cadinhos de porcelana;
- Oxímetro – marca Digimed, modelo DM – 4P;
- Agitador;
- Luxímetro – marca Digital lux meter, modelo Icel LD 510;
- Câmara fria.

A vidraria empregada foi a usual de laboratório de microbiologia.

#### 4.2. Métodos:

##### 4.2.1. Métodos de preservação das microalgas:

As microalgas foram preservadas em meio líquido e sob refrigeração constante em Câmara Fria.

##### 4.2.2. Métodos de cultivo das microalgas:

Depois de preparados os meios de cultivo foram autoclavados e posteriormente as algas foram inoculadas a partir de uma suspensão de células da cultura estoque.

A **foto 2** ilustra os *Erlenmeryes* contendo os meios de cultivos preparados e o inoculo com o concentrado de algas.



**Foto 2:** Meios de cultivo e concentrado de *Pseudokirchneriella subcapitata* utilizado para inoculação.

Em cada *Erlenmeyer* contendo 150mL de meio de cultivo foram inoculadas 5mL do inóculo de algas. Para cada repetição do teste o número de células do inóculo foi quantificada utilizando-se a Câmara de Neubauer e microscópio óptico com aumento de 40x.

Os frascos foram mantidos em shaker com rotação de 150rpm a 25 +/- 2°C e luz constante de 3200 lux, como mostra a **foto 3**:



**Foto 3:** Shaker utilizado para manter a agitação constante, após inoculação das algas nos meios.

#### **4.2.3. Método do cultivo da *P. subcapitata* em diferentes concentrações de *glifosato***

Para identificar o efeito do *glifosato* no desenvolvimento da *P. subcapitata*, as concentrações zero (controle), 0,118, 0,236, 0,472, 0,944, 1,888 e 3,776mg (todas em trélicas), do produto foram inoculadas nos frascos contendo meio e 5mL de suspensão de algas.

#### **4.2.4. Preparo das soluções:**

O preparo das soluções de *glifosato*, considera as informações que constam na embalagem do produto, sobre a quantidade de ingrediente ativo, que é de 480 g/L, ou seja tem-se que o título do produto *glifosato* é de 48%, e a diluição para uso que é 10mL para 1L de água.

Assim, para cada 250 mL de água, fervida para remoção física do oxigênio, adicionou-se 0,236 mL do produto, obtendo a quantidade de 0,118 mg de ingrediente

ativo.

Portanto, para cada repetição do ensaio, além do controle, foram inoculados junto com a quantidade conhecida de alga os valores em tréplica, de 0,5; 1,0; 2,0; 4,0; 8,0 e 16,0 mL de solução de *glifosato*, o que corresponde, respectivamente, às concentrações anteriormente citadas. O protocolo seguido está contido no **Anexo 1**.

#### **4.2.5. Cultivo das microalgas do lago artificial**

Após coletadas, a suspensão de algas foi decantada e submetida ao mesmo procedimento de preservação e cultivo descrito para a *P. subcapitata*.

Os frascos contendo 150 mL de meio e 5mL de suspensão de alga foram mantidos em shaker com rotação de 150rpm a 25 +/- 2°C e luz constante de 3200 lux. As quantidades de *glifosato* também foram as mesmas do item 4.2.3.

#### **4.2.6. Avaliação da ação do *glifosato***

As culturas de algas foram avaliadas quanto:

##### **4.2.6.1. Testes de absorvância:**

Após a inoculação das algas e nas diferentes concentrações de *glifosato*, retirou-se 5mL de cada *Erlenmeyer* de cada tréplica de igual concentração de *glifosato*, que foram misturadas formando uma amostra composta. Nestas amostras compostas efetuou-se a leitura de absorvância no tempo inicial do teste.

Na sequência, os *Elermeyers* foram colocados sob iluminação constante a temperatura de 20 +/- 2°C e agitação em shaker com 150rpm. Foram retiradas amostras de 5mL de cada frasco nos períodos de 48; 72 e 96 horas da primeira amostragem. As amostras das tréplicas foram reunidas para dispersão das células mediante o uso de equipamento de ultra-som por 30 segundos e 80W de potência.

Os testes de absorvância foram realizados utilizando o aparelho espectrofotômetro, nos quais para o “branco” foram utilizadas amostras do próprio meio de cultivo para algas.

#### 4.2.6.2. Quantificação celular

Passadas 96 horas da inoculação das algas, amostras contendo 5mL de cada cultivo em trélicas de mesma concentração de *glifosato*, foram sonicadas por 30 segundos no equipamento de ultra-som para separação das células.

Em seguida, as células de cada uma dessas amostras foram contadas no microscópio óptico (aumento de 40x), com auxílio da Câmara de Neubauer para contagem das células. O processo de contagem foi repetido por duas vezes em cada teste para o cálculo da média dos resultados.

Para as algas do lago artificial a diversidade de células das microalgas foi identificada mediante documentação fotográfica no início e ao término dos testes.

#### 4.2.6.3. Quantificação de biomassa

A quantidade final de biomassa de cada tréplica foi efetuada mediante diferença gravimétrica da pesagem do material seco. Para isso as trélicas foram decantadas utilizando-se a centrífuga SORVALL® modelo RC-5B+, a 20°C, a 5 rev/min. X 100 rpm por 20min. Posteriormente, as células foram re-suspensas, em água destilada, para eliminação dos resíduos de sais do meio e o processo de centrifugação repetido.

Após concentração do material, este foi transferido em estufa de secagem a 105 +/- 5°C em cadinhos de porcelana, previamente taradas em balança analítica.

#### 4.2.6.4. Quantificação do oxigênio dissolvido em ensaios com *P. subcapitata*

Para realização dos testes de produção de oxigênio, as células foram imobilizadas a partir do método de gotejamento de mistura constituída por solução de alginato e suspensão celular, em solução de cloreto de cálcio (ALMEIDA, 1992). A **foto 4** demonstra a estrutura utilizada na montagem do experimento.





**Foto 4:** Estrutura para gotejamento da mistura de suspensão de algas e alginato.

A suspensão celular foi preparada a partir do cultivo da *P. subcapitata*, seguindo os padrões descritos anteriormente, e concentração das células após decantação utilizando-se a centrífuga SORVALL® modelo RC-5B+, a 20°C, a 5 rev/min. X 100 rpm por 20min.

Após montados os testes, a quantificação da taxa de oxigênio dissolvido presente em todas as amostras, foi realizada com o uso do medidor de oxigênio *oxímetro*, a cada 2h por 10h.

## 5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 5.1. Identificação das algas

A microalga verde *Pseudokirchneriella subcapitata* (Chlorophyceae) está representada pela **figura 15**, que demonstra cor, tamanho e aspecto da *P. subcapitata* vista do microscópio óptico, aumento de 40x.



**Figura 15:** *Pseudokirchneriella subcapitata* (FONTE: National BioResource Project, 2009).

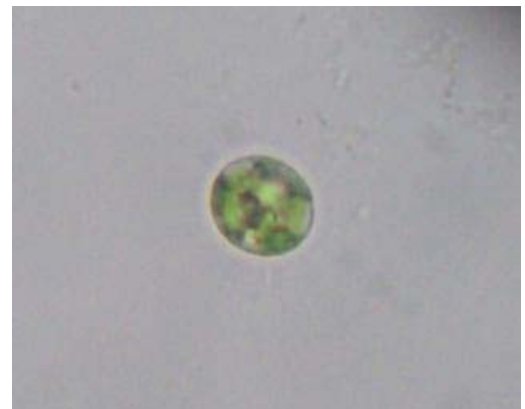
Nas amostras de água coletadas do lago artificial do Instituto de Biociências da UNESP de Rio Claro, SP foram documentadas a presença de três gêneros de microalgas antes do início dos tratamentos. Esses estão representados nas **fotos 5** (*Pseudokirchneriella* sp.), **6** (*Chloroficea* sp.) e **7** (*Chorella* sp.).



**Foto 5:** *Pseudokirchneriella* sp.



**Foto 6:** *Chloroficea* sp.

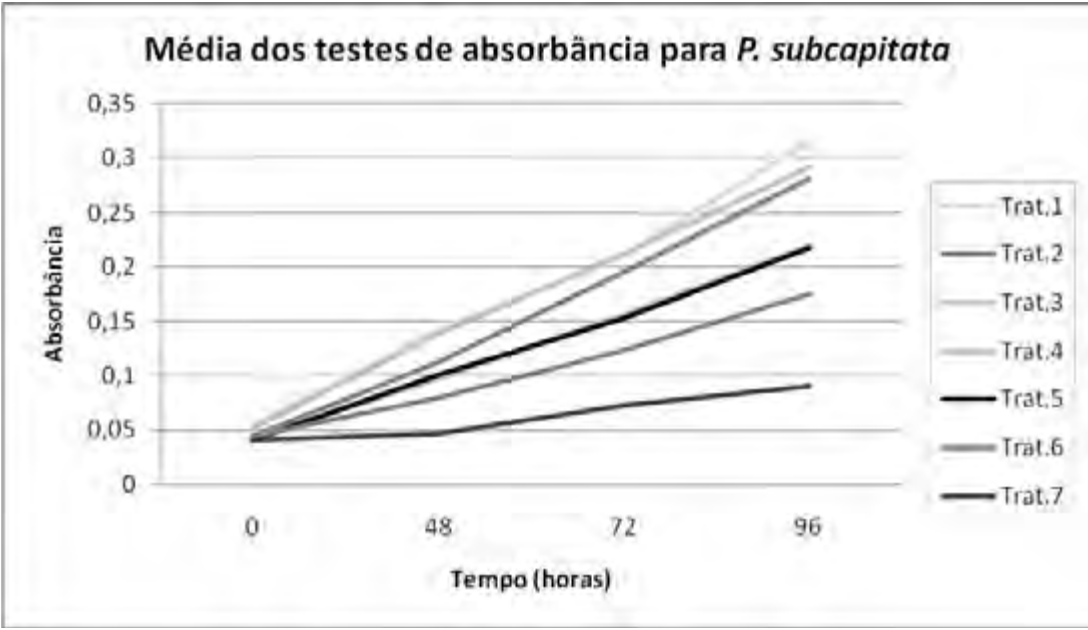


**Foto 7:** *Chorella* sp.

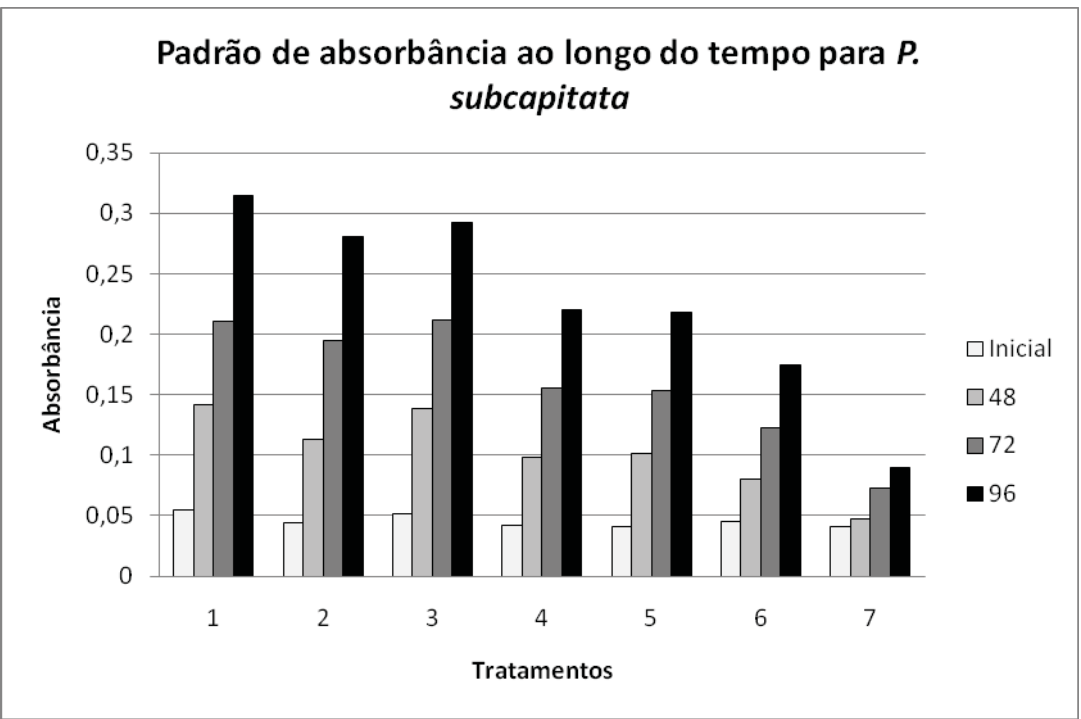
## 5.2. Teste de absorvância:

Para os testes de absorvância a análise de variância com medidas repetidas demonstrou que há diferença significativa ao longo do tempo, tanto para os ensaios com *Pseudokirchneriella subcapitata* (**gráfico 1**), quanto para os ensaios com microalgas do lago artificial (**gráfico 3**).

A mesma análise demonstra que para os ensaios com *P. subcapitata* não há diferença significativa entre as interações (**gráfico 2**). Para os ensaios com as microalgas do lago artificial há diferença significativa entre as interações (**gráfico 4**).



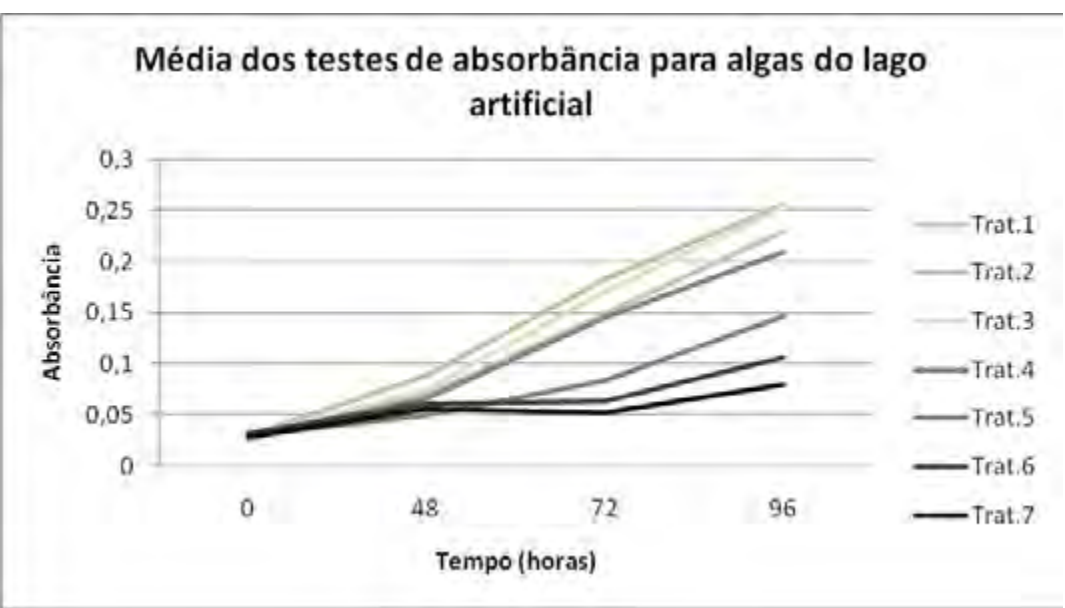
**Gráfico 1:** Resultados médios do teste de absorbância ao longo do tempo para os ensaios com *Pseudokirchneriella subcapitata*.



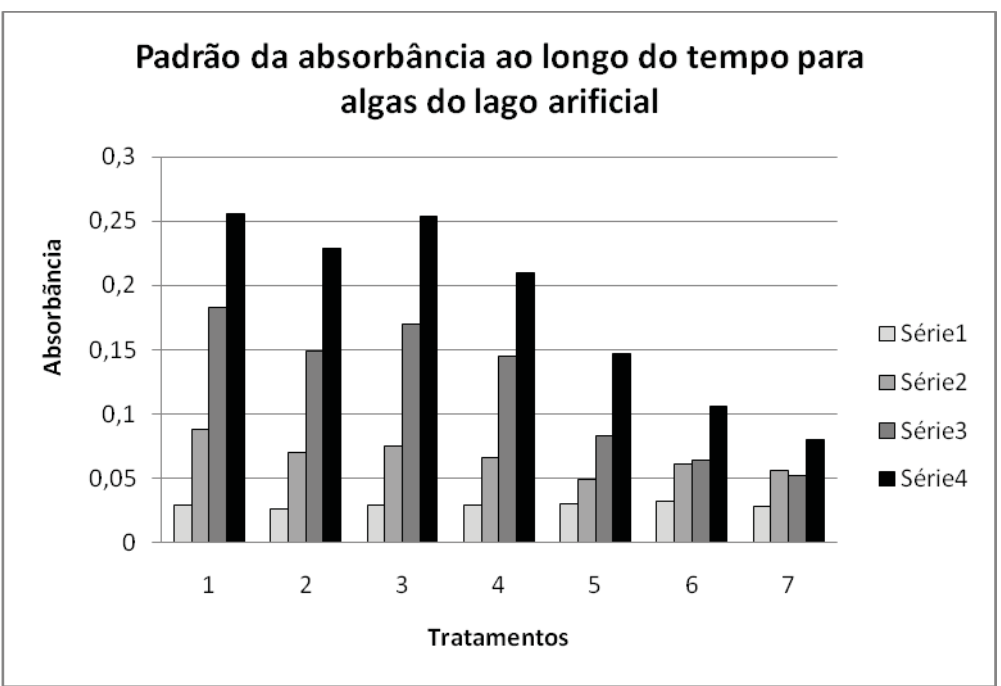
**Gráfico 2:** Padrão de absorbância médio em cada tratamento ao longo do tempo para ensaios com *Pseudokirchneriella subcapitata*.

Nota-se que há aumento positivo da absorbância ao longo do tempo para todos os tratamentos seguindo o mesmo padrão de comportamento. Esse resultado é esperado considerando que se trata da mesma espécie teste e assim sendo, a variação ao longo do tempo representa a interferência do *glifosato* no

desenvolvimento isolado dessa espécie.



**Gráfico 3:** Resultados médios do teste de absorvância ao longo do tempo para os ensaios com algas do lago artificial.

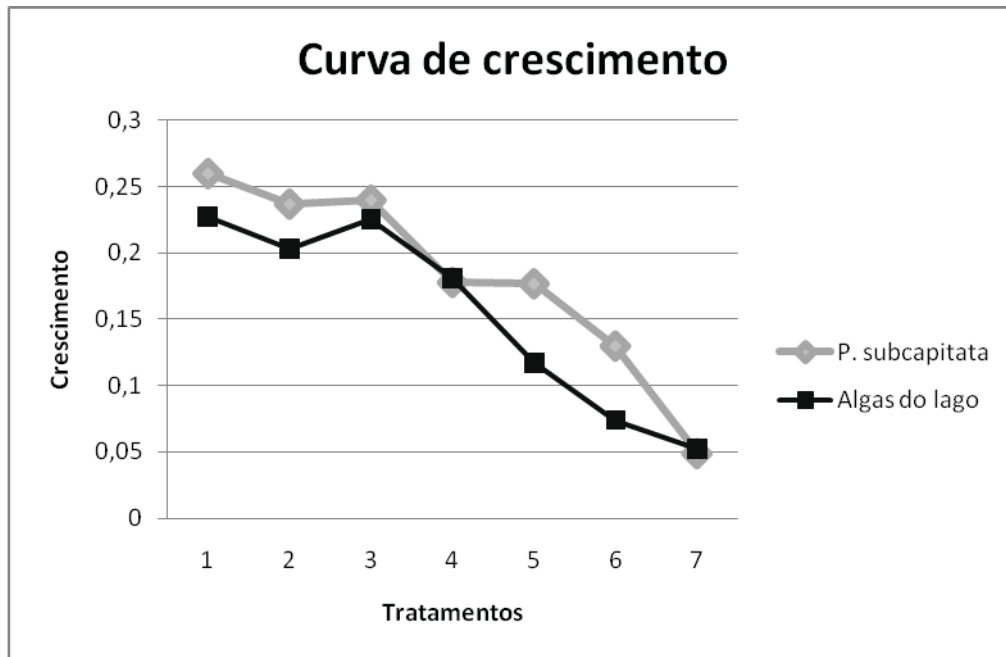


**Gráfico 4:** Padrão de absorvância médio em cada tratamento ao longo do tempo para ensaios com algas do lago artificial.

Com relação às interações entre os tratamentos para as microalgas do lago artificial, pode-se inferir que apesar da baixa diversidade dessas a presença de diferentes espécies e que, portanto, podem apresentar diferentes respostas a presença do herbicida levaram a sobreposição de alguma espécie mais oportunista

que outras.

Os valores das leituras de absorvância dos iniciais foram subtraídos dos valores finais, depois de 96 horas, para confecção da curva de crescimento pela leitura de absorvância nos diferentes tratamentos e ensaios (**gráfico 5**).



**Gráfico 5:** Curva de crescimento para os ensaios com *Pseudokirchneriella subcapitata* e algas do lago artificial considerando os valores iniciais de absorvância em cada tratamento subtraídos dos valores finais.

Com base neste gráfico é possível inferir que a partir do tratamento 5 (0,994 mg/L de *glifosato*) a biomassa de microalgas diminui significativamente. Todos os resultados obtidos nos testes de absorvância com *P. subcapitata* e microalgas do lago artificial estão presentes no **ANEXO 2**.

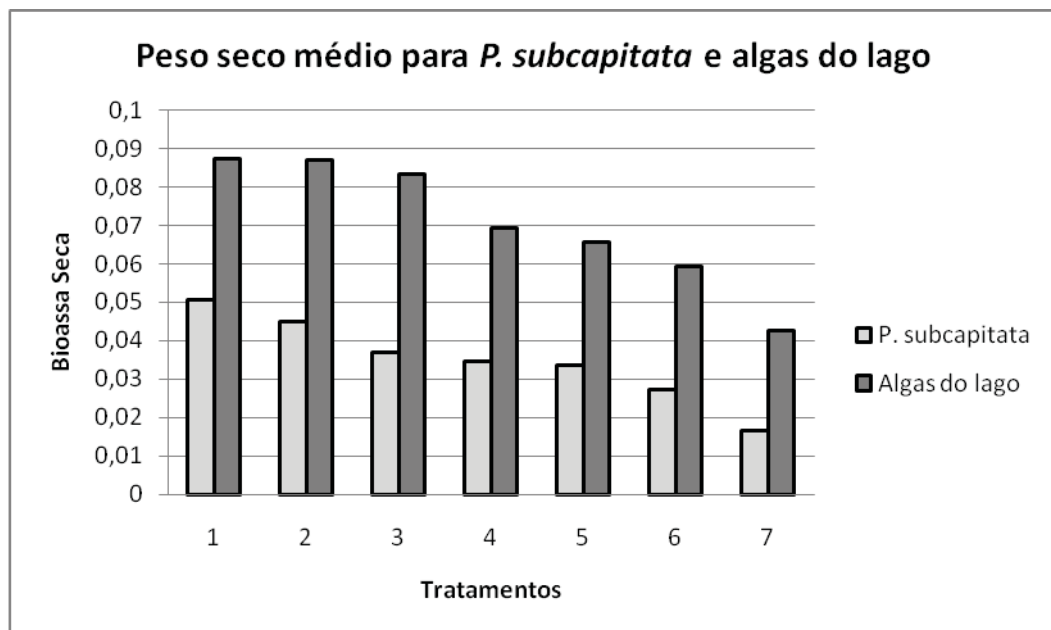
### 5.3. Quantificação de biomassa seca:

A análise de variância comparando os tratamentos para biomassa seca mostrou que não há diferença significativa tanto para os ensaios com *P. subcapitata* quanto para os com algas do lago, como demonstrado na **tabela 7** e **gráficos 6**.

Os valores obtidos para biomassa seca, tanto para os testes com a *P. subcapitata* tanto para as microalgas do lago artificial estão cosam no **ANEXO 3**.

**Tabela 7:** Médias da quantificação em mg/L da biomassa seca para os tratamentos

Quantificação da biomassa seca		
Tratamento	Médias para <i>P. subcapitata</i>	Médias para algas do lago
1	0,0507	0,0874
2	0,0448	0,0871
3	0,0371	0,0833
4	0,0346	0,0692
5	0,0335	0,0656
6	0,0274	0,0592
7	0,0166	0,0425



**Gráfico 6:** Média da biomassa em mg/L para ensaios com *Pseudokirchneriella subcapitata* e algas do lago artificial.

#### 5.4. Quantificação celular

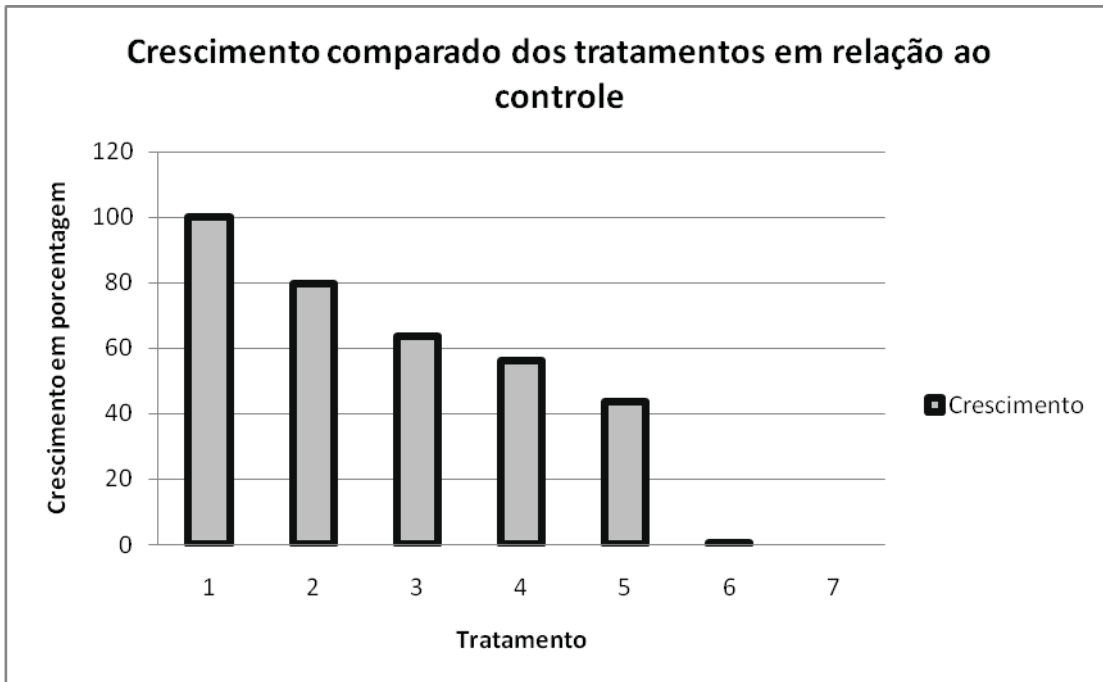
Com relação à quantificação celular, encontrou-se que o número de células final foi menor que o inicial para os tratamentos com 0,944; 1,888 e 3,776mg de *glifosato* (tabela 8).



**Tabela 8:** Média do número de células e porcentagem de diminuição do número de células, após 96 horas de cultivo para *Pseudokirchneriella subcapitata*

Média do número de células e porcentagem de diminuição do número de células		
Tratamento com <i>glifosato</i> (mg/L)	Número médio final de células (mL x 10 <sup>6</sup> )	% de diminuição do número médio de células
Controle	4,4762	0
0,118	4,2994	3,86
0,236	3,3098	26,00
0,472	3,0775	31,19
0,944	1,4719	67,10
1,888	>200	≈ 100
3,776	>35	≈ 100

Nos tratamentos com 0,118; 0,236 e 0,472 mg/L a diferença da quantidade final de células com relação ao controle não foi significativa. A partir da concentração de 0,944 mg/L o decréscimo do número de células é significativo e o aspecto das células da microalga ao microscópio diferenciado, essas são menores e mais esparsas. Comparado a contagem de células final de cada tratamento com a do controle e assumindo que para esse a quantidade final de células é máxima, elaborou-se o **gráfico 6**:



**Gráfico 6:** Crescimento comparado dos tratamentos em relação ao controle, tendo como base o número médio final de células para ensaios com *Pseudokirchneriella subcapitata*..

Os demais resultados das contagens de células para os testes com *P. subcapitata* estão disponíveis no **ANEXO 4**.

Para as microalgas do lago artificial, houve a sobreposição da microalga mais abundante, *Pseudokirchneriella subcapitata* (**foto 8**), ao término dos testes. A diversidade de espécies de microalgas encontradas antes dos tratamentos foi diminuída para a presença apenas da *Pseudokirchneriella subcapitata* a partir da concentração de 0,944 mg/L de *glifosato*. Pode-se inferir que devido à abundância inicial dessa espécie sua representatividade ao final do teste é maior e indicando menor sensibilidade na presença do *glifosato*, do que as demais.

Portanto pode-se afirmar que o *glifosato* pode contribuir para a diminuição da biodiversidade quando presente em água.



Foto 8: *Pseudokirchneriella subcapitata*.

Para as concentrações de 0,944; 1,888 e 3,776 mg/L foi possível notar a diminuição na quantidade de aglomerados celulares, assim como do tamanho das células, como demonstra a **foto 9**:

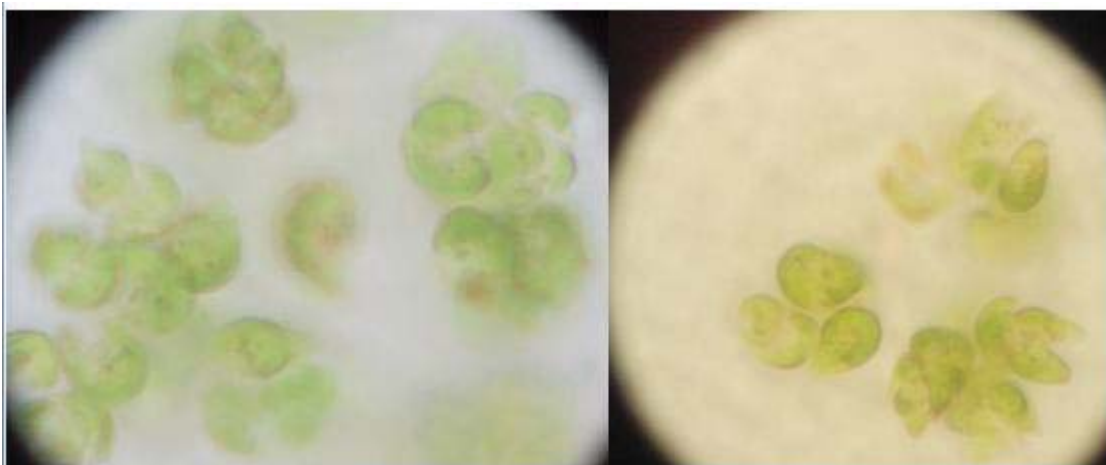
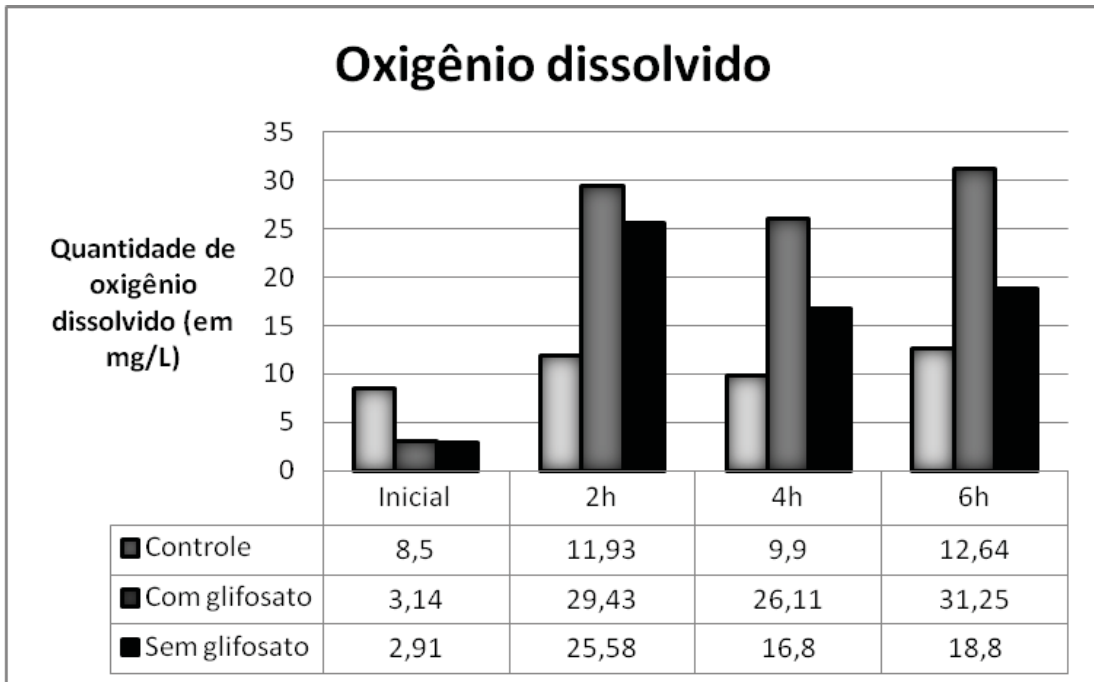


Foto 9: Fotos comparativas da presença de *Pseudokirchneriella subcapitata* do lago artificial para o controle (a esquerda) e tratamento com 0,994 mg/L de *glifosato* (a direita).

### 5.5. Medida de oxigênio dissolvido

Para essa metodologia empregada, os resultados não foram satisfatórios como apontado no **gráfico 7**:



**Gráfico 7:** Quantificação do oxigênio dissolvido nos tratamentos: controle, com e sem *glifosato*, nos tempos: inicial, 2; 4 e 6 horas depois.

A quantidade de oxigênio medida excedeu o esperado para ambos os tratamentos, com ampla variação entre as horas demonstrando falta de padrão e baixa precisão das medidas, portanto, os resultados não foram satisfatórios e não foram considerados para análise da influência do *glifosato* na *P. subcapitata*.

Esse parâmetro deve merecer outros estudos em virtude dos resultados obtidos na quantificação de  $O_2$  dissolvido. Embora o equipamento estivesse calibrado e sabendo-se que o  $O_2$  a  $20^\circ C$  não excede a  $8,0 \text{ mg}/O_2/L$ , as respostas obtidas do eletrodo seletivo de  $O_2$  não permitiram discernir o fator de alteração nas medidas.

## 6. CONSIDERAÇÕES FINAIS

O herbicida *glifosato* mostrou-se tóxico para as microalgas, interferindo no desenvolvimento dessas, de acordo com a metodologia aplicada, quando em concentrações maiores que 0,994 mg/L.

Com base nos resultados dos testes de absorvância e contagem de células, observou-se diminuição da biomassa das microalgas. Sendo essas produtoras primárias de ambientes límnicos, tem-se que a contaminação por *glifosato* desses ambientes pode causar desequilíbrios na cadeia trófica, bem como na produção de oxigênio.

A partir dos testes com algas do lago artificial, pode-se inferir que a interferência do *glifosato*, quando presente, pode causar desequilíbrio na comunidade de microalgas, na qual as espécies dominantes ou mais oportunistas podem sobrepor outras mais raras ou sensíveis ao herbicida.

Esse efeito em curto prazo causa desestruturação na comunidade de microalgas e em longo prazo, se mantida a contaminação por *glifosato*, pode levar a perda de diversidade.

Considerando que a contaminação aquática pelo *glifosato* acontece, sobretudo através do implemento aéreo em monoculturas, a quantidade do herbicida que chega aos corpos d'água pode chegar a 5,8kg de ingrediente ativo por hectare, dependendo da recomendação de uso, valor que excede em muito a quantidade de interferência na comunidade de microalgas apontada por essa pesquisa.

## 7. REFERÊNCIAS

ABNT, Associação Brasileira de Normas Técnicas; **Ecotoxicologia aquática Ensaio de toxicidade crônica com Ceriodaphnia sp (Crustacea, Cladocera)**, 2005; Disponível em: <http://www.ecologia.ufrgs.br/alex/abnt/sul/1373%20Sul> Acesso em: 15/01/2010.

ADAM, G.D., HAGLER, L.C.S.M., HAGLER, A.N.; **Tratado de microbiologia**, ROITMAN, I., TRAVASSOS, L.R., AZEVEDO, J.L. (ed.); São Paulo: editora Manole, v.2, 1991, 126p..

AGÊNCIA NACIONAL DE RECURSOS HÍDRICOS; Setores usuários de recursos hídricos no Brasil, 2002; Disponível em: [~~~~~](http://www.ana.gov.br/) Acesso em: 14/05/10.

ALMEIDA, F. S; RODRIGUES, B. N.; **Guia de herbicidas**: contribuição para o uso adequado em plantio direto e convencional; Londrina: IAPAR, 1985.

ALMEIDA, N.C., **Imobilização de células de *Saccharomyces cerevisiae* e *Zymomonas mobilis* em culturas puras e mistas objetivando produção de etanol**, 1992, 102p., (Mestrado em Ciências Biológicas) – Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, Rio Claro, SP.

ALTIERI, M. A.; **Agroecologia: as bases científicas da agricultura alternativa**; tradução de Patrícia Vas. Rio de Janeiro: PTA; FASE, 1989; 235p.:il..

ALTIERE, M.; **Agroecologia: bases científicas para uma agricultura sustentável**; Guaíba: Agropecuária, 2002, 592p..

AMARANTE Jr., O.P., SANTOS T.C.R., BRITO, N.M., RIBEIRO, M.L.; Glifosato: propriedades, toxicidade, usos e legislação; **Quím. Nova**, vol.25 no.4, São Paulo: July 2002.

AGRA, N. G., SANTOS, R. F.; **Agricultura Brasileira: situação atual e perspectiva de desenvolvimento**, 2000; Disponível em: [~~~~~](#) Acesso em: 15/06/2010.

ARAGÃO, M.A., ARAÚJO, R.P.A.; **Métodos de Ensaio de toxicidade com organismos aquáticos**; in: Ecotoxicologia aquática – princípios e aplicações; org: Pedro A. Zagatto e Eduardo Bertoletti; São Carlos: RIMA, 2006; 478p..

ARAÚJO, A. S. F.; **Biodegradação, extração e análise de glifosato em dois tipos de solos**; Piracicaba, 2002, 72 p.; Dissertação (Mestrado) - Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Universidade de São Paulo.

ARIAS, A. R. L., *et al.*; Utilização de bioindicação na avaliação de impacto e no monitoramento da contaminação de rios e córregos por agrotóxicos; **Ciênc. saúde coletiva**, vol.12, no.1, Jan./Mar. 2007.

BAIRD, C.; **Química Ambiental**, trad. Maria Angeles Lobo Recio e Luiz Carlos Marques Carrera; 2ed., Porto Alegre: Bookman, 2002. 622p.

BICUDO, C.E.M. e MENEZES, M. **Gêneros de algas continentais do Brasil – Chave para identificações e descrições**. São Carlos: Editora Rima, ed.2, 2006.

BRANCO, S. M., AZEVEDO, S. M. F. O., TUNDISI, J. G.; **Água e saúde humana in Águas doces do Brasil: capital ecológico, usos e conservação**; Aldo da C. Rebouças, Benedito Braga e José Galizia Tundisi (edit.); 3 ed., São Paulo: Escrituras Editora; 2006. 703 p..

BRANCO, S. M.; **Água, meio ambiente e saúde**; 2 ed. São Paulo: Escrituras; 2002.

BRANCO, S. M.; **Natureza e Agroquímicos.**; São Paulo: Ed. Moderna, 1990.

BRASIL, Decreto de Lei nº 236 de 1 de agosto de 1998 (Ministério do Meio Ambiente); Diário da República, I série-A, nº 176 de 1998.

BRUSCA, R. C., BRUSCA, G. J.; **Invertebrates**; Sunderland: Sinauer Associates, 2003, 936 p..

CAMARGO, P.N., **Herbicidas orgânicos: fundamentos químicos-estruturais**. 1ed. São Paulo: ed. Manole, Ltda., 1986. 275p.

CARVALHO, I. C. M.; **Educação Ambiental e Movimento Sociais: elementos para uma história política do campo ambiental**; Revista Educação: teoria e prática, Rio Claro, vol.9, n.16, p.46-56, 2001.

CARVALHO, M. M. et al.; **Início do florescimento, produção e valor nutritivo de gramíneas forrageiras tropicais sob condição de sombreamento natural**; **Pesq.**



**Agropec. Bras.**, v. 37, n. 5, p. 717-722, 2002.

CONAMA (CONSELHO NACIONAL DO MEIO AMBIENTE); Resolução nº375 / 2005; Ministério do Meio Ambiente, 23p..

CONCA, K.; A nova face do conflito da água, 2008; Disponível em: [www.wilsocenter.org/water](http://www.wilsocenter.org/water); Acesso em: 31 de abril, 2010.

COUTINHO, C.F.B. *et al.*; Pesticidas: mecanismos de ação, degradação e toxidez; Rev. **Ecotoxicologia e Meio Ambiente**; ano 15, n. 1. p. 65-72; jan. 2005.

CRUCIANI, D.E.; BAPTISTA, G.C.; CHRISTOFFOLETI, P.J., MINAMI, K.; Comportamento de herbicida em solo de várzea com drenagem subterrânea; **Sci. agric.** vol. 53 n. 2-3 Piracicaba May/Dec. 1996.

CUNHA, L.F.; Transgênicos: enfim, aprovados; **Globo Rural**, n. 234, p. 38-44, 2005.

DOMINGUES, D. F., BERTOLETTI, E.; **Seleção, manutenção e cultivo de organismos aquáticos** in: : Ecotoxicologia aquática – princípios e aplicações; org: Pedro A. Zagatto e Eduardo Bertoletti; São Carlos: RIMA, 2006; 478p..

EHLERS, E.; **Agricultura sustentável: origem e perspectivas de um novo paradigma**; São Paulo: Livros da Terra, 1996; 178p..

ESTEVES, F.A.; **Fundamentos de limnologia**; Rio de Janeiro: Interciência, ed.2; 1988, 602p..

FALKOWSKI, P. G.; RAVEN, J. A.; **Aquatic photosynthesis.**; Blackwell Science, Oxford, UK, 1997, 375p..

FORNARI, E.; **Manual prático de agroecologia**; São Paulo: Aquariana, 2002.

FUNDAÇÃO MOKITI OKADA; **Nosso patrona Mokiti Okada**; 2007. Disponível em: < [http://www.fmo.org.br/fmo2/sobre\\_mokiti\\_okada.html](http://www.fmo.org.br/fmo2/sobre_mokiti_okada.html) > Acesso em: 17/06/2008.

GARCIA, E.G.; Pesticide control experiences in Brazil, **Pestic Saf** 1997; Disponível em: <http://www.scielosp.org/scieloOrg/php/reflinks.php?refpid=S0034>, Acesso em: 05/01/2010.

GARCÍA, R.; **Deterioro ambiental y pobreza en la abundancia productiva: El caso de la Comarca Lagunera**; México: IFIAS-CINVESTAV / IPN, 1988; Disponível em: <http://www.portalces.org/index2.php.deterioro+ambiental+y+pobreza+en+la+abundancia+productiva.+el+caso+de+la+comerca+lagunera> > Acesso em: 02/09/2009

GLASS, R. L.; Glyphosate Herbicide; **Journal of Agricultural and Food Chemistry**,

n.1249, p. 32., 1984.

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

GRISOLIA, C.K.; **Agrotóxicos**: mutações, câncer e reprodução; Brasília: editora Universidade de Brasília, 2005. 392p..

GUIVANT, J. S.; **A agricultura sustentável na perspectiva das ciências sociais** in: Meio ambiente, desenvolvimento e cidadania: desafios para as ciências sociais; 2ed. São Paulo: Cortez, 1998; 220p..

HESPANHOL, I., Água e saneamento básico in **Águas doces do Brasil**: capital ecológico, usos e conservação; Aldo da C. Rebouças, Benedito Braga e José Galizia Tundisi (edit.); 3 ed., São Paulo: Escrituras Editora; 2006. 703 p..

JIRAUNGKOORSKUL, W.; UPATHAM, E. S.; KRUATRACHUE, M.; SAHAPHONG, S.; VICHASRI-GRAMS, S.; POKETHITIYOOK, P. Biochemical and Histopathological Effects of Glyphosate Herbicide on Nile Tilapia (*Oreochromis niloticus*). *Environmental Toxicology*, v.18, n.4, p.260-267, 2003.

LEFF, E.; Agroecologia e saber ambiental; **Revista Agroecologia e Desenvolvimento Rural Sustentável**; Porto Alegre, vol.3, n.1, jan./mar.2002.

LEFF, E.; **Aventuras da epistemologia ambiental**: da articulação das ciências ao diálogo dos saberes.; Rio de Janeiro: Garamond Universitária, 2004; 87p..

LORENZO, V., SILVA-ROCHA, R., CARBAJOSA, G. GALVÃO, T.C., CASES, I.; **Sensing xenobiotic compounds**: lessons from bacteria that face pollutants in the environment In *Sensory Mechanisms in Bacteria*; Norwich: Ed. S. Spiro and R. Dixon. Horizon Scientific Press, 2009.

LUTZENBERGER, J.A., **Absurdo da agricultura moderna**: dos fertilizantes químicos agrotóxicos à biotecnologia, 1998; Disponível em: <http://www.fgaia.org.br/texts/biotec.html> Acesso em 14 de abril de 2010.

MADIGAN, M. T., MARKINKO J. M., PARKER J.; **Microbiologia de Brock**; 10 ed. São Paulo: Prentice Hall, 2004. 608p..

MAIA, J. D. G.; **Cultivo da Videira Niágara Rosada em Regiões Tropicais do Brasil**, 2003; Disponível em: [~~~~~](http://www.fgaia.org.br/texts/biotec.html) Acesso em: 30/07/2010.

MARGALEF, R., **Ecologia**; Barcelona: Ediciones Omega S.A., ed. 2, 1977, 951p..

MARGAT, J.; Repartition des ressources et des utilisations d'eau dans le monde: disparités présentes et futures; **La Houille Blanche**, n.2, 1998, p. 40-51.

MOITA, R.; CUDO, K. **Aspectos gerais da qualidade da água no Brasil**. In: Reunião técnica sobre qualidade da água para consumo humano e saúde no Brasil; Brasília: Ministério da Saúde, Secretaria do Meio Ambiente, 1991. p.1-6.

MOREIRA, J.C., *et al.*; Avaliação integrada do impacto do uso de agrotóxicos sobre a saúde humana em uma comunidade agrícola de Nova Friburgo, RJ; **Ciênc. saúde coletiva**: vol.7 no.2, São Paulo, 2002.

NASCIMENTO, I. A., PEREIRA, S. A., LEITE, M. B., N. L.; **Biomarcadores como instrumentos preventivos de poluição** in: Ecotoxicologia aquática – princípios e aplicações; org: Pedro A. Zagatto e Eduardo Bertoletti; São Carlos: RIMA, 2006; 478p..

NATIONAL BIORESOURCE PROJECT; **Pseudokirchneriella subcapitata**, 2009; Disponível em: [~~~~~ ~~~~~ ~~~~~ ~~~~~ ~19~~~~~](#) Acesso em: 12/05/2010.

ODUM, E.P.; **Ecologia**; Rio de Janeiro: ed. Guanabara; 1988, 434p..

OLIVEIRA-SILVA, J.J.; *et al.*; Influência de fatores socioeconômicos na contaminação por agrotóxicos, **Rev. Saúde Pública**: vol.35 no.2, São Paulo, Apr. 2001.

PEGRIN, D. C.; **Microfiltração tangencial de efluente sanitário após tratamento biológico**; 2004. 115 p.; Dissertação (Especialização em Engenharia Ambiental na Área de Tecnologias de Saneamento Ambiental) – Universidade Federal de Santa Catarina UFSC, Florianópolis.

PEREIRA, T., CEREJEIRA, M.J.; **Ensaio biológicos para avaliação de toxicidade das amostras de água**, 2007; Disponível em: [http://www.isa.utl.pt/dppf/agro24/metod\\_biologicos.pdf](http://www.isa.utl.pt/dppf/agro24/metod_biologicos.pdf); Acesso em: 12/01/2010.

PLANETA ORGÂNICO; **Agrotóxicos**: riscos para a saúde e o meio ambiente; 2005; Disponível em: [~~~~~ ~~~~~ ~~~~~ ~~~~~](#) Acesso em: 25/04/2010.

RAVEN, P.H., EVERT, R.F., EICHHORN, S.E.; **Biologia Vegetal**; Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, ed.7, 2007; 856p..

RAVEN, P.R.; EVERT, R.F.; EICHHORN, S.E.; **Biologia Vegetal**, 6ª ed., Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2001. 906p..

REBOUÇAS, A. C.; Diagnóstico do setor de hidrologia; **Caderno Técnico**; 1996; 2:42-46.

REBOUÇAS A. C.; Água doce no mundo e no Brasil in **Águas doces do Brasil: capital ecológico, usos e conservação**; Aldo da C. Rebouças, Benedito Braga e José Galizia Tundisi (edit.); 3 ed., São Paulo: Escrituras Editora; 2006. 703p..

REYNOLDS, J.J., MURPHY, G., CARTWRIGHT, E., SELLERS, A.; **Evidence that latent collagenases are enzyme-inhibitor complexes**, 1997; Disponível em: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC1164697/> Acesso em: 14/01/2010.

REYNOLDS, J.J., MURPHY, G., CARTWRIGHT, E., SELLERS, A.; **Evidence that latent collagenases are enzyme-inhibitor complexes**, 1975; Disponível em: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC1164697/> Acesso em: 14/01/2010.

RICHMOND, A.; **Handbook of microalgal culture: biotechnology and applied phycology**; Blackwell Science, Oxford, UK; 2004; 566p..

RICKLEFS, R.E.; **A economia da natureza**; 5 ed., Rio de Janeiro: Editora Guanabara Koogan; 2003. 542p..

RONCAGLIO C.; **Sociedade Contemporânea e Desenvolvimento Sustentável**; Curitiba: IESDE, 2006; 244p..

SALATI, E., LEMOS, H. M., SALATI, E., Água e o desenvolvimento sustentável in **Águas doces do Brasil: capital ecológico, usos e conservação**; Aldo da C. Rebouças, Benedito Braga e José Galizia Tundisi (edit.); 3 ed., São Paulo: Escrituras Editora; 2006. 703 p..

SELBORNE, L.; **A ética do uso da água doce: um levantamento**. Brasília: UNESCO, 2001. 80p.

SILVA, G. A., KULAY, L. A., Água na indústria in **Águas doces do Brasil: capital ecológico, usos e conservação**; Aldo da C. Rebouças, Benedito Braga e José Galizia Tundisi (edit.); 3 ed., São Paulo: Escrituras Editora; 2006. 703 p..

SILVA, S. C. Brasil é o quarto maior consumidor de agrotóxicos. **O Estado de São Paulo**, Geral Ambiente; p. A16, 18.jul.1999.

TOLEDO, L.G; FERREIRA, C.J.A. Impactos das atividades agrícolas na qualidade da água. **Rev. Plantio Direto**, 58, p.21-27. Jun/Ago. 2000.

TOWNSEND, C.R., BEGON, M. e HARPER, J.L.; **Fundamentos em ecologia**; 2 ed., Porto. Alegre: Artmed, 2006; 592p..

TOWNSEND, C.R., BEGON, M., HARPER, J.L.; **Fundamentos em ecologia**; 3ed.,

porto alegre-artmed, 2010, 567p.,ll..

TUNDISI, J. G., TUNDISI, T. M.; **Limnologia**; São Paulo: Oficina de textos, 2008, 631p..

TUNDISI, J. G.; **Diretrizes para o Gerenciamento de Lagos**; São Carlos: Instituto Internacional de Ecologia, v. 1, 2000; 184p.

UNESCO; **Educação para um futuro sustentável**: uma visão transdisciplinar para ações compartilhadas; Brasília: ed. IBAMA, 1999; 118p..

VASCONCELLOS, M.G., VERANI, N.F., SÁ, O.R. de; **Avaliação dos efeitos toxicológicos crônicos do herbicida glifosato sobre a diferenciação gonadal do bagre *Rhamdia hillari* (Valenciennes, 1840)**, s.d.; Disponível em:[http://www.fafibe.br/revistaonline/arquivos/022-odila-erbicida\\_roundup.pdf](http://www.fafibe.br/revistaonline/arquivos/022-odila-erbicida_roundup.pdf)> Acesso em: 18/01/2010.

VEIGA, J. E da, **A agricultura no mundo moderno** in: Meio Ambiente no século 21: 21 especialistas falam da questão ambiental nas suas áreas do conhecimento, André Trigueiro org.; Rio de Janeiro: Sextante, 2003. p.198 a 213.

VIDOTTI, E. C., ROLLEMBERG, M. C. E.; Algas: da economia nos ambientes aquáticos à bioremediação e à química analítica; **Quím. Nova**, vol.27 no.1, São Paulo: Jan./Feb., 2004.

WHO (WORLD HEALTH ORGANIZATION); United Nations Environment Programme, the International Labour Organization. **Glyphosate**:Environmental health criteria. Geneva, 1994.

WONG, C. K. C.; Morphological and biochemical changes in the gills of Tilapia (*Oreochromis mossambicus*) to ambient cadmium exposure; **Aquatic Toxicology**, Amsterdam, v. 48, p.517–527, 2000.

ZAGATTO, P.A.; **Ecotoxicologia** in: Ecotoxicologia aquática – princípios e aplicações; org: Pedro A. Zagatto e Eduardo Bertoletti; São Carlos: RIMA, 2006; 478p..



## ANEXO 2: Resultados dos testes de absorvância

Tabelas com resultados dos ensaios com *Pseudokirchneriella subcapitata*:

Tabela 2: Resultado do primeiro teste de absorvância com *Pseudokirchneriella subcapitata*

Concentração de glifosato	Teste de Absorvância (repetição 1)			
	Inicial	48h	72h	96h
Controle	0,063	0,182	0,262	0,403
0,0188 mg/L	0,040	0,176	0,242	0,356
0,236 mg/L	0,061	0,174	0,270	0,361
0,472 mg/L	0,047	0,122	0,189	0,280
0,944 mg/L	0,045	0,131	0,207	0,273
1,888 mg/L	0,056	0,096	0,162	0,232
3,776 mg/L	0,041	0,059	0,092	0,110

Tabela 3: Resultado do segundo teste de absorvância com *Pseudokirchneriella subcapitata*

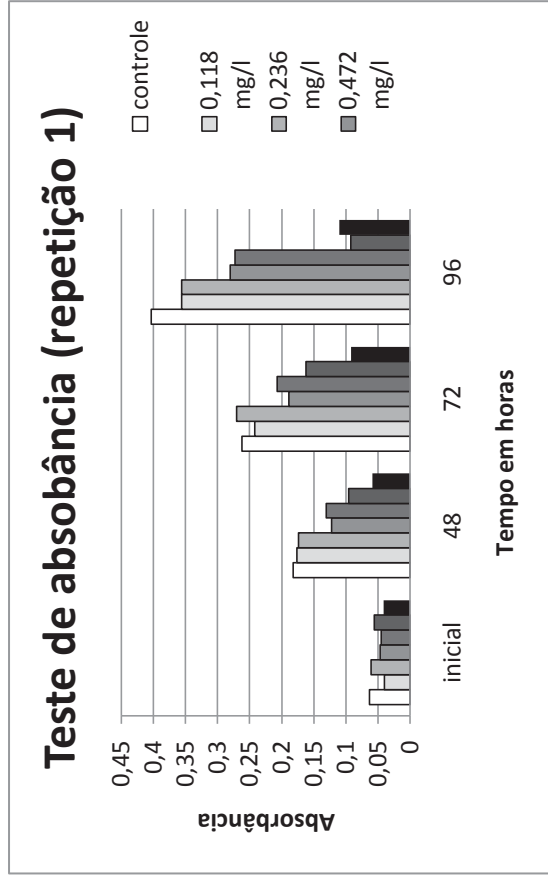
Concentração de glifosato	Teste de Absorvância (repetição 2)			
	Inicial	48h	72h	96h
Controle	0,047	0,102	0,161	0,228
0,0188 mg/L	0,049	0,090	0,149	0,207
0,236 mg/L	0,043	0,105	0,155	0,224
0,472 mg/L	0,038	0,074	0,123	0,160
0,944 mg/L	0,037	0,071	0,100	0,164
1,888 mg/L	0,035	0,064	0,085	0,119
3,776 mg/L	0,040	0,036	0,055	0,070

Tabela 4: Média dos resultados dos testes de absorvância com *Pseudokirchneriella subcapitata*

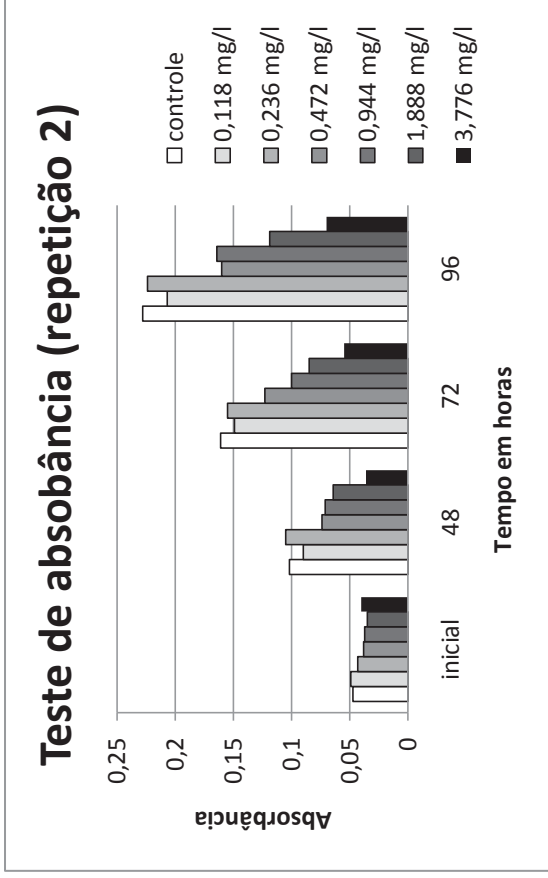
Concentração de glifosato	Média dos Testes de Absorvância			
	Inicial	48h	72h	96h
Controle	0,055	0,142	0,211	0,315
0,0188 mg/L	0,044	0,113	0,195	0,281
0,236 mg/L	0,052	0,139	0,212	0,292
0,472 mg/L	0,042	0,098	0,156	0,220
0,944 mg/L	0,041	0,101	0,153	0,218
1,888 mg/L	0,045	0,080	0,123	0,175
3,776 mg/L	0,041	0,047	0,073	0,090



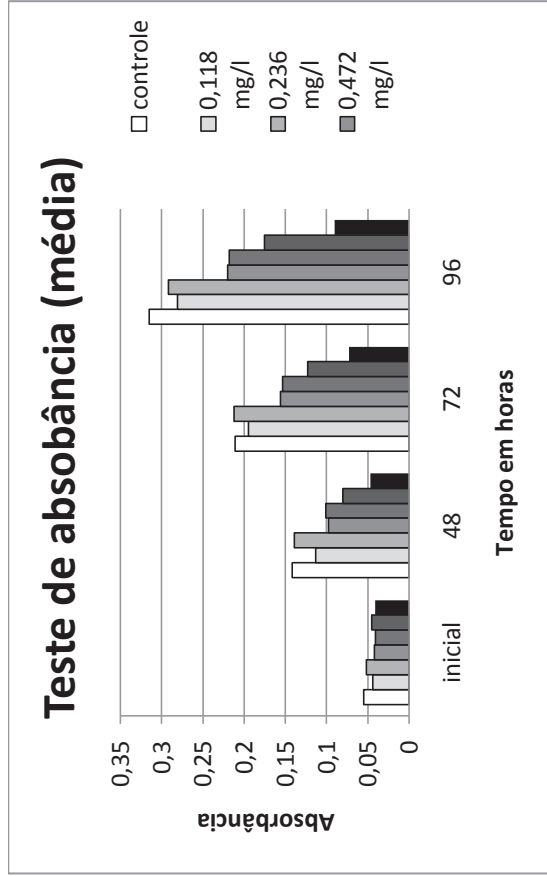
Gráficos com resultados dos ensaios com *Pseudokirchneriella subcapitata*:



**Gráfico 1:** Absorvância ao longo do tempo para o primeiro ensaio com *Pseudokirchneriella subcapitata*



**Gráfico 2:** Absorvância ao longo do tempo para o segundo ensaio com *Pseudokirchneriella subcapitata*.



**Gráfico 3:** Média da absorvância ao longo do tempo para os ensaios com *Pseudokirchneriella subcapitata*.

Tabelas com resultados dos ensaios com microalgas do lago artificial:

**Tabela 5:** Resultado do primeiro teste de absorbância com microalgas do lago artificial

<b>Teste de Absorbância (repetição 1)</b>				
Concentração de glifosato	Inicial	Tempo (em horas)		
		48h	72h	96h
Controle	0,034	0,095	0,232	0,302
<b>0,0188 mg/L</b>	0,032	0,078	0,189	0,295
<b>0,236 mg/L</b>	0,034	0,072	0,185	0,292
<b>0,472 mg/L</b>	0,037	0,065	0,162	0,259
<b>0,944 mg/L</b>	0,035	0,056	0,083	0,170
<b>1,888 mg/L</b>	0,038	0,047	0,062	0,121
<b>3,776 mg/L</b>	0,036	0,041	0,055	0,085

**Tabela 6:** Resultado do segundo teste de absorbância com microalgas do lago artificial

<b>Teste de Absorbância (repetição 2)</b>				
Concentração de glifosato	Inicial	Tempo (em horas)		
		48h	72h	96h
Controle	0,028	0,085	0,185	0,288
<b>0,0188 mg/L</b>	0,026	0,089	0,193	0,292
<b>0,236 mg/L</b>	0,025	0,094	0,201	0,328
<b>0,472 mg/L</b>	0,023	0,068	0,164	0,251
<b>0,944 mg/L</b>	0,031	0,051	0,072	0,163
<b>1,888 mg/L</b>	0,029	0,043	0,064	0,116
<b>3,776 mg/L</b>	0,023	0,035	0,053	0,078

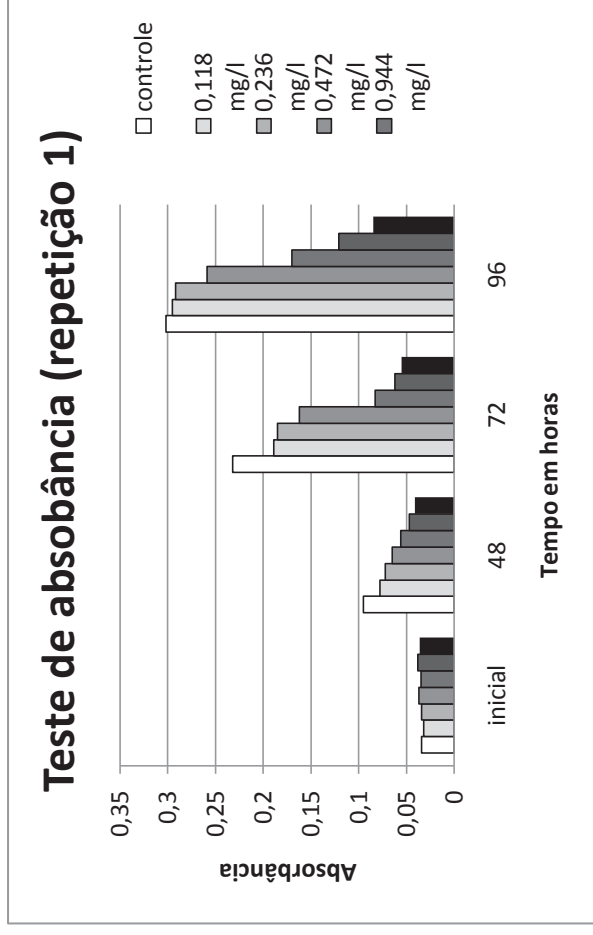
**Tabela 7:** Resultado do terceiro teste de absorbância com microalgas do lago artificial

<b>Teste de Absorbância 3</b>				
Concentração de glifosato	Inicial	Tempo (em horas)		
		48h	72h	96h
Controle	0,025	0,085	0,133	0,177
<b>0,0188 mg/L</b>	0,021	0,043	0,066	0,099
<b>0,236 mg/L</b>	0,029	0,059	0,124	0,142
<b>0,472 mg/L</b>	0,026	0,064	0,109	0,120
<b>0,944 mg/L</b>	0,024	0,040	0,094	0,107
<b>1,888 mg/L</b>	0,028	0,032	0,065	0,080
<b>3,776 mg/L</b>	0,024	0,036	0,049	0,077

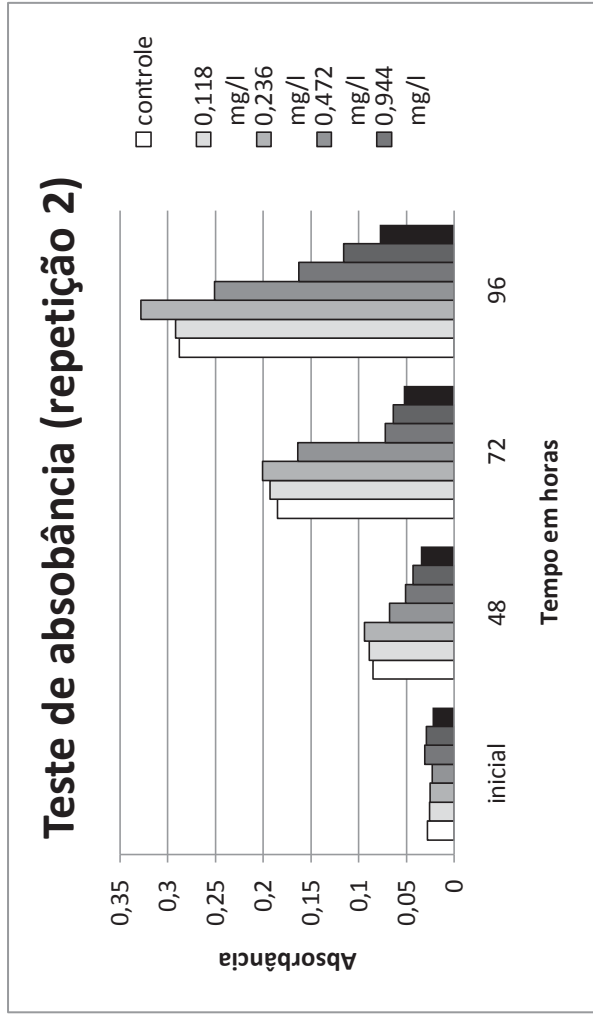
**Tabela 8:** Resultado médio dos testes de absorbância com microalgas do lago artificial

<b>Média dos Testes de Absorbância</b>				
Concentração de glifosato	Inicial	Tempo (em horas)		
		48h	72h	96h
Controle	0,029	0,088	0,183	0,256
<b>0,0188 mg/L</b>	0,026	0,070	0,149	0,229
<b>0,236 mg/L</b>	0,029	0,075	0,170	0,254
<b>0,472 mg/L</b>	0,029	0,066	0,145	0,210
<b>0,944 mg/L</b>	0,030	0,049	0,083	0,147
<b>1,888 mg/L</b>	0,032	0,061	0,064	0,106
<b>3,776 mg/L</b>	0,028	0,056	0,052	0,080

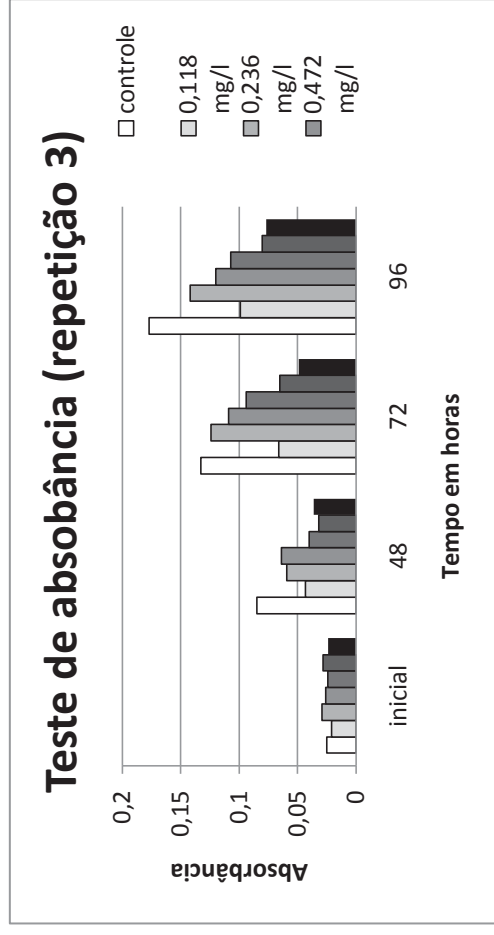
Gráficos com resultados dos ensaios com microalgas do lago artificial:



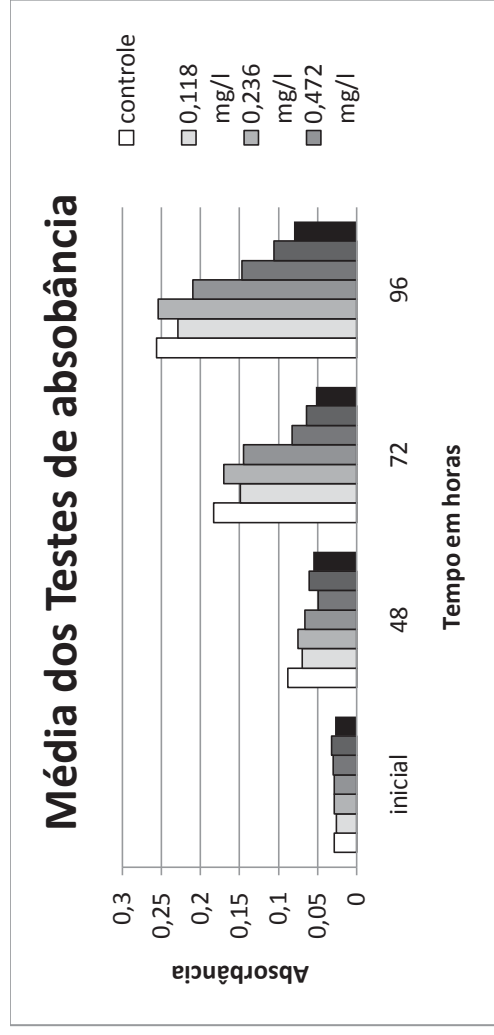
**Gráfico 4:** Absorbância ao longo do tempo para o primeiro ensaio com microalgas do lago artificial



**Gráfico 5:** Absorbância ao longo do tempo para o segundo ensaio com microalgas do lago artificial



**Gráfico 6:** Absorbância ao longo do tempo para o terceiro ensaio com microalgas do lago artificial



**Gráfico 7:** Média da absorbância ao longo do tempo para os ensaios com microalgas do lago artificial

### ANEXO 3: Resultados dos testes de Biomassa Seca

Tabela com resultados dos ensaios com *Pseudokirchneriella subcapitata*:

Tabela 9: Resultado dos testes de biomassa seca com *Pseudokirchneriella subcapitata*:

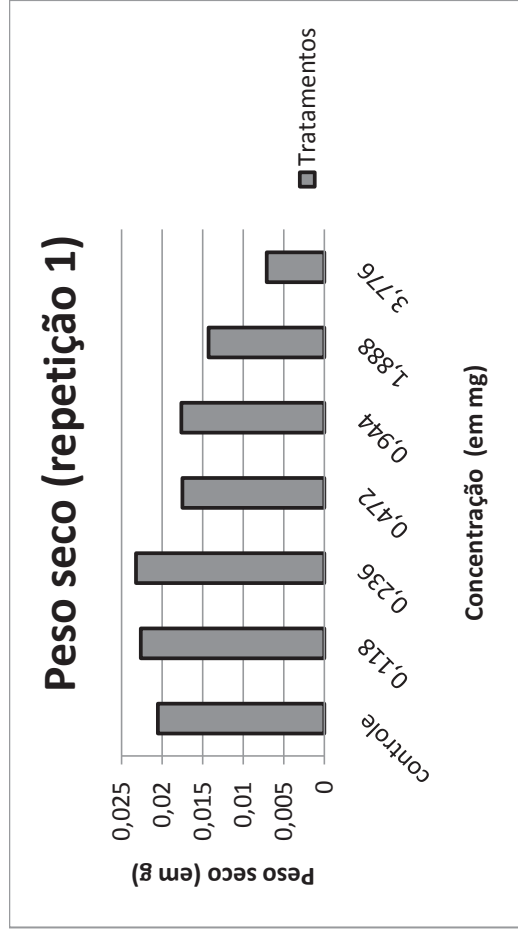
Tratamento	Concentração de glifosato (mg/L)	Quantificação da biomassa		
		Peso seco (repetição 1)	Peso seco (repetição 2)	Peso seco (média)
1	Controle	0,0205	0,0187	0,0196
2	0,118	0,0226	0,0124	0,0175
3	0,236	0,0232	0,0165	0,0198
4	0,472	0,0175	0,0095	0,0135
5	0,944	0,0176	0,0114	0,0145
6	1,888	0,0143	0,0072	0,0107
7	3,776	0,0071	0,0060	0,0065

Tabela com resultados dos ensaios com microalgas do lago artificial:

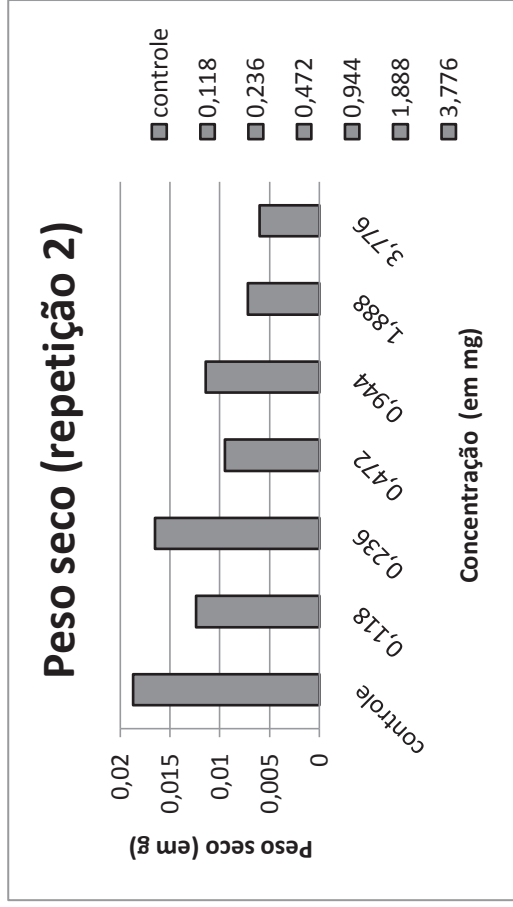
Tabela 10: Resultado dos testes de biomassa seca com microalgas do lago artificial:

Tratamento	Concentração de glifosato (mg/L)	Quantificação da biomassa		
		Peso seco (repetição 1)	Peso seco (repetição 2)	Peso seco (repetição 3)
1	Controle	0,0254	0,0179	0,0251
2	0,118	0,0401	0,0238	0,0381
3	0,236	0,0406	0,0289	0,028
4	0,472	0,0395	0,0183	0,0232
5	0,944	0,0352	0,0222	0,0195
6	1,888	0,0367	0,0151	0,0174
7	3,776	0,0308	0,0123	0,0066

Gráficos com resultados dos ensaios com *Pseudokirchneriella subcapitata*:



**Gráfico 8:** Biomassa seca para o primeiro ensaios com *Pseudokirchneriella subcapitata*.



**Gráfico 9:** Biomassa seca para o segundo ensaios com *Pseudokirchneriella subcapitata*.

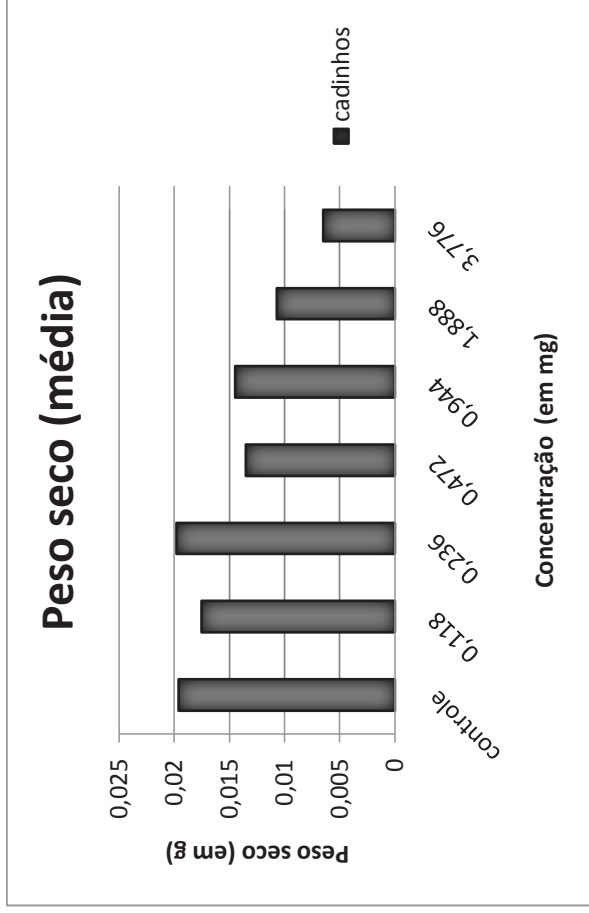
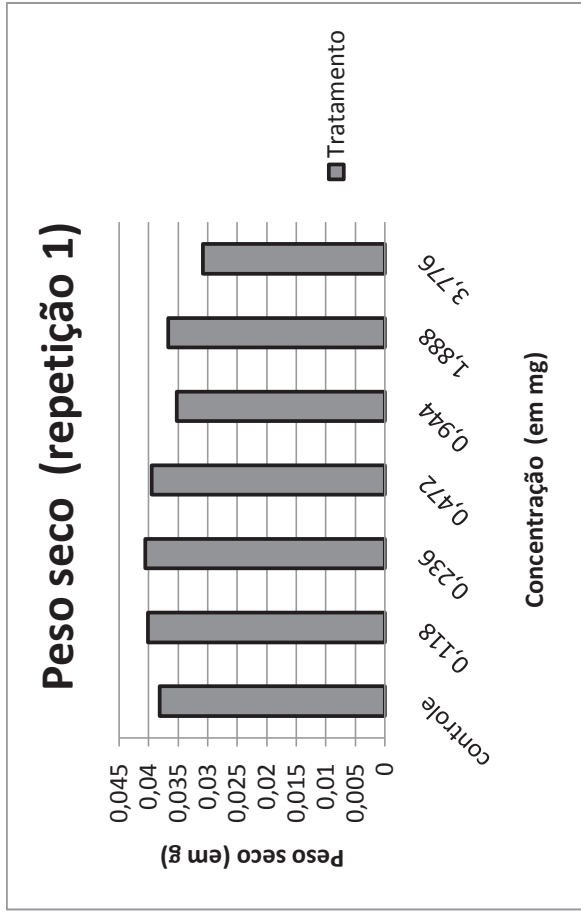
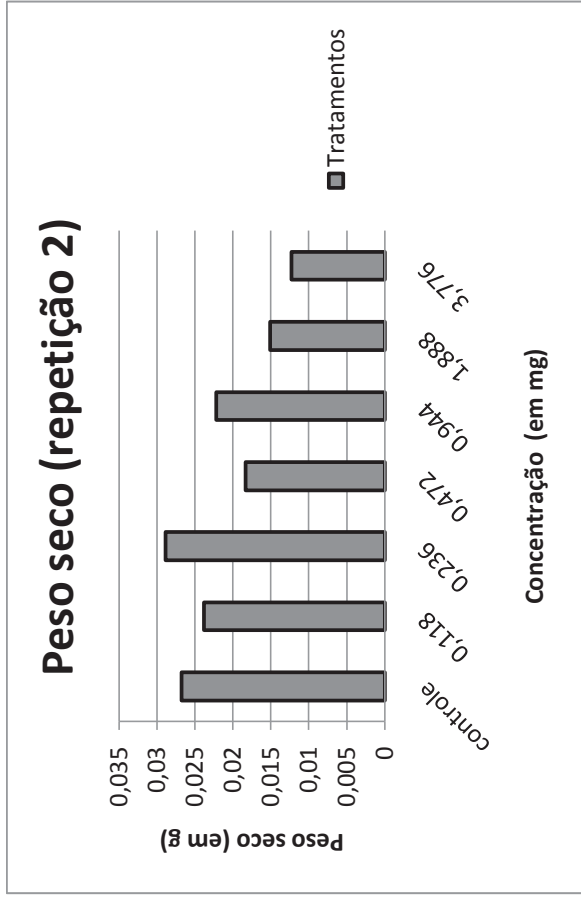


Gráfico 10: Média da biomassa seca para os ensaios com *Pseudokirchneriella subcapitata*.

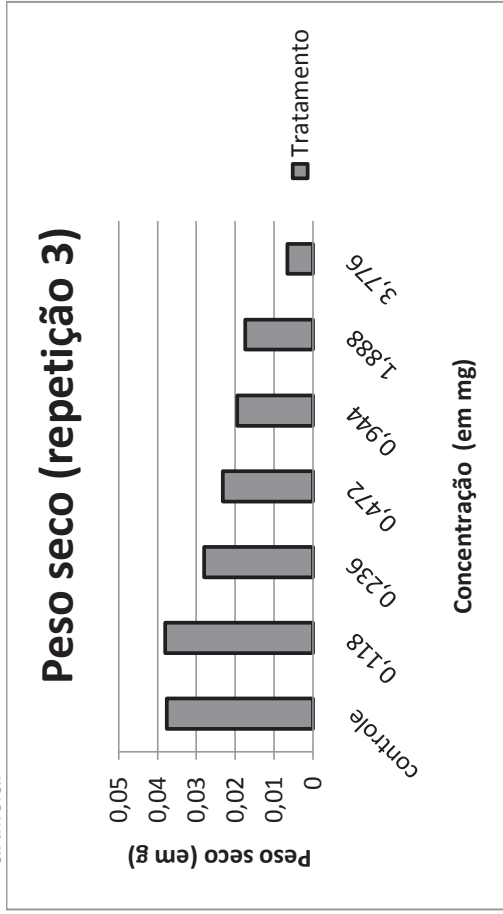
Gráficos com resultados dos ensaios com microalgas do lago artificial:



**Gráfico 11:** Biomassa seca para o primeiro ensaio com microalgas do artificial



**Gráfico 12:** Biomassa seca para o segundo ensaio com microalga do lago artificial.



**Gráfico 13:** Biomassa seca para o terceiro ensaio com microalga do lago artificial.



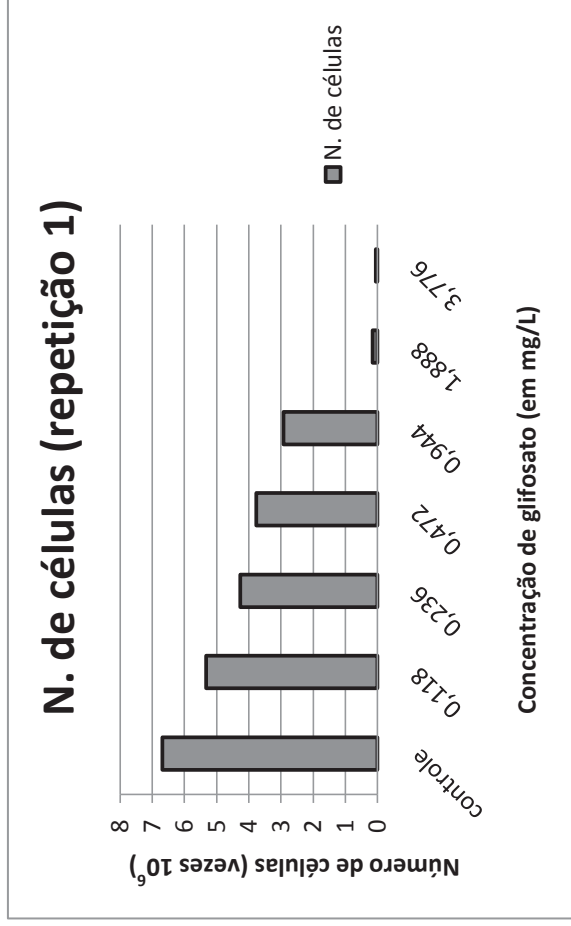
#### ANEXO 4: Resultados dos testes de quantificação celular

Tabela com resultados dos ensaios com *Pseudokirchneriella subcapitata*:

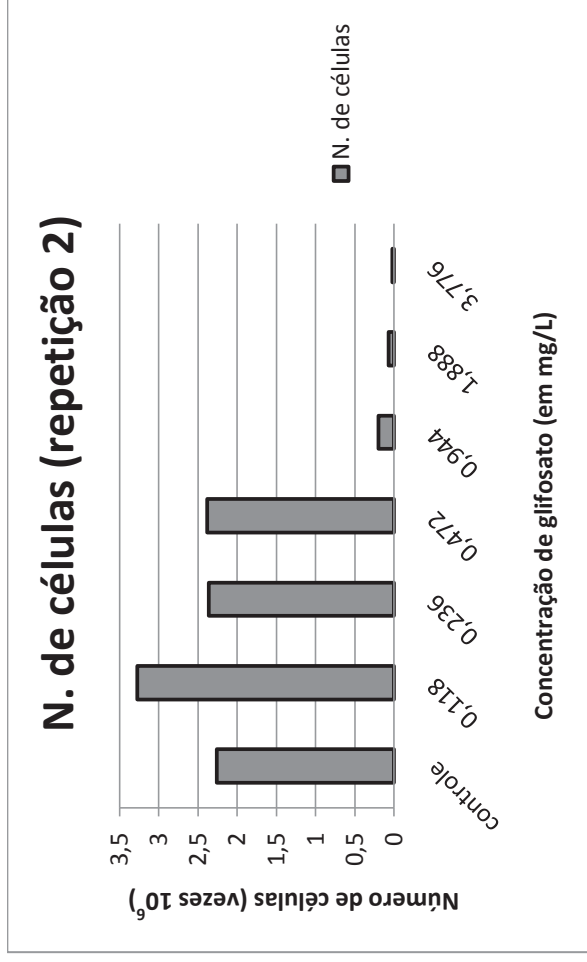
Tabela 11: Resultados dos testes de quantificação celular com *Pseudokirchneriella subcapitata*

Concentração de glifosato (em mg/L)	Contagem de células após 96 horas	Número médio de células (10 <sup>6</sup> ) para o primeiro ensaio	Número médio de células (10 <sup>6</sup> ) para o segundo ensaio	Média do número médio de células (10 <sup>6</sup> ) para os ensaios
Controle		6,6924	2,26	4,4762
0,118		5,3238	3,275	4,2994
0,236		4,2596	2,36	3,3098
0,472		3,7705	2,385	3,0775
0,944		2,9288	<125>200	1,4719
1,888		>150	>75	>200
3,776		>50	>25	>35

Gráficos com resultados dos ensaios com *Pseudokirchneriella subcapitata*:



**Gráfico 14:** Número de células após 96h para o primeiro ensaio com *Pseudokirchneriella subcapitata*



**Gráfico 15:** Número de células após 96h para o segundo ensaio com *Pseudokirchneriella subcapitata*.