



UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA CATARINA
CAMPUS DE CURITIBANOS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ECOSISTEMAS AGRÍCOLAS E NATURAIS

Cibele Alice de Costa

**USO DE SISTEMAS *BIOBEDS* COMO REMEDIADOR DA TOXICIDADE DE
SUPRATHION 400 EC (METIDATIONA)**

Curitibanos

2022

Cibele Alice de Costa

**Uso de Sistemas *Biobeds* como remediador da toxicidade de Suprathion 400 EC
(metidationa)**

Dissertação submetida ao Programa de Pós-Graduação em Ecossistemas Agrícolas e Naturais (PPGEAN), da Universidade Federal de Santa Catarina – Campus de Curitibanos, para a obtenção do título de Mestre em Ciências Agrárias.

Orientador: Prof.^a Dr. Júlia Carina Niemeyer

Coorientadores: Dr. Luciano Gebler; Prof.^a Dr. Adriana Terumi Itako; Prof. Dr. João Batista Tolentino Jr.

Curitibanos, SC

2022

Ficha de identificação da obra elaborada pelo autor,
através do Programa de Geração Automática da Biblioteca Universitária da UFSC.

de Costa, Cibele Alice
USO DE SISTEMAS BIOBEDS COMO REMEDIADOR DA TOXICIDADE
DE SUPRATHION 400 EC (METIDATIONA / Cibele Alice de Costa
; orientador, Júlia Carina Niemeyer, coorientador, Luciano
Gebler, coorientador, Adriana Terumi Itako, 2022.
100 p.

Dissertação (mestrado) - Universidade Federal de Santa
Catarina, Campus Curitibanos, Programa de Pós-Graduação em
Ecossistemas Agrícolas e Naturais, Curitibanos, 2022.

Inclui referências.

1. Ecossistemas Agrícolas e Naturais. 2. Agrotóxico. 3.
Biobeds. 4. Ecotoxicologia. I. Niemeyer, Júlia Carina. II.
Gebler, Luciano. III. Itako, Adriana Terumi IV.
Universidade Federal de Santa Catarina. Programa de Pós
Graduação em Ecossistemas Agrícolas e Naturais. V. Título.

Cibele Alice de Costa

Uso de Sistemas *Biobeds* como remediador da toxicidade de Suprathion 400 EC
(metidationa)

O presente trabalho em nível de mestrado foi avaliado e aprovado por banca
examinadora composta pelos seguintes membros:

Prof. Alexandre Siminski, Dr.

Universidade Federal de Santa Catarina- Centro de Ciências Rurais (UFSC)

Letícia Scopel Camargo Carniel, Dra.

BASF

Certificamos que esta é a **versão original e final** do trabalho de conclusão que foi
julgado adequado para obtenção do título de Mestre em Ciências.

Prof. Alexandre Siminski, Dr.

Coordenação do Programa de Pós-Graduação

Profa. Julia Carina Niemeyer, PhD.

Orientadora

Curitiba, 2022.

Dedico este trabalho a meus pais, Dirceu e Clarice, por me ensinarem o valor do trabalho e serem meus maiores exemplos.

AGRADECIMENTOS

Este trabalho pertence um pouco a cada uma dessas pessoas que, direta ou indiretamente, contribuíram para a sua realização. Sendo assim, gostaria de demonstrar toda a minha gratidão:

Primeiramente, agradeço a Deus. Obrigada por tudo, obrigada por tanto meu Deus!

Agradeço à minha família, em especial aos meus pais. À minha mãe Clarice, pelas preciosas orações. Ao meu pai, pelo seu exemplo e herança de simplicidade. A vocês, meu eterno amor.

À minha orientadora Dra. Júlia, por ter me acolhido quando timidamente “bati em sua porta”. Agradeço por toda paciência e perseverança transmitida ao longo das dificuldades, por todo incentivo e ensinamentos e principalmente, por ser um exemplo de profissional e ser humano. Sou muito grata!

Aos coorientadores: Dra. Adriana Terumi Itako, Dr. Luciano Gebler e Dr. João Batista Tolentino Júnior, por terem aceito este desafio e terem estado dispostos a permanecer até o final (apesar dos acontecimentos).

As amizades que fiz ao longo desses dois anos e pelas acolhidas nos mais diferentes espaços. Especialmente aos colegas do grupo de estudo NECOTOX, por todo o suporte e companhia na execução dos experimentos. A amiga Dara, por dividir a moradia, as risadas e as angústias do mestrado.

Aos servidores da UFSC Campus Curitibanos, pela presteza e disponibilidade durante a elaboração das atividades.

Às empresas parceiras pelo auxílio através da doação de materiais para a execução do projeto.

Ao Programa de Bolsas da Petrobras, pela concessão da bolsa de estudo que possibilitou minha dedicação exclusiva a este trabalho.

Por fim, registro aqui minha gratidão a todos que de alguma forma contribuíram durante esta jornada. Obrigada por permitirem que esta dissertação se tornasse realidade.

Minha eterna gratidão.

“Ora et labora, Deus adest sine mora.”

“Reze e trabalhe, Deus se apresenta sem demora” (São Bento).

RESUMO

A presente dissertação é composta de três capítulos sob o emprego do sistema *Biobed* e suas potencialidades. O primeiro capítulo, baseado em uma revisão narrativa, discute abordagens alternativas para obter um cenário mais completo sobre o emprego dos sistemas *Biobeds* a nível mundial. Essas abordagens incluem a utilização de materiais alternativos, escopo de produtos testados além da verificação da eficiência, incluindo ensaios complementares para determinar o grau de desintoxicação alcançado. O segundo e terceiro capítulo avaliaram o emprego de um sistema *Biobed* piloto (composto por materiais alternativos), para avaliar seu comportamento e toxicidade após a simulação do derramamento acidental (pior cenário ambiental) do inseticida organofosforado Suprathion 400 EC (metidationa). Neste escopo, o segundo capítulo realizou amostragens do sistema para avaliação da comunidade fúngica, com base no método de Contagem de Unidades Formadoras de Colônia (UFC). O terceiro capítulo estendeu a avaliação da toxicidade baseada em ensaios ecotoxicológicos com organismos não-alvo (colêmbolos e enquitreídeos). Os resultados do primeiro capítulo indicam que o emprego dos sistemas *Biobeds* podem auxiliar no processo de atenuação dos impactos provocados por agrotóxicos e, na melhor das hipóteses, quando as características do sistema aliado ao cenário favorável dos fatores abióticos e bióticos, os resultados podem alcançar a degradação em sua totalidade. Entre as demandas abordadas, pode-se destacar o carência de estudos em condições reais, como complemento aos resultados obtidos em fase laboratorial além da demanda sistemas capazes de operar em grande escala. Tendo em vista os resultados dos capítulos dois e três, que apontaram respectivamente: i) a acícula de pínus resultou em um material lignocelulósico satisfatório para o estabelecimento das comunidades fúngicas; ii) a metidationa ocasionou perturbações a microbiota; iii) O sistema apresentou elevado potencial de toxicidade aos organismos avaliados; iv) O período estipulado de 90 dias demonstrou-se insuficiente, devido a desintoxicação limitada das matrizes.

Palavras-chave: Agrotóxico; *Biobeds*; Ecotoxicologia.

ABSTRACT

This dissertation is composed of three chapters on the use of the *Biobed* system and its potential. The first chapter, based on a narrative review, discusses alternative approaches to obtain a more complete picture of the use of *Biobeds* systems worldwide. These approaches include the use of alternative materials, scope of tested products and verification of efficiency, including additional tests to determine the degree of detoxification achieved. The second and third chapters evaluated the use of a pilot *Biobed* system (composed of alternative materials), to evaluate its behavior and toxicity after the accidental spill simulation (worst environmental scenario) of the organophosphate insecticide Suprathion 400 EC (methidathione). In this scope, the second chapter carried out system sampling to evaluate the fungal community, based on the Colony Forming Units Count (CFU) method. The third chapter extended the toxicity assessment based on ecotoxicological assays with non-target organisms (springs and enchytreids). The results of the first chapter indicate that the use of *Biobeds* systems can help in the process of mitigating the impacts caused by pesticides and, at best, when the characteristics of the system combined with the favorable scenario of abiotic and biotic factors, the results can reach the degradation in its entirety. Among the demands addressed, we can highlight the lack of studies in real conditions, as a complement to the results obtained in the laboratory phase, in addition to the demand for systems capable of operating on a large scale. In view of the results of chapters two and three, which respectively pointed out: i) the pinus needle resulted in a satisfactory lignocellulosic material for the establishment of fungal communities; ii) methidathione caused disturbances to the microbiota; iii) The system showed a high potential for toxicity to the organisms evaluated; iv) The stipulated period of 90 days proved to be insufficient, due to limited detoxification of the matrixes.

Keywords: Pesticide; *Biobeds*; ecotoxicology.

LISTA DE FIGURAS

CAPÍTULO 1: EMPREGO DO SISTEMA *BIOBED*: UMA REVISÃO NARRATIVA.

Figura 1: Resumo gráfico do Sistema *Biobed*26

CAPÍTULO 2: ANÁLISES MICROBIOLÓGICAS PARA AVALIAÇÃO DO COMPORTAMENTO DA COMUNIDADE FÚNGICA EM SISTEMAS *BIOBEDS*

Figura 1: Ilustração do sistema *Biobed* implantado. Recipiente BA representa a matriz composta por acícula de pínus, palha de milho e solo. Recipiente BS representa a matriz composta exclusivamente por solo agrícola. A biomistura BA é composta por Acícula de pínus (25%), palha (50%) e solo (25%); O sistema BS é composto exclusivamente por solo agrícola.69

Figura 2: Representação do projeto de instalação dos sistemas *Biobeds* dentro da casa-de-vegetação. Cada cilindro representa uma réplica. Os tratamentos A e B são compostos pela matriz de acícula de pínus, onde um foi exposto a contaminação de metidationa e o outro foi utilizado como controle, respectivamente. Os tratamentos C e D são compostos pela matriz de solo agrícola, onde o primeiro foi exposto a contaminação de metidationa e o segundo foi utilizado como controle, respectivamente.66

Figura 3: Registro da coleta de amostras no sistema *Biobed*. A) Momento de inserção do trado em uma réplica; B) Ponto de retirada da amostra destacado entre o círculo vermelho..... 70

Figura 4: Demonstração do processo de diluição seriada..... 72

Figura 5: Demonstração do processo de verter placas.72

Figura 6: Registro do momento da simulação de derramamento acidental. Para cada uma das matrizes selecionadas, foram despejados uniformemente o volume de 1L do agrotóxico sobre a camada superficial.73

Figura 7: Imagens representando as amostragens realizadas: A) Amostragem do tempo de maturação), B) Amostragem intermediária (30 dias) e C) Amostragem final (90 dias), ambas correspondentes a matriz composta por Acícula de pínus e contaminada com metidationa; D) Amostragem do tempo de maturação, E) Amostragem intermediária (30 dias) e F) Amostragem final (90 dias), ambas correspondentes a matriz composta por solo agrícola e contaminado com metidationa.....75

CAPÍTULO 3: ENSAIOS DE ECOTOXICIDADE NA AVALIAÇÃO DA TOXICIDADE RESIDUAL DE SUPRATHION 400 EC (METIDATIONA) EM BIOBEDS

Figura 1: Registro da manutenção realizada no ensaio de reprodução de <i>Folsomia candida</i> . .	89
Figura 2: Contagem de juvenis de <i>Folsomia candida</i> no programa ImageJ®. A) Imagem original. B) Imagem pré-processada e com a aplicação dos pontos de contagem manual.....	90
Figura 3: Registro da montagem do experimento com a espécie <i>E. crypticus</i>	91
Figura 4: Contagem de indivíduos <i>E. crypticus</i> em uma lupa estereoscópica binocular.	92
Figura 5: Número de Juvenis de <i>F. cândida</i> nas matrizes Biomistura de Acícula de Pínus e Substrato solo, ao longo de 90 dias de degradação de metidationa.....	93
Figura 6: Número de Juvenis de <i>F. candida</i> nas matrizes Biomistura de Acícula de Pínus e Substrato solo, ao longo de 90 dias de degradação de metidationa.....	94

LISTA DE TABELAS

CAPÍTULO 1: EMPREGO DO SISTEMA *BIOBED*: UMA REVISÃO NARRATIVA.

Tabela 1: Resumo do tipo de solo empregado para emprego em biomistuas, com resultados promissores.....	29
Tabela 2: Resumo de substratos alternativos utilizados para <i>Biobeds</i>	33
Tabela 3: Relação dos parâmetros microbiológicos utilizados em testes microbiológicos para avaliação da eficiência de sistemas Biobeds	38

CAPÍTULO 2: ANÁLISES MICROBIOLÓGICAS PARA AVALIAÇÃO DO COMPORTAMENTO DA COMUNIDADE FÚNGICA EM SISTEMAS *BIOBEDS*

Tabela 1: Caracterização do solo agrícola utilizado para a composição das matrizes.	65
Tabela 2: Principais características do agrotóxico metidationa (Suprathion 400 EC).	67
Tabela 3: Descrição dos tratamentos empregados.....	69
Tabela 4: Período de amostragem	70
Tabela 5: Média amostral das Unidades Formadoras de Colônias para cada tratamento ao longo do experimento (10 ⁻² UFC g ⁻¹)	77

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ABNT Associação Brasileira de Normas Técnicas

ARE Avaliação de Risco Ecológico

BAC Biomistura de Acícula Contaminada

BANC Biomistura de Acícula Não-contaminada

BOD Biochemical Oxygen Demand

BPA Boas Práticas Agrícolas

BSC Biomistura de Solo Contaminada

BSNC Biomistura de Solo Não-contaminada

ISO International Organization for Standardization

KOC Constante de sorção normalizado para o teor de carbono orgânico

m² Metro quadrado

mL: Mililitro

OECD Organization for Economic Co-operation and Development

SAT Solo Artificial Tropical

UFSC Universidade Federal de Santa Catarina

US-EPA United States Environmental Protection Agency

UFC Unidades Formadores de Colônias

SUMÁRIO

INTRODUÇÃO GERAL	16
REFERÊNCIAS	19
CAPÍTULO 1	20
1 REFERENCIAL TEÓRICO	21
1.1 AGROTÓXICOS E CONTAMINAÇÃO AMBIENTAL PONTUAL	21
1.2 SISTEMA <i>BIOBED</i> : ALTERNATIVA PARA DESTINAÇÃO DE EFLUENTES	24
1.2.1 COMPOSIÇÃO DA BIOMISTURA	26
1.2.1.1 Componente solo	27
1.2.1.2 Componente lignocelulósico	31
1.2.1.3 Componente húmico	32
1.2.1.4 Emprego de materiais alternativos	32
1.3 FATORES ABIÓTICOS	35
1.3.1 Umidade	35
1.3.3 Carga hidráulica	36
1.4 FATORES BIÓTICOS	37
1.4.1 Comunidades microbianas	37
1.5 ENSAIOS PARA MONITORAMENTO E AVALIAÇÃO	39
1.5.1 Ensaios ecotoxicológicos	39
1.5.2 Ensaios de Ecotoxicidade	40
1.6 PRINCIPAIS PRODUTOS AVALIADOS- ESCOPO DE APLICAÇÃO	43
1.7 USO DO SISTEMA <i>BIOBEDS</i> EM APLICAÇÕES ALTERNATIVAS: TRATAMENTO DE RESÍDUOS FÁRMACOS	45
2 CONCLUSÃO	47
REFERÊNCIAS	48
CAPÍTULO 2	60
RESUMO	61
1 INTRODUÇÃO	63
2 MATERIAIS E MÉTODOS	64
2.1 LOCALIZAÇÃO DA ÁREA DE EXPERIMENTO	64
2.2 OBTENÇÃO DOS MATERIAIS E MONTAGEM DO SISTEMA	65

2.4 METIDATIONA (SUPRATHION 400 EC)	67
2.4 DELINEAMENTO EXPERIMENTAL	68
2.5 REALIZAÇÃO DAS AMOSTRAGENS	70
2.6 AVALIAÇÃO MICROBIOLÓGICA	71
2.7 CONTAMINAÇÃO COM METIDATIONA (SUPRATHION 400 EC)	73
2.8 ANÁLISE ESTATÍSTICA	73
3. RESULTADOS E DISCUSSÃO	74
3.1 CRESCIMENTO E CONTAGEM DE FUNGOS	74
5 CONCLUSÕES	78
REFERÊNCIAS	79
CAPÍTULO 3	83
RESUMO	84
1 INTRODUÇÃO	86
2 MATERIAIS E MÉTODOS	87
2.1 AMOSTRAS	87
2.2 ORGANISMOS TESTE E CONDIÇÕES DOS ENSAIOS	88
2.2.1 Reprodução de <i>Folsomia candida</i>	88
2.2.2 Reprodução de <i>Enchytraeus crypticus</i>	90
2.3 ANÁLISE DOS DADOS	92
3. RESULTADOS	92
3.1 BIOMISTURA DE ACÍCULA X SUBSTRATO SOLO	92
3.1.1 Validação dos ensaios	92
3.1.2 Ensaios de reprodução com colêmbolos	93
3.1.3 Ensaios de reprodução com enquitreídeos	94
4. DISCUSSÃO	94
5 CONCLUSÃO	97
REFERÊNCIAS	98

INTRODUÇÃO GERAL

A Revolução Verde se caracterizou como um processo de expansão no setor agrícola, de caráter ideológico que ocorreu principalmente entre 1960 e 1970. Este modelo incentivou a adoção de novas tecnologias no intuito de promover melhorias nos sistemas de produção e aumento da produtividade (BEAUD 1994; BRUM 1988; SHIVA, 2003).

Embora tenha surgido com no intuito de combater a fome e auxiliar na segurança alimentar, a Revolução Verde no contexto espaço geográfico mundial resultou em diversos impactos de ordem ambiental, econômica e social (GONÇALVES, 2004). Através dela, aumentou-se significativamente o uso de agrotóxicos no campo. Estes produtos químicos são utilizados com o objetivo de combater pragas. E apesar de serem considerados essenciais ao cultivo agrícola pelo fato de proporcionar aumento da produção, provocam também grandes efeitos associados a degradação ambiental.

Entre os compartimentos ambientais afetados, o solo pode ser considerado diretamente impactado pelo uso de agrotóxicos. A ocorrência de emissões fixas/pontuais, em consequência do descarte inadequado de resíduos de agrotóxicos, como restos de calda e efluentes oriundos da lavagem de pulverizadores (FOGG et al., 2003; RODRÍGUEZ-RODRÍGUEZ et al., 2018) ocasionam a contaminação ambiental. A ocorrência destas emissões, expõe o risco potencial de toxicidade e persistência destes produtos, causando efeitos indesejáveis à saúde humana e ao meio ambiente, além de poder atingir espécies de organismos não-alvo, comprometendo os serviços ecossistêmicos (CAMPANHOLA e BETTIOL, 2003).

Na tentativa de remediar este cenário de desequilíbrio dentro dos sistemas produtivos, a implementação de boas práticas agrícolas pode ser uma excelente ferramenta mitigadora. Evitar a transferência de agrotóxicos e sua contaminação para o meio ambiente é um grande desafio. Ainda assim, é possível realizar ações que possibilitem a coleta e retenção de efluentes agrícolas produzidos para posterior tratamento. O sistema *Biobed* foi originalmente desenvolvido na Suécia (TORSTENSSON e CASTILLO, 1997) com o propósito de receber e tratar efluentes residuais de agrotóxicos. Sua constituição é baseada em uma combinação de substratos (biomistura) que promove a adsorção e a degradação dos compostos químicos (VISCHETTI; MONACI; CASUCCI; BERNARDI; CARDINALI, 2020). Devido sua simplicidade e baixo custo, estes sistemas foram expandindo-se para outros territórios onde ganharam diversas adaptações em sua estrutura (CASTILLO et al. 2008).

Devido apresentar um custo benefício satisfatório, determinados países e/ou órgãos ambientais passaram a recomendar o emprego deste sistema como método alternativo para o tratamento de efluentes de agrotóxicos dentro de propriedades agrícolas (RISE, 2020). No entanto, diversas localidades ainda não possuem conhecimento técnico suficiente para sua implantação ou recomendação. Neste sentido, é necessário um melhor entendimento sobre o desempenho dos sistemas *Biobeds*.

Esta dissertação teve como objetivo principal avaliar a capacidade de um sistema *Biobed* piloto na redução da toxicidade do agrotóxico Suprathion 400 EC (metidationa). Esta dissertação está vinculada ao Programa de Pós-graduação em Ecossistemas Agrícolas e Naturais (PPGEAN), da UFSC, Campus de Curitibanos, o qual possui foco na manutenção da biodiversidade, na avaliação de impactos ambientais e na conservação dos recursos naturais, temas nos quais o sistema *Biobed* vem a contribuir. Esta dissertação está estruturada em três capítulos:

Capítulo 1. Emprego do sistema *Biobed*: referencial teórico.

Capítulo 2. Análises microbiológicas para avaliação do comportamento da comunidade fúngica em sistemas *Biobeds*

Capítulo 3. Ensaio de ecotoxicidade na avaliação da toxicidade residual de Suprathion 400 EC (metidationa) em *Biobeds*

O objetivo do capítulo 1 consistiu em realizar uma revisão de literatura a fim de resumir as evidências disponíveis sobre o funcionamento e desempenho deste sistema a nível mundial. A hipótese foi de que, por meio da análise das metodologias utilizadas e o levantamento de possíveis lacunas técnicas e normativas, as quais geram divergências e insegurança para a utilização deste sistema, seria possível obter um melhor entendimento com base científica para recomendar ou não os *Biobeds* para as propriedades agrícolas brasileiras.

Para os capítulos 2 e 3, implementamos um sistema piloto, usando biomistura de materiais alternativos e solo natural, com o objetivo de avaliar o desempenho do sistema frente a um evento de derramamento acidental (pior cenário ambiental) do inseticida organofosforado Suprathion 400 EC (metidationa). As hipóteses foram: 1) o sistema *Biobed* apresenta potencial de redução da ecotoxicidade de efluentes do agrotóxico Suprathion 400 EC (metidationa); 2) o uso da biomistura apresentaria vantagem sobre o uso de apenas solo natural para a promoção da comunidade microbiana e redução da ecotoxicidade. Para tanto,

foram avaliadas as colônias de fungos presentes, além da ecotoxicidade do substrato usando ensaios com organismos não-alvo (colêmbolos e enquitreídeos).

REFERÊNCIAS

- CAMPANHOLA, C.; BETTIOL, W. Métodos alternativos de controle fitossanitário. Jaguariúna, SP: Embrapa Meio Ambiente, 2003.
- DIAS, Letícia de A, *et al.* Destino de resíduos de pesticidas em camas biológicas: estado da arte e perspectivas futuras na América Latina. *Chemosphere* 2020, 248, 126038.
- FOGG, P.; BOXALL, A. B. A.; WALKER, A.; JUKES, A. Pesticide degradation in a *Biobed* composting substrate. *Pest Management Science*, v. 59, n. 5, p. 527-537, May/2003.
- GEBLER, L. **Sistema *Biobed* Brasil:** Tecnologia para Disposição Final de Efluentes Contaminados com Agrotóxicos Originados na Produção de Frutas de Clima Temperado. Bento Gonçalves: Embrapa Uva e Vinho, 2015, 47p. (EMBRAPA UVA E VINHO. Documentos: 94).
- RISE- RESEARCH INSTITUTES OF SWEDEN. ***Biobeds***. Disponível em <http://Biobeds.net/en/about-us-2/>. Acesso em: 26 set. 2021.
- RODRÍGUEZ-RODRÍGUEZ, C. E.; CASTRO-GUTIÉRREZ, V.; LIZANO-FALLAS, V. Alternative approaches to determine the efficiency of biomixtures used for pesticide degradation in biopurification systems. In: BIDOIA, E. D.; MONTAGNOLLI, R. N. Toxicity and biodegradation testing: Methods in pharmacology and toxicology. Springer Science+Business Media, 2018. DOI 10.1007/978-1-4939-7425-2.
- SANCHEZ-BAYO, F.; HYNE, R.V. Comparison of environmental risks of pesticides between tropical and nontropical regions. *Integrated Environmental Assessment and Management*. v. 7, p. 577-586, 2011.
- TORSTENSSON, Lennart. CASTILLO, Maria. del Pilar. Use of *Biobeds* in Sweden to minimize environmental spillages from agricultural spray equipment *Pesticide.*, p. 24-27, 1997.
- VISCHETTI, Costantino; MONACI, Elga; CASUCCI, Cristiano; BERNARDI, Arianna de; CARDINALI, Alessandra. Adsorption and Degradation of Three Pesticides in a Vineyard Soil and in an Organic Biomix. *Environments*, [S.L.], v. 7, n. 12, p. 113, 16 dez. 2020. MDPI AG. <http://dx.doi.org/10.3390/environments7120113>.

CAPÍTULO 1

EMPREGO DO SISTEMA *BIOBED*: REFERENCIAL TEÓRICO

1 REFERENCIAL TEÓRICO

1.1 AGROTÓXICOS E CONTAMINAÇÃO AMBIENTAL PONTUAL

Segundo a Food and Agriculture Organization (FAO), Programa da Organização das Nações Unidas (ONU) responsável pelas áreas de agricultura e alimentação, os agrotóxicos são produtos que podem ser definidos como:

Qualquer substância, ou mistura de substâncias, usadas para prevenir, destruir ou controlar qualquer praga – incluindo vetores de doenças humanas e animais, espécies indesejadas de plantas ou animais, causadoras de danos durante (ou interferindo na) a produção, processamento, estocagem, transporte ou distribuição de alimentos, produtos agrícolas, madeira e derivados, ou que – ou que deva ser administrada para o controle de insetos, aracnídeos e outras pestes que acometem os corpos de animais de criação (FAO, 2003).

Estes produtos englobam uma vasta gama de substâncias químicas desenvolvidas para o controle de pragas (animais e vegetais) e doenças de plantas. Sua utilização não se limita apenas a agricultura, sendo também usados para controlar pragas domésticas, insetos vetores de doenças, jardinagem doméstica, dentre outros (ANVISA, 2019).

Tão grande quanto sua empregabilidade é a discussão sobre a nomenclatura correta dessa gama de produtos. No contexto mundial, possuem uma ampla variação nominal, podendo ser encontrados além de agrotóxicos também pela denominação de agroquímicos, defensivos agrícolas, praguicidas, pesticidas, dentre outros (FUNDACENTRO, 1998). Na literatura internacional, como a exemplo da língua inglesa, este grupo de substâncias/ produtos químicos é comumente encontrado pela denominação de pesticida (*pesticide*). No Brasil, o termo oficialmente adotado é agrotóxico, instituído pela Lei nº 7.802/89 (BRASIL, 1989). Sendo assim, neste trabalho optou-se por utilizar a denominação exposta na legislação brasileira vigente – agrotóxicos – por considerarmos que esse termo seja o mais adequado e didático para descrever as características do produto em questão.

Outro aspecto merecedor de destaque é que para que seja garantido a eficiência da empregabilidade desses produtos bem como a mitigação de possíveis danos ao meio ambiente é necessário que, entre outros fatores, estes insumos sejam utilizados de forma criteriosa, seguindo as recomendações técnicas disponibilizadas por meio da bula, receituário técnico além de órgãos reguladores (CHAIM, 2009).

O uso inadequado de agrotóxicos representa uma grave contaminação ambiental. Em termos gerais, um dos compartimentos mais diretamente afetado é o solo. Uma vez incorporado ao solo, a interação do agrotóxico é bastante dinâmica e intervêm de diversos processos como físico, químico, microbiológico, dentre outros (NAVARRO *et al.*, 1992; NAVARRO e BARBA, 1996).

A presença de agrotóxicos em solos agrícolas pode ser originária de diversas fontes, como por exemplo fontes difusas ou pontuais. A contaminação difusa representa o lançamento de contaminantes em uma área extensa e variável no tempo. Deste modo não possui um local específico, o que acaba dificultando a identificação, o monitoramento e controle de seus poluentes. A sua ocorrência pode surgir durante a aplicação de produtos, por meio da difusão no ar, escoamento superficial ou lixiviação dos compostos, que podem apresentar agravamentos significativos durante eventos de precipitação. A contaminação pontual denota do lançamento da carga poluidora de forma concentrada em determinado local. Pode ocorrer de derramamentos acidentais, manuseio dos recipientes além de águas residuais oriundas da lavagem de equipamentos agrícolas ou embalagens, postos de coletas de embalagens ou indústrias agroalimentares (SILVA *et al.*, 2005; GEBLER, 2015; VEIGA, 2017; PAPA ZLATANI, *et al.*, 2019). Geralmente, esta fonte é mais perceptível de ser identificada devido seu maior volume concentrado no ambiente.

Diversos estudos apontam a gravidade decorrente de fontes de poluição pontual. Estudos realizados por Huber *et al.* (2000) e Fogg *et al.* (2003) relataram que esta fonte pode ser mais danosa quando comparada a contaminação difusa. Wilde (2007) relatou que as maiores concentrações de agrotóxicos foram encontradas em áreas de uso frequente, na qual ocorriam derramamentos de agrotóxicos como as áreas de mistura ou enchimento de pulverizadores. Além deste, outros estudos mais recentes também relataram altas concentrações de resíduos de agrotóxicos nesses locais (KRAVVARITI, TSIROPOULOS e KARPOUZAS, 2010; KARANASIOS *et al.*, 2012) comprovando que a fonte pontual é uma das causas dominantes da poluição por agrotóxicos.

A contaminação de agrotóxicos tende a persistir no meio ambiente quando não empregados tecnologias adequadas para seu tratamento ou mitigação (KAJITVICHYANUKUL, 2022). Deve-se destacar que a atividade agrícola possui uma diferença importante em relação aos demais segmentos, pois ela depende fortemente dos recursos naturais e dos processos biológicos. Sendo assim, os resultados da atividade agrícola

estão relacionados também à qualidade das diversas decisões dos agricultores, como a adoção das Boas Práticas Agrícolas. À vista disso, a agricultura a nível global está buscando novos métodos tecnológicos para suprir a demanda ocasionada pelo aumento do consumo de agrotóxicos e conseqüentemente do volume de águas residuárias geradas além da gestão e destinação de forma ambientalmente correta.

O grande desafio consiste em buscar tratamentos viáveis, que sejam capazes de contemplar o volume gerado que dependendo da situação pode ser de ocorrência sazonal, apresentar variações nas propriedades e toxicidade além do custo operacional. As tecnologias mais difundidas para os tratamentos convencionais de águas residuais, não são eficientes na remoção de contaminantes emergentes, como os agrotóxicos. Sendo assim, são necessárias técnicas mais aprimoradas ou com etapas complementares que sejam eficientes para estes produtos. A este exemplo, podemos citar como tratamentos empregados na remoção de agrotóxicos a oxidação, degradação biológica (ÜNDEĞER e BAŞARAN, 2005), a adsorção (SUD e KAUR, 2012) além de métodos mais sofisticados como a exemplo do tratamento térmico, a nanotecnologia, osmose reversa, processos oxidativos avançados (POA), dentre outros.

O tratamento térmico, também conhecido como incineração é um método de destinação final legalmente amparado no Brasil pelo CONAMA (Conselho Nacional do Meio Ambiente), através de suas portarias para embalagens não laváveis de agrotóxicos e também recomendado para lotes de embalagens de defensivos agrícolas que não foram devidamente lavadas durante o processo da “tríplice lavagem” (técnica descrita na Norma técnica NBR 13968). Durante o processo de incineração, os resíduos são queimados em câmaras especiais que geram temperaturas superiores a 800° C (Celsius). Os gases provenientes da incineração são submetidos à etapa conhecida como “*afterburner*”, que realiza a sua purificação com cal hidratada, carvão ativado e filtros de manga antes de lançá-los na atmosfera. De acordo com Rocca et al., 1993 a incineração pode ser considerada a melhor solução para os problemas ambientais ocasionados pela disposição inadequada de resíduos tóxicos não degradáveis, e altamente persistentes ao meio ambiente e não passíveis de outras formas de tratamento. Dentre as vantagens deste método, está a redução do volume original de resíduos, o controle de emissões atmosféricas e contaminações ambientais, além da segurança jurídica/conformidade com leis e normas técnicas vigentes.

A osmose reversa é um processo baseado em membranas empregados para despoluir águas residuais de fontes não tradicionais, como a exemplos de água salgada, efluentes de tratamentos secundários bem como de contaminantes emergentes como os agrotóxicos (BALABANIC, 2010; RODRIGUEZ et al., 2015; SILVA et al., 2016). O método consiste na separação por membrana utilizada quando se deseja reter solutos de baixa massa molar, tais como sais orgânicos ou pequenas moléculas orgânicas. As membranas para esse processo são mais “fechadas” (poros menores) apresentando, portanto, uma maior resistência à permeação e, conseqüentemente, pressões de operação mais elevadas do que as utilizadas na microfiltração, ultrafiltração e nanofiltração (HABERT *et al.*, 2006).

Todas as tecnologias apresentadas demonstram eficiência para o processo de tratamento de águas residuais com agrotóxicos. No entanto, o que muitos dos autores não abordam é relacionado a viabilidade da implantação destes sistemas de tratamento dentro de uma propriedade agrícola. Por diversas vezes a infraestrutura necessária para sua operação aliada ao alto custo operacional, dificulta ou mesmo inviabiliza seu uso dentro das propriedades agrícolas. Atualmente, encontram-se disponíveis empresas prestadoras de serviços, que são especializadas na coleta, tratamento e disposição final destes resíduos. No entanto, a grande maioria concentra-se em regiões urbanas ou parques industriais. Quando se analisa a localização da grande maioria das propriedades agrícolas, nota-se que estes empreendimentos agrícolas geralmente estão localizados em área interioranas e subdesenvolvidas, onde a questão logística acaba por ser um fator limitante. Aliado a isso, há ainda a adversidade relacionada a inclusão de mais um custo indireto no somatório dos custos de produção, que pode ocasionar a inviabilização econômica de determinadas atividades.

Nestas circunstâncias, é mais viável e prudente é a busca de tecnologias que possam ser empregadas porteira a dentro. O reator modelo *Biobed* apresenta notoriedade neste quesito, devido ser uma tecnologia relativamente simples e economicamente viável, que possibilita ser instalado em regiões rurais, com baixo custo e operacionalmente simplificado (COPPOLA; CASTILLO; VISCHETTI, 2011).

1.2 SISTEMA *BIOBED*: ALTERNATIVA PARA DESTINAÇÃO DE EFLUENTES

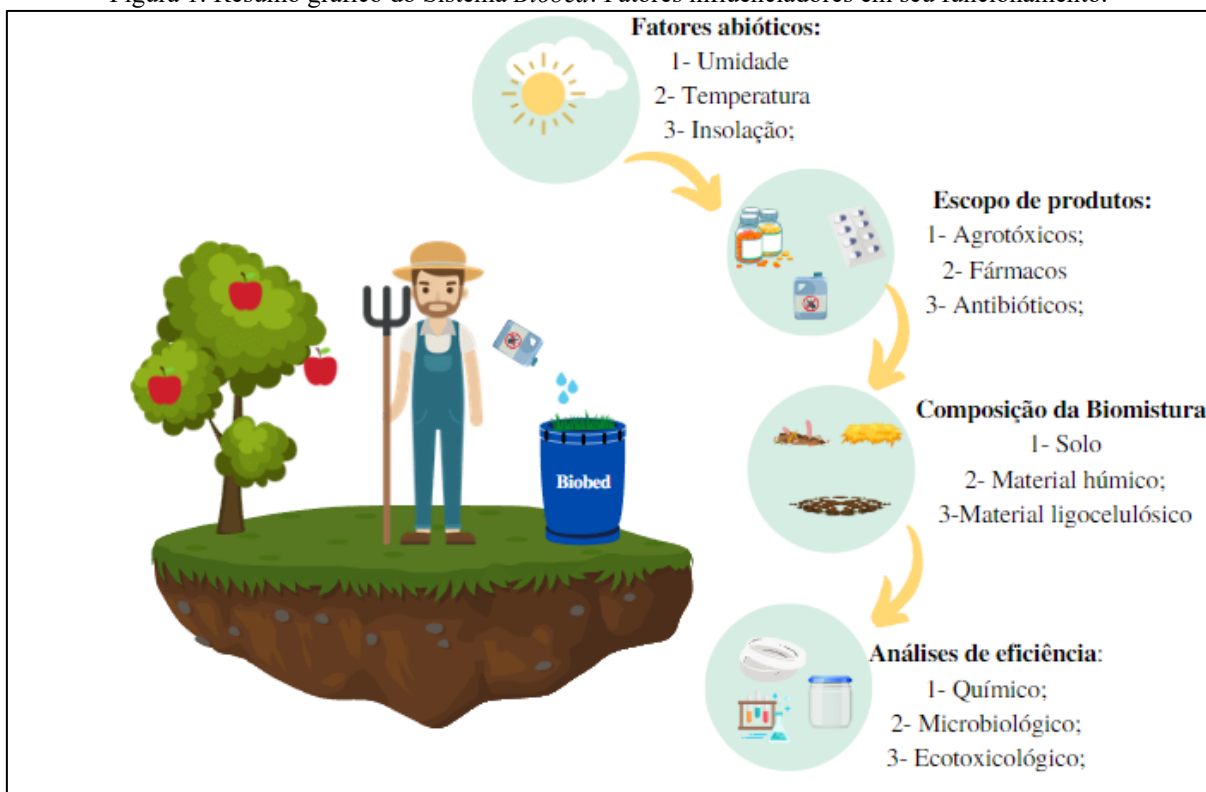
À medida que o ocorre a presença da contaminação por agrotóxicos no meio ambiente, é imprescindível criar mecanismos de gestão dentro das propriedades. Uma adoção

estratégica, que integra as vertentes ambientais, sociais e econômicas são as Boas Práticas Agrícolas. De acordo com Masís-Mora et al. (2020), a implementação de processos, tais como sistemas de tratamento adequados podem mitigar a poluição pontual por agrotóxicos, reduzindo assim os danos ao meio ambiente.

O tratamento porteira a dentro (também denominado *in situ*) pode ser uma alternativa viável na prevenção de contaminação ambiental pontual. Em conformidade a isso, um exemplo de destaque é a adoção dos leitos biológicos denominados *Biobeds*. Esta proposta consiste em dispor os resíduos de agrotóxicos gerados durante as atividades, como manuseio do produto, lavagem de máquinas e embalagens, sobras de caldas e formulações (com baixas concentrações ou diluídas), dentre outros.

O primeiro sistema foi desenvolvido por Torstensson e Castillo (1997) na Suécia em 1993. Sua formação original consistia numa escavação no solo, preenchida com uma mistura de palha, turfa e solo agrícola (proporção 2:1:1, onde era plantada uma cobertura vegetal. A sua eficiência consiste da conciliação de diversos processos abióticos (adsorção, degradação química) e bióticos (degradação microbiana) que ocorrem dentro da mistura de materiais, a denominada- biomistura (TORSTENSSON e CASTILLO, 1997). Na Figura 1 é possível observar o resumo gráfico do sistema *Biobed*.

Figura 1: Resumo gráfico do Sistema *Biobed*: Fatores influenciadores em seu funcionamento.



Fonte: A autora (2022).

Devido sua simplicidade e baixo custo, estes sistemas foram expandindo-se para outros países onde ganharam adaptações, como por exemplo o Biofiltro (desenvolvido na Bélgica), leito de biomassa (Itália), *Phytobac* e *Biobac* (utilizados na França), *Biotable* (Guatemala), *Heliose* e *Biomassbed*. No Brasil, a adaptação do sistema foi realizada pela Embrapa Uva e Vinho, com o nome de “*Biobed* Brasil” (GEBLER *et al.*, 2015). Deve-se salientar que estas modificações ocorrem, baseadas na quantidade de resíduos de agrotóxicos a serem tratados, o terreno disponível para instalação, condições ambientais, substratos disponíveis, dentre outros.

1.2.1 COMPOSIÇÃO DA BIOMISTURA

Na projeção do sistema *Biobed*, um dos principais aspectos a serem considerados refere-se à seleção dos materiais que irão compor a biomistura. Estes, são componentes estratégicos, que dentre as diversas funções estabelecidas, possuem relação direta com o desenvolvimento da atividade e a versatilidade dos microrganismos responsáveis pela degradação dos agrotóxicos, processos de adsorção, dentre outros (CASTILLO *et al.*, 2008;

KARANASIOS *et al.*, 2010; DIEZ *et al.*, 2013). Originalmente, eram selecionadas três classes de materiais para compor a biomistura, que possuísem propriedades lignocelulósicas, húmicas além de servirem como fontes de microrganismos. Com o avanço das pesquisas, novos materiais vêm sendo testados no intuito de substituir ou otimizar esta composição. Considerando assim, a relevância deste tópico, descrevemos na sequência uma síntese de cada componente e as orientações necessárias para a construção de um sistema *Biobed*.

1.2.1.1 Componente solo

Conforme Castillo e Torstensson (2008) o solo é selecionado devido suas diversas características e propriedades, que auxiliam a biomistura na capacidade de sorção, promoção da atividade microbiana, dentre outros. Originalmente, a porção de solo utilizada corresponde a 25% do volume total da biomistura. Para a obtenção deste solo, geralmente são selecionados locais com bons precedentes, ricos de matéria orgânica e microbiota. Para uma melhor definição, recomenda-se extrair as porções da primeira camada de solo (20 cm da superfície da terra).

Convém ressaltar que alguns atributos do solo devem ser levados em consideração, tais como:

- A textura do solo;
- A porcentagem de argila;
- O pH do solo;
- A presença de matéria orgânica;

A respeito dos itens apresentados, diversos autores destacam que o teor de argila não deve ser de uma proporção elevada, devido a possibilidade de influenciar na biodisponibilidade dos agrotóxicos além dificultar a homogeneização da biomistura, criando caminhos de fluxo preferenciais e afetando a movimentação do contaminante (CASTILLO, TORSTENSSON e STENSTROM, 2008; JEREZ *et al.*, 2013; MENDES, *et al.*, 2019; ROMERO, DELGADO-MORENO e NOGALES, 2019). Além disso, vários pesquisadores observaram que o pH desempenha um papel importante nas propriedades de adsorção de

compostos com grupos funcionais ácidos no carvão ativado e no solo, porque as formas neutra e iônica exibem um comportamento de adsorção muito diferente (DIEZ et al., 1999; DIVINCENZO e SPARKS, 2001; HYUN e LEE, 2004). Outro aspecto destacado, refere-se ao percentual de matéria orgânica (LÓPEZ-PIÑEIRO et al., 2013; BONFLEUR et al., 2015; TEJADA e BENÍTEZ, 2017). Além de aumentar a atividade microbológica dos solos, ela também acelera os processos de biodegradação de agrotóxicos (GÓMEZ et al., 2014).

Além das observações já feitas, é interessante destacar a utilização de solos de origem agrícola. Diversos estudos avaliaram o emprego de diferentes solos na formulação de matrizes, que geralmente solos que tenham sido pré-expostos a agrotóxicos, tais como os solos agrícolas, podem representar uma abundante fonte de microrganismos, que apresentam maior capacidade de degradação de agrotóxicos (CASTILLO, TORSTENSSON e STENSTRÖM, 2008). Na Tabela 1 é possível observar uma síntese de estudos que aplicaram uso do solo agrícola.

Tabela 1: Exemplos de alguns estudos empregando em sua biomistura solo agrícola, com respectivos produtos testados, períodos e resultados alcançados.

Solo natural ou sem histórico de aplicação dos agrotóxicos selecionados					
Tipo de solo	Composição da biomistura	Produtos testados	Período de avaliação	Resultados	Referência
Andisol Freire (27,4% argila, 18% Matéria Orgânica)	Solo, palha e turfa	Diazinon	90 dias	Alta degradação	Tortella <i>et al.</i> (2014)
Solo arenoso argiloso (9,2% argila, 2,7% Matéria orgânica).	Cortiça, palha e pinho	Terbutilazina, Difenconazol, Diflufenicano e Pendimetalina	120 dias	Os resíduos de cortiça apresentaram maior capacidade de degradação.	Pinto <i>et al.</i> (2016)
Solo sem histórico de aplicações dos agrotóxicos estudados. *	Fibra de coco, composto e solo	Triazina e clorpirifós	60 dias	A remoção final foi semelhante no solo e na biomistura.	Lizano-Fallas <i>et al.</i> (2017)
Solo agrícola e/ou solo pré-exposto aos agrotóxicos selecionados					
Andisol (17% argila e 1,6% Matéria Orgânica)	Solo, palha e turfa	Isoproturon, linuron, metamitron, metabenzthiazuron, metribuzina, cloridazona e terbutilazina	90 dias	Alta remoção do agrotóxico	Tortella <i>et al.</i> (2020)
Cambissol*	a) Solo, palha e turfa; b) Solo e vermicomposto; c) solo e serrapilheira	Fosmete (Imidan)	90 dias	Alta remoção do agrotóxico	Dias <i>et al.</i> (2021)
Dois solos distintos do Uruguai*	Farelo de cereais, turfa e solo	Clorpirifós e TCP	80 dias	Ambas as matrizes apresentaram o mesmo padrão de degradação.	Rivero <i>et al.</i> (2020)
Argiloso (62,5% argila), Sandy (2,5% argila) e Marga Siltosa (14,3% argila)	Bagaço de cana-de-açúcar, turfa e solo	Lindano	80 dias	A biomistura formulada com solo franco-siltoso e inoculada com um consórcio microbiano demonstrou melhor comportamento.	Saez <i>et al.</i> (2018)
Orthic Solonchaks*	Solo agrícola e palha	Carbofurano, 2,4-D, Diazinon, Glifosato e Atrazina	50 dias	Dissipação chegou a 99% dos agrotóxicos.	Córdova-Méndez <i>et al.</i> (2021)
Solo franco-argiloso (areia	Solo agrícola, turfa, bagaço de	Carbofurano	65 dias	Composta de fibra de coco-composto-	Chin-Pampillo

40%, lodo 27%, argila 33%)	cana, fibra de coco, casca de arroz e lascas de madeira			solo	<i>et al.</i> (2015)
Franco arenoso (15,9 % de argila), argila (44,3% de argila) e argila siltosa (40,6% de argila)	Solo, composto e palha de trigo	Isoproturon, clorotalonil, dimetoato, mecoprop, metsulfuron-metil	100 dias	Todos os pesticidas foram retidos nos 10 cm superiores. Após 4 meses >98% do pesticida foi dissipado.	Fogg <i>et al.</i> (2004)

*Sem maior detalhamento. Fonte: A autora (2021).

Analisando as opiniões de diversos autores, pode-se observar que em sistemas que utilizaram solos oriundos de campos agrícolas, houve mudanças positivas como o aumento da ocorrência da degradação e conseqüentemente uma remoção mais acelerada dos agrotóxicos dentro do sistema *Biobed*. Neste sentido, vale destacar o estudo realizado por Tortella et al. 2014, demonstrou que após três exposições sucessivas a Atrazina, a matriz do *Biobed* apresentou alta capacidade de dissipação, atingindo percentuais de 87%, 93% e 96%, respectivamente. Foi relatado que a meia-vida deste composto foi reduzida após cada aplicação, indicando uma possível adaptação das comunidades microbianas à presença do agrotóxico.

1.2.1.2 Componente lignocelulósico

A presença do substrato lignocelulósico na biomistura corresponde a cerca de 50% da composição da biomistura original. Por meio deste componente é possível promover a atividade microbiana, que atua como meio de crescimento e subsidiando a colonização e atividades enzimáticas de bactérias e fungos capazes de degradar agrotóxicos. Entre as vantagens de seu emprego, pode-se citar a disponibilidade nas propriedades agrícolas, a persistência e sua lenta degradação permitindo o fornecimento contínuo de carbono, energia e nutrientes sem a necessidade de acréscimos frequentes. No entanto, a porcentagem deste material afeta o tipo de atividade microbiana que se desenvolve. Os materiais orgânicos com um conteúdo pequeno ou inexistente de lignina ou alto nível de nitrogênio podem não suportar atividade microbiana suficiente para a degradação de pesticidas e seus metabólitos (CASTILLO, TORSTENSSON e STENSTRÖM, 2008).

O emprego de materiais lignocelulósicos adequados é crucial para o favorecimento do processo de imobilização para realizar a biodegradação de contaminantes (DZIOANEK *et al.*, 2016). Entre os materiais, a palha tem sido amplamente utilizada nas biomisturas. Além de fornecer o suporte para a microbiota, ela atua como suporte físico para o estabelecimento destas comunidades e garante a aeração devido ao tamanho dos fragmentos de palha. Outros materiais lignocelulósicos já utilizados para a construção de *Biobeds* foram o bagaço de cana (ROFFIGNAC *et al.*, 2008; CHIN-PAMPILLO *et al.*, 2015) e a fibra de coco (CHIN-PAMPILLO *et al.*, 2015; LIZANO-FALLAS *et al.*, 2017) Após o estabelecimento dos fungos no substrato, o *Biobed* recebe o resíduo de agrotóxico e este passa a ser a principal fonte de carbono para os organismos (CASTILLO, TORSTENSSON e STENSTRÖM, 2008; TORTELLA *et al.*, 2012).

Um estudo realizado por Castillo e Torstensson (2008), destacou que a atividade microbiana das biomisturas esteve diretamente relacionada a presença da palha no sistema. Foram observadas correlações positivas entre a palha, a respiração e teor de fenoxidase. Estes indícios certificam que a palha garante maior fluxo de oxigênio e um fornecimento contínuo de nutrientes, elevando a atividade microbiana.

1.2.1.3 Componente húmico

O componente humificado corresponde a 25% da composição da biomistura. Sua principal funcionalidade é contribuir para o controle da umidade, capacidade de absorção e degradação de pesticidas (FOGG *et al.*, 2003).

O modelo original, o *Biobed* sueco possui como componente húmico a turfa que possui em suas propriedades, como sua natureza ácida, a turfa auxilia na redução do pH da mistura, favorecendo a atividade fúngica (TAVARES *et al.*, 2006) além do controle da umidade do sistema. No entanto, devido à dificuldade de obtenção, ao alto custo e por ser considerada uma matéria-prima não sustentável, a turfa é frequentemente substituída por diferentes tipos de composto. Dentre eles, podemos citar o exemplo de compostos derivados de poda de oliveira, poda de videira, subprodutos da vinícola (OMIROU *et al.*, 2012); esterco bovino compostado (GIKAS *et al.*, 2018) e húmus de minhoca (DIAS, *et al.*, 2019), dentre outros.

1.2.1.4 Emprego de materiais alternativos

Os primeiros *Biobeds* desenvolvidos na Suécia empregaram materiais funcionais, de fácil disponibilidade e baixo custo. A implementação da técnica em outros países requer a adaptação do sistema às condições locais para manter o sistema ecologicamente correto, funcional e barato (CASTILLO *et al.*, 2008, KARANASIOS *et al.*, 2010; ROMERO *et al.*, 2013). Sendo assim, um dos principais focos da pesquisa em *Biobeds* vem sendo a adaptação de seu substrato com o objetivo de garantir sua viabilidade em um maior número de propriedades agrícolas. O projeto de um sistema deve ser adaptado a todas as regiões; seja através do emprego de materiais alternativos ou adaptações estruturais (RUIZ-HIDALGO *et al.*, 2015; FOGG *et al.*, 2003; FOGG *et al.*, 2004; GÓNGORA-ECHEVERRÍA *et al.*, 2017).

Com relação ao primeiro item, diversos estudos comprovaram que os componentes da biomistura podem ser substituídos parcial ou totalmente por outros materiais alternativos. A análise da eficiência de *Biobeds* usando materiais alternativos foi avaliada em diversas localidades. Na Tabela 2 é possível observar a síntese destes trabalhos.

Tabela 2: Resumo de substratos alternativos testados que obtiveram bons resultados na eficiência de sistemas *Biobeds*.

Local	Materiais componentes do substrato	Produtos testados	Referência
Argentina	Palha de alfafa	Glifosato	Masin <i>et al.</i> (2018)
Brasil	Acícula de Pinus e Húmus de minhoca	Fosmete (Imidan 500WP)	Dias <i>et al.</i> (2021)
Chile	Palha de trigo (50%), biochar (25%), solo (25%)	Atrazina, isoproturon, iprodiona, clorpirifós, carbendazim e diazinon	Diez <i>et al.</i> , (2013)
Chile	Casca de aveia, Casca de Cevada, Serragem,	Atrazina, clorpirifós e isoproturon	Urrutia, <i>et al.</i> (2013)
Chile	Solo, palha, turfa; folhas de eucalipto, agulhas de pinheiro e cascas de laranja	Atrazina	Tortella <i>et. al</i> (2014)
Costa Rica	Casca de arroz	Carbofurano	Ruiz-hidalgo, <i>et al.</i> (2014)
Costa Rica	Bagaço de cana, fibra de coco, casca de arroz, e lascas de madeira	Carbofurano	Chin-Pampillo <i>et al.</i> (2015)
França	Bagaço de cana-de-açúcar	Glifosato, malathion e lambda-cyhalotrin	Roffignac <i>et al.</i> (2008)
Grécia	Resíduos de milho, cascas de frutas cítricas, resíduos de girassol, talos de uva e folhas de oliveira	Clorpirifós, indoxacarb, buprofezina, terbutilazina, Metalaxil, metribuzina, azoxistrobina, iprodiona	Karanasios <i>et al.</i> (2010)
México	Composto vegetal, polpa de sisal, palha de milho e algas marinhas	2,4-D, Atrazina, carbofurano, diazinon e glifosato	Gongora-Echeverría <i>et al.</i> (2017)
México	Caule de bananeira, cobertura morta e solo	Mancozeb	Domínguez-Rodríguez <i>et al.</i> (2021)
Portugal	Cortiça e Pinheiro-bravo	Terbutilazina, difenoconazol, diflufenicano e pendimetalina	Pinto <i>et al.</i> (2016)

Fonte: Elaboração do autor (2022).

Entre os materiais alternativos empregados para a substituição do componente húmico como a turfa, pode-se destacar o emprego de resíduos compostados, como resíduos de poda de oliveira, poda de videira e subprodutos da vinícola (OMIROU *et al.*, 2012); esterco bovino compostado (GIKAS *et al.*, 2018), húmus de minhoca (DIAS, *et al.*, 2021).

O uso de materiais compostados ou vermicompostos de resíduos agrícolas tem se demonstrado uma alternativa viável, pois esses substratos afetam a sorção e degradação dos pesticidas e estimulam a atividade microbiana, reduzindo o efeito adverso no meio ambiente (DELGADO-MORENO e PEÑA, 2009; CASTILLO *et al.* 2016). Estudos anteriores revelam que o material tem uma maior diversidade funcional microbiana para tolerar agrotóxicos e,

portanto, pode ser útil para gerenciar a contaminação (VIVAS *et al.*, 2009, CASTILLO *et al.*, 2016).

O estudo realizado por Karanasios *et al.* (2010) buscou avaliar vários subprodutos da prática agrícola local (tanto original quanto compostados), que poderiam ser usados como alternativas a substituição da turfa ou palha. Eles fornecem a primeira evidência de que a palha pode ser substituída em biomisturas por outros materiais lignocelulósicos prontamente disponíveis no sul da Europa. Posteriormente, outro estudo realizado por Karanasios *et al.* (2012) analisou a possibilidade de substituição da turfa por compostos agrícolas na biomistura. Para isso, foram avaliados cinco compostos de substratos locais, incluindo folhas de oliveira, resíduos de culturas de algodão, sementes de algodão, substrato de cogumelo usado e destroços do mar comerciais misturados com solo superficial e palha. Este experimento demonstrou que os materiais compostados podem substituir a turfa na biomistura tradicional. Entre os substratos, o composto de folha de oliveira foi o que apresentou a maior atividade de degradação e alta capacidade de adsorção para a maioria dos pesticidas testados.

Vischetti *et al.* (2004) compararam o comportamento do inseticida clorpirifós em duas matrizes diferentes: a composição original e uma matriz modificada utilizando substratos facilmente encontrados na Itália. Eles relataram que as meias-vidas do agrotóxico foram semelhantes em ambas as matrizes avaliadas. No entanto, o teor de biomassa microbiana foi reduzido na matriz italiano. Já o estudo realizado por De Vleeschouwe *et al.* (2005) realizou a comparação entre a palha de linho e palha de grãos, e concluiu que a palha de linho demonstrou maior desempenho na eficiência e degradação de moléculas persistentes.

Em relação a utilização de resíduos agroflorestais, estudos avaliaram o emprego de matrizes compostas por serapilheira de *Pinus*, um substrato facilmente encontrado. Tortella *et al.* (2013) avaliou a influência da biomistura de pinho fresco e verificou que não houve aumento nos níveis de degradação. Já o estudo realizado por Dias *et al.* (2021) avaliou a utilização de serapilheira de *Pinus* depositados já em processo de decomposição. O estudo demonstrou que ocorreu uma degradação mais rápida dos agrotóxicos, provavelmente relacionada ao estado de biodegradação do substrato, que possui uma grande atividade microbiana que foi adicionada a biomistura. Diez *et al.* (2013) avaliaram o emprego de serragem de *Pinus* juntamente com casca de cevada para substituir uma fração da palha na biomistura. Como resultados, os materiais degradaram com sucesso uma mistura de agrotóxicos que foram adicionados em aplicações sucessivas. Recentemente, Fernández *et al.*

(2022) avaliaram a eficiência de uma matriz composta apenas por restolho de trigo e solo para a degradação de 2,4-D e seu principal metabólito o 2,4-DCP. As avaliações ao longo de 35 dias demonstraram que houve uma boa adsorção e degradação da matriz.

A literatura mostra uma série de materiais e proporções que já foram avaliadas com a finalidade de manter os níveis da atividade biológica (DIAS *et al.*, 2020). Diante do levantamento de diversos estudos, pode-se verificar que as biomisturas possuem capacidade de degradar os resíduos de agrotóxicos mais rapidamente quando comparadas ao próprio solo (KARANASIOS *et al.*, 2013; PINTO *et al.*, 2016; PAPAZLATANI *et al.*, 2019).

1.3 FATORES ABIÓTICOS

1.3.1 Umidade

A umidade em um *Biobed* é um fator de grande relevância, pois afeta a disponibilidade de oxigênio, a atividade microbiana e a solubilização de agrotóxicos, além de gerar o risco de supersaturação e formação de lixiviação de seus compostos (CASTILLO *et al.*, 2008). A disponibilidade adequada de água é essencial para a atividade microbiana e, portanto, para a biodegradação. Estudos demonstraram que o aumento da umidade do solo influenciou no aumento na taxa de remoção de pesticidas (CHEN *et al.*, 2001).

Deve haver um equilíbrio da umidade no sistema, pois os baixos níveis de umidade limitam a atividade microbiana, enquanto altos níveis (quase saturação) podem limitar os processos aeróbicos, mais eficientes, por deficiência de oxigênio. Estudos realizados por Castillo e Torstensson (2007) verificaram o efeito da umidade na dissipação de vários pesticidas, bem como na respiração basal e no conteúdo de fenoloxidase. Foram testados três diferentes níveis de umidade no sistema. Os baixos níveis de umidade próximos a 30% limitaram a atividade microbiana e as quantidades de pesticidas em solução. Os níveis de umidade de 60% poderiam fornecer água suficiente para processos microbianos, solubilização de pesticidas e espaço de poros para o oxigênio suportar processos aeróbicos. Já em níveis com 90%, encontrava-se condições próximas à saturação da água com deficiência de oxigênio associada no sistema. Nessas condições, os processos microbianos aeróbicos poderão ser limitados e os processos anaeróbicos prevalecer. Os resultados demonstraram que níveis de umidade próximos a 60% eram os mais adequados para a dissipação da maioria dos

pesticidas. Fogg *et al.* (2004) relatam que o baixo teor de umidade da biomistura afeta a atividade microbiana e a taxa de dissipação de pesticidas. Gebler (2015) apontam que para um bom funcionamento do sistema “*Biobed* Brasil” a umidade da biomistura deve ficar entre 40 a 60%. Já os estudos realizados por Córdova-Méndez *et al.*, (2021) objetivaram avaliar os efeitos da variação da umidade na dissipação de uma mistura de agrotóxicos (atrazina, carbofurano, diazinon, glyphosate e 2,4-D). Foram implantados sistemas *Biobed* miniaturizados em condições experimentais sob clima tropical. Os resultados mostraram que as variações de umidade na biomistura não afetaram a dissipação do agrotóxico, onde este parâmetro não foi significativo para o estudo.

O monitoramento da umidade pode ser realizado através de coletas e análises laboratoriais, testes de tato ou ainda com o emprego de sensores eletrônicos de umidade instalados no substrato do *Biobed* (GEBLER *et. al.*, 2015).

1.3.3 Carga hidráulica

A carga hidráulica volumétrica também conhecida como taxa de carregamento hidráulico é definida como o volume de efluente a ser tratado por unidade de volume do reator. A eficiência do sistema *Biobed* para a degradação dos efluentes está diretamente relacionada com a quantidade de água e da carga de poluentes inseridas no sistema.

O gerenciamento de água é crucial para melhorar o desempenho e remoção de pesticidas. Caso não seja realizado de maneira adequada poderá ocorrer a sobrecarga hidráulica, quando o fluxo de água excede a capacidade de remoção do sistema (WHITE *et al.*, 2007). Outro fator que deve ser levado em consideração é o tempo de detenção hidráulica. Foi demonstrado que o tempo desde a aplicação até o momento em que o fluxo de drenagem começa é o fator dominante na determinação de concentrações e perdas no fluxo de drenagem de um herbicida moderadamente móvel e persistente, como o caso do herbicida isoproturon (CASTRO-GUTIÉRREZ, *et. al.*, 2016). Além disso, o tempo de detenção de hidráulica também pode afetar a taxa de remoção de poluentes.

Estudos realizados por Fogg (2004) e Omirou *et al.* (2012) mostraram que o potencial de lixiviação de pesticidas foi afetado pela carga hidráulica. A inserção de altas cargas de água logo após a aplicação de pesticidas pode afetar no tempo de contato entre os pesticidas e a biomistura, gerando a lixiviação de pesticidas. O sistema *Biobed* permite a entrada de água

proveniente da chuva, desde que tomado devidas precauções para que não afete o desempenho do sistema. É recomendado a instalação em áreas planas ou altas, para evitar o acúmulo de água de escoamento e lixiviações. No entanto, em regiões que o índice pluviométrico é alto, recomenda-se a instalação de uma cobertura para evitar a sobrecarga hidráulica e o risco de saturação na biomistura.

Estudos realizados por Fogg *et al.* (2004) relataram que sistemas com cobertura tiveram a camada superficial (0-10 cm) seca rapidamente formando uma camada hidrofóbica, restringindo severamente a evaporação e a perda de umidade. Ao longo de 12 meses, a camada superior mostrou-se desidratada e a camada inferior mostrou-se saturada, bem como ocorreu uma diminuição da biomassa microbiana. Deste modo, é necessária uma avaliação prévia das condições climáticas locais, para a escolha do melhor método. Como qualquer sistema de tratamento de pesticidas, as camas biológicas devem poder tratar uma mistura complexa de pesticidas, aplicada repetidamente e frequentemente em altas concentrações (FOGG *et al.*, 2004; TORTELLA *et al.*, 2013).

O dimensionamento destes leitos é baseado numa carga hidráulica aceitável, expressa na unidade de área superficial do filtro por litro de efluente. As recomendações atuais são dos estudos realizados na Bélgica por WILDE *et al.* (2009) que concluíram que uma carga média de água de 12,5 litros por metro cúbico na biomistura é suficiente para a retenção eficaz de pesticidas para o modelo biofiltro. No Brasil, Gebler (2015) menciona que o fluxo de contaminante ideal suportado para o modelo “*Biobed Brasil*” é também de aproximadamente 12,5 L de resíduo líquido por metro cúbico (m³) de substrato, em um período de 3 dias, levando em consideração as variações de evapotranspiração do sistema.

1.4 FATORES BIÓTICOS

1.4.1 Comunidades microbianas

A diversidade microbiana presente em uma biomistura desempenha uma função essencial na degradação de agrotóxicos. Grande parte destas transformações são catalisadas por microrganismos, como as bactérias e fungos, que possuem uma grande capacidade de degradar e realizar a desintoxicação (ASGHER *et al.*, 2008; GAO *et al.*, 2010), sendo que alguns microrganismos são capazes de utilizar determinados agrotóxicos como única fonte de

carbono e nitrogênio (HIGGINS e BURNS, 1975). Do mesmo modo, os fatores que afetam a atividade microbiana no solo podem também influenciar nas taxas de dissipação dos agrotóxicos. Devido a este fator, estudos passaram a incluir em seu escopo a avaliação das comunidades microbianas presentes nas biomisturas, seu comportamento e possíveis impactos ocasionados pelos agrotóxicos. Uma relação de trabalhos abordando a temática é apresentada na Tabela 3.

Tabela 3: Relação dos parâmetros microbiológicos utilizados em testes microbiológicos para avaliação da eficiência de sistemas *Biobeds*.

Parâmetro	Referência
Atividade de fenoloxidase	Castillo e Torstensson, 2007; Tortella <i>et al.</i> , 2012
Lignina peroxidase	Karanasios <i>et al.</i> , 2010
Análise de eletroforese em gel de gradiente desnaturante (DGGE)	Copolla <i>et al.</i> 2011
Biomassa microbiana	Vischetti <i>et al.</i> , 2008; Marinozzi <i>et al.</i> , 2013
Respiração microbiana	Castillo e Torstensson, 2007; Karanasios <i>et al.</i> , 2010; Fernandez-Alberti <i>et al.</i> 2011; Omirou <i>et al.</i> , 2012; Marinozzi <i>et al.</i> , 2013; Diez <i>et al.</i> 2013
Atividade hidrolítica	Karanasios <i>et al.</i> , 2010; Romero <i>et al.</i> , 2019
Identificação das comunidades microbianas- Sequenciamento de DNA	Murillo-Zamora <i>et al.</i> 2017; Bergsveinson <i>et al.</i> , 2018; Tortella <i>et al.</i> , 2020
Unidades Formadoras de Colônias (UFC)	Dias <i>et al.</i> , 2021; Domínguez-Rodríguez <i>et al.</i> 2021; Lescano <i>et al.</i> 2022
Técnicas metagenômicas e metatranscriptômicas	Russell <i>et al.</i> , 2021

Fonte: O autor (2022).

Um estudo realizado por Bergsveinson *et al.*, (2018) em parceria com a Agriculture and Agri-Food Canada (AAFC) avaliou a variabilidade das comunidades bacterianas e fúngicas em quatro sistemas de biodegradação localizados nas cidades de Alberta e Saskatchewan (Canadá). Estes sistemas foram utilizados para o descarte de uma mistura de agrotóxicos ao longo de uma estação operacional. As biomisturas eram constituídas por palha e resíduos de madeira. Os resultados demonstraram que as comunidades bacterianas foram as com maior diversidade. As taxas de remoção de pesticidas para todos os *Biobeds* alcançaram a média de 99%, com a análise da comunidade microbiana revelando que os sistemas compartilharam 60-70% das ordens bacterianas e fúngicas mais abundantes, respectivamente.

O estudo realizado por Russell *et al.*, (2021), buscou esclarecer as comunidades microbianas residentes dentro de uma Sistema de *Biobed* no Canadá e sua funcionalidade associada por meio de metagenômica e análises metatranscriptômicas. Para tal, foram realizadas amostragens antes e após a temporada de uso de agrotóxicos, no intuito de medir as comunidades taxonomicamente e funcionalmente em resposta a exposição a pesticidas e usou

abordagens comparativas para medir a abundância e a diversidade de genes degradantes aromáticos. As técnicas utilizadas identificaram um enriquecimento de bactérias degradadoras de xenobióticos, bem como o enriquecimento e transcrição de genes degradadores. Frente aos dados observados, pode-se destacar que a microbiota presente em *Biobeds* pode ser considerada única, mesmo que a nível regional.

1.5 ENSAIOS PARA MONITORAMENTO E AVALIAÇÃO

As abordagens de biorremediação visam desintoxicar matrizes contaminadas baseadas na transformação biológica. No entanto, a simples remoção da molécula original do pesticida não indica necessariamente que o processo de tratamento e desintoxicação tenha ocorrido de maneira adequada (BERNARDELLI et al., 2021). Diversos produtos de transformação podem ser gerados no processo de degradação, onde muitas vezes podem ser de difícil identificação e quantificação e possuir um potencial tóxico equivalente ou maior do que o composto original. Quando este processo ocorre, pode-se dizer que ocorreu uma falha no processo de biorremediação (RODRIGUEZ-RODRIGUEZ *et al.*, 2018).

Nesse contexto, a obtenção de informações sobre os efeitos potenciais dos agrotóxicos, especialmente sobre a microbiota e fauna edáfica, tornou-se um foco importante nos estudos (REINECKE e REINECKE, 2007; RASTETTER e GERHARDT, 2018). Para tal, são necessárias abordagens alternativas para obter um cenário mais completo sobre a eficiência da biomistura. Essas abordagens podem incluir desde as análises químicas convencionais quanto análises complementares, como determinação da mineralização, ensaios ecotoxicológicos e toxicidade biológica para determinar com maior precisão o grau de desintoxicação e o desempenho alcançado pelas matrizes.

1.5.1 Ensaio ecotoxicológicos

A primeira menção da ecotoxicologia surgiu no livro “Primavera Silenciosa” escrito por Rachel Carson em 1962. Em sua obra, a autora escreveu sobre os problemas ambientais decorrentes da Revolução Verde e em especial do uso indiscriminado do produto químico DDT. Esta obra foi considerada um marco na separação da toxicologia clássica e da ecotoxicologia, já que trouxe uma nova percepção a respeito do panorama de ação do agente

químico, afirmando que ele age não só em uma espécie ou indivíduo, mas afeta toda a cadeia alimentar em que ele está inserido, devido aos chamados efeitos cumulativos (BAZERMAN & DE LOS SANTOS, 2005).

As avaliações de ecotoxicidade constituem ferramenta indispensável na estimativa do perigo potencial de substâncias como os agrotóxicos, sendo parte fundamental da análise de risco ambiental. Tal abordagem é utilizada em diversos países para a utilização e também descarte de uma variedade de substâncias.

O conhecimento ecotoxicológicos permite avaliar a extensão do risco ambiental, estipular metodologias de vigilância e rastreamento da presença de tóxicos no ambiente e ainda orientar nas medidas de remediação (AZEVEDO e CHASIN, 2004). Atualmente, novas metodologias de avaliação têm sido utilizadas no intuito de obter respostas mais realistas e próximas das condições reais. Como estes sistemas visam desintoxicar águas residuais contendo agrotóxicos, a avaliação ecotoxicológica de biomistura após o tratamento representa uma maneira global de estimar a relevância ambiental do processo, diante do potencial formação de produtos de transformação tóxica a partir da degradação de pesticidas (RODRÍGUEZ-RODRÍGUEZ *et al.*, 2018).

O objetivo desses ensaios de ecotoxicidade é medir um efeito específico, permitindo estabelecer a presença de substâncias potencialmente tóxicas ou inibidoras no meio ambiente por meio do uso de indicadores biológicos, que podem incluir animais, bactérias e algas, entre outros. Os efeitos nos bioindicadores são geralmente medidos como concentrações inibitórias médias (IC50), concentrações efetivas médias (CE50) e concentrações letais médias (CL50), entre muitas outras (GARVEY *et al.*, 2015; PATEL *et al.*, 2017; ZHANG *et al.*, 2020). A toxicidade de um composto químico depende da exposição, da suscetibilidade do organismo, das características químicas do agente e de fatores ambientais (TOMITA; BEYRUTH, 2002).

1.5.2 Ensaios de Ecotoxicidade

A ecotoxicologia terrestre é um subcampo da ecotoxicologia que tem o solo como base e se utiliza de testes para estudar, estimar e quantificar os efeitos e perigos das substâncias (GARCÍA, 2004; TEREKHOVA, 2011). A ecotoxicologia terrestre utiliza organismos do solo como receptores e indicadores de risco. Além das plantas e de toda a microbiota, esta área abrange a fauna edáfica, que tem como representantes diversos

organismos, sendo os mais utilizados para ensaios os colêmbolos, os enquitreídeos, as minhocas, os fungos e os ácaros.

Os ensaios de toxicidade podem ser classificados de acordo com o tempo de exposição (ecotoxicidade aguda ou crônica), o modo de ação (mortalidade, crescimento ou reprodução) ou o efeito de resposta (letal ou subletal) (KAPANEN e ITAVÄARA, 2001). Os ensaios são realizados expondo-se os organismos-teste a um solo contaminado, objetivando-se avaliar o efeito da contaminação na sobrevivência, crescimento, reprodução, mudanças comportamentais, dentre outros fatores. Estes ensaios podem ajudar a verificar se as concentrações de contaminantes em um determinado meio são altas o suficiente para causar efeitos adversos em organismos (LIMA, 2009).

Uma forma de realizar as avaliações ecotoxicológicas para verificar a degradação do agrotóxico é empregando os ensaios de ecotoxicidade com organismos não-alvo, dentre os quais pode-se citar os invertebrados do solo, que compõem parte da meso e macrofauna (AMORIM, 2012). A importância da realização dos estudos em organismos se dá pelo conhecimento da contribuição da fauna do solo para os serviços do ecossistema. Estes testes são um dos primeiros passos na avaliação de risco de contaminantes do solo e podem ser considerados uma das principais ferramentas de avaliação por serem frequentemente suficientes para determinar o nível de risco ecológico das substâncias e os limites de exposição segura para humanos e biota do solo (SHUGART, 2009).

Os testes ecotoxicológicos são realizados no intuito de verificar o nível de sensibilidade de determinados organismos a um contaminante estudado. Além disso, além dos testes de ecotoxicidade com diferentes organismos, testar solos contrastantes (artificial, tropical, subtropical, temperado) é importante, uma vez que condições específicas, como temperatura, regime de chuvas, conteúdo de matéria orgânica, entre outros, podem influenciar a toxicidade dos pesticidas (CHELINHO *et al.*, 2011; KAMOUN *et al.*, 2018). Através dos seus resultados, são capazes de fornecer informações quantitativas e/ou qualitativas sobre os efeitos tóxicos de contaminantes na fauna de invertebrados do solo, incluindo informações exigidas por diversas autoridades para a comercialização ou aplicação em solos agrícolas.

As aplicações dos princípios da ecotoxicologia demandam a seleção de um organismo teste para ser utilizado em ensaios realizados sob condições específicas e controladas, os organismos são expostos a diferentes concentrações de uma amostra em que seus efeitos tóxicos são observados e quantificados (COSTA *et al.*, 2008). A escolha dos organismos-teste

ocorre levando em consideração sua simplicidade, rapidez e baixo custo para realização além da capacidade para avaliação da toxicidade do solo sendo, portanto, métodos viáveis para estimativa da ecotoxicidade de agrotóxicos.

Entre os organismos mais empregados para realização deste tipo de análise, pode-se citar os enquitreídeos e colêmbolos. Os enquitreídeos são organismos de menor tamanho, ocorrem em todos os solos onde há suficiência de oxigênio, umidade e suprimentos de nutrientes e são comumente encontrados em áreas de intensa agricultura. (PELOSI; RÖMBKE, 2016). De acordo com Lavelle (2014), estes organismos são pertencentes à mesofauna do solo e possuem papel fundamental como decompositores da matéria orgânica e na ciclagem de nutrientes. Eles são interessantes para o uso em ensaios ecotoxológicos, devido à relevância ecológica e facilidade de criação em massa. Dentre as espécies mais recomendadas para ensaios pode-se citar a *Enchytraeus crypticus* e *Enchytraeus albidus* (NIVA, *et al.*, 2019). Os colêmbolos são pequenos artrópodes, ápteros, encontrados em todo o mundo (BELLINGER *et al.*, 2010). Esse grupo tem sido considerado e usado como importante bioindicador da qualidade dos solos por responder às diversas modificações que ocorrem no ambiente, podendo ser alterações químicas, como o pH (BARETTA *et al.*, 2008), alterações na estrutura e microclima (PFLUG e WOLTERS, 2001), modificando a frequência e a diversidade de espécies de acordo com a quantidade e qualidade de serapilheira disponível (CHAGNON *et al.*, 2000; BARETTA *et al.*, 2008). A espécie *F. candida* tem sido a mais utilizada devido seu papel funcional no solo (NIVA *et al.*, 2019).

Com relação aos estudos de *Biobeds* que utilizaram testes ecotoxicológicos terrestres, podemos citar Gikas *et al.*, (2018) que empregou o teste de germinação de sementes de alface (*L. sativum*, Geórgia) em complemento aos testes aquáticos com *D. magna* para analisar a eficiência dos sistemas de biopurificação para a remoção do herbicida- terbutilazina. A biomistura empregada era composta por fibra de coco. Os resultados demonstraram que o desempenho da biomistura foi satisfatória, tratando as maiores concentrações de agrotóxicos encontradas em efluentes agrícolas. A biomistura contendo terbutilazina provou ser não tóxica para *D. magna*. No entanto, nos testes de germinação foram observadas variações na toxicidade residual da biomistura, demonstrando que não foi possível desintoxicar a matriz por completo.

O estudo realizado por Acosta-Sánchez *et al.* (2020), avaliou o emprego de um sistema *Biobed* durante um ciclo simulado de aplicação de agrotóxicos (93 dias) para a

produção de batata. A biomistura era composta por fibra de coco, composto e solo pré-exposto. O ciclo incluiu a aplicação de linuron seguida por um tratamento semanal alternado de misturas com os produtos clorpirifós/metalaxil e malathion/dimetomorfo, além de antibióticos. Resumindo, a biomistura utilizada não conseguiu manter uma taxa de remoção constante da combinação de agrotóxicos durante o ciclo simulado. Para conciliar, a realização de testes de ecotoxicidade *D. magna* e *L. sativa*. sugeriram que o sistema proposto não suporta uma desintoxicação adequada, necessitando ser reavaliado.

No Brasil, Carniel (2015) avaliou a degradação dos agrotóxicos mancozebe e clorpirifós em sistemas *Biobeds* empregando testes de letalidade, reprodução e fuga com organismos não-alvo como os colêmbolos (*Folsomia candida*), enquitreídeos (*Enchytraeus crypticus*) e minhocas (*Eisenia andrei*), comprovando que ocorreu algum nível de efeito de toxicidade ao longo dos experimentos, especialmente nos colêmbolos. Dias *et al.*, (2021) avaliou a degradação do agrotóxico Phosmet através de testes de letalidade, reprodução e fuga também com as espécies de colêmbolos (*Folsomia candida*), enquitreídeos (*Enchytraeus crypticus*) e minhocas. Ainda de acordo com Dias *et al.*, (2020) o Brasil foi um dos primeiros países na América Latina responsáveis por empregar testes de ecotoxicidade associados a análises químicas para avaliar a eficiência do sistema *Biobed*. Este cenário demonstra um avanço nas pesquisas, que buscam por abordagens complementares de baixo custo, capazes de melhor detalhar o processo de desintoxicação das biomisturas.

1.6 PRINCIPAIS PRODUTOS AVALIADOS- ESCOPO DE APLICAÇÃO

A expansão no uso de agrotóxicos não ocorreu apenas de maneira quantitativa, mas também qualitativa, com maior eficiência e integração de vários tipos de ingredientes ativos. Embora este crescimento do uso tenha lhe conferido uma vantagem competitiva, a fraca regulação que permaneceu por longo tempo ocasionou impactos ambientais e humanos que ainda estão sendo descobertos.

Atualmente, há uma ampla gama de produtos disponíveis no mercado. No entanto, existem poucas informações ou dados independentes na literatura sobre a persistência de alguns compostos e ingredientes ativos, quando utilizados em diferentes contextos, como tipos de solo, concentração, aplicação individual ou misturas, efeitos sob organismos não-alvo, dentre outros. Neste sentido, buscamos realizar uma breve síntese da diversidade de

agrotóxicos cuja remoção foi avaliada em sistemas *Biobeds*. O resultado completo pode ser observado na Tabela 1 dos anexos da presente dissertação.

A diversidade de estruturas químicas que foram tratadas eficientemente nos sistemas *Biobeds* é notável. Diversos tipos de agrotóxicos ou misturas foram empregados, em cenários que alcançaram uma eliminação superior a 80% (COPOLLA *et al.* 2011; CHIN-PAPILLO *et al.*, 2015; DIEZ *et al.*, 2015). Apesar de não ter sido possível incluir todos os compostos analisadas até o presente momento, é notável que os sistemas apresentaram na maioria dos casos uma capacidade maior de remover agrotóxicos do que o solo natural. No entanto deve-se levar em conta que grande parte dos experimentos foram avaliados apenas com testes iniciais em escala laboratorial. Para que seja possível atingir estes valores em condições reais, faz-se necessário uma série de estudos que iniciam com testes laboratoriais (cenários controlados) e testes complementares *in loco*, considerando as condições de campo para uma avaliação completa do comportamento da biomistura, para selecionar aquela na qual apresente maior favorecimento na degradação e desintoxicação do produto selecionado ou na remoção de misturas complexas.

Entre os produtos mais testados em sistemas *Biobeds* a nível mundial, pode-se citar os princípios ativos utilizados em inseticidas, o carbofurano, imidaclopride e clorpirifós e o para herbicida a atrazina (DIEZ *et al.*, 2015; CHIN-PAPILLO *et al.*, 2015; KUMARI *et al.* 2016; QUATRIN *et al.*, 2020). Um cenário observado, foi a comprovação de que a remoção de um determinado produto varia de acordo com a seleção de materiais para a composição da matriz, aliado as condições de operação e fatores bióticos e abióticos. Sendo assim, diferentes padrões de remoção foram observados para o mesmo agrotóxico. O estudo realizado por Chin-Papillo *et al.* (2015) analisou o emprego de dez biomisturas com subprodutos agroindustriais tropicais diferentes para degradar o inseticida carbofurano. Apesar de todo o experimento ter sido conduzido de maneira igualitária, cada biomistura apresentou um comportamento diferente para a degradação do mesmo produto. A meia-vida estimada de carbofurano variou de 2,5 a 10,3 dias. Após 16 dias, a remoção ficou acima de 98,5% em oito biomisturas. Entre os diversos materiais, a biomistura alternativa à base de materiais compostados apresentou o melhor desempenho, até mesmo em comparação com a biomisturas original.

Apesar da alta versatilidade demonstrada para a remoção de diversos compostos, houve casos em que alguns agrotóxicos apresentaram pouca ou nenhuma degradação. Isso se deve, pois inicialmente o sistema *Biobed* foi criado no intuito de receber apenas resíduos de

agrotóxicos, tais como produtos diluídos. Com o avanço dos estudos, passou-se a incluir no escopo a investigação do comportamento do sistema ao receber altas concentrações de agrotóxicos. Os sistemas demonstraram serem capaz de tolerar as altas concentrações dos pesticidas aplicados (Castillo *et al.* 2008). No entanto, novos estudos têm descrito a ocorrência de recalcitração ou mineralização de agrotóxicos nos sistemas *Biobeds* (SNIEGOWSKI *et al.*, 2011; COPOLLA *et al.*, 2013; CHIN-PAPILLO *et al.*, 2015; MADRIGAL-ZÚÑIGA *et al.*, 2015; RIVERO *et al.*, 2016; HUETE-SOTO *et al.*, 2017; RODRÍGUEZ-CASTILLO *et al.* 2018; ACOSTA-SANCHEZ *et al.*, 2020).

À vista disso, a recomendação geral ou adoção de um modelo exclusivo para um determinado produto é complexo. A implementação de um sistema *Biobed* não é igual para todas as regiões ou países (CÓRDOVA-MÉNDEZ *et al.*, 2021). É necessário que sejam realizados estudos iniciais, através de testes laboratoriais (cenários controlados) e testes complementares in loco, considerando as condições de campo para uma avaliação completa do comportamento da biomistura, para selecionar aquela na qual apresente maior favorecimento na degradação e desintoxicação de agrotóxicos ou remoção de misturas complexas nos *Biobeds*.

1.7 USO DO SISTEMA *BIOBEDS* EM APLICAÇÕES ALTERNATIVAS: TRATAMENTO DE RESÍDUOS FÁRMACOS

Os produtos farmacêuticos e de higiene pessoal, que são amplamente utilizados na prática humana e veterinária são produtos químicos altamente ativos, com diferentes propriedades físico-químicas e frequentemente detectados em diferentes compartimentos ambientais (RIVERA-UTRILLA *et al.* 2009; SANTOS *et al.* 2010), sendo considerados contaminantes emergentes de interesse público.

Devido ao seu amplo uso e à falta de sistemas eficazes para sua remoção nos compartimentos ambientais, o seu descarte contínuo no meio ambiente representa um grave problema ambiental. A presença destes compostos em águas superficiais pode ter efeitos significativos mesmo em baixas concentrações devido à sua introdução contínua em ambientes de diferentes fontes antrópicas (HOUTMAN, 2010; EBELE *et al.* 2017). Diante deste cenário, tecnologias apropriadas e viáveis precisam ser desenvolvidas para tratar e remover estes contaminantes antes que o efluente seja lançado (GRASSI *et al.* 2013).

Entre as possíveis estratégias para tratamento, estão inclusos os sistemas de biopurificação. Apesar de terem sido originalmente desenvolvidos para a remoção de agrotóxicos, a aplicação destes sistemas para o tratamento de efluentes industriais ou contendo contaminantes emergentes tem sido explorada e utilizada com sucesso (KARANASIOS *et al.*, 2010; DELGADO-MORENO *et al.*, 2019; JIMÉNEZ-GAMBOA *et al.*, 2018; DELGADO-MORENO *et al.*, 2021; PAPAZLATANI *et al.*, 2019).

Com o propósito de melhor detalhar o emprego alternativo do sistema *Biobed*, buscamos realizar uma breve síntese com os trabalhos que vem sendo desenvolvidos no intuito de obter melhores informações sobre seu comportamento.

O estudo realizado por Delgado-Moreno *et al.* (2019) avaliou o emprego do sistema *Biobed* para a remoção de Ibuprofeno, sal de sódio diclofenaco e triclosan (produto de cuidados pessoais). Para isso foram utilizados em sua composição um solo argiloso (contendo 34, 56 e 10% de argila, silte e areia, respectivamente), bagaço de azeitona ou seu vermicomposto e podas revelaram que o emprego deste sistema constituído por resíduos agroindustriais é um eficiente. O experimento foi realizado ao longo de 100 dias, onde os resultados obtidos demonstraram ser viáveis. Ambas as biomisturas apresentaram maior eficiência de adsorção na retenção de ibuprofeno, diclofenaco e triclosan quando comparadas ao solo utilizado como referência. Em uma continuação de seus estudos, Delgado-Moreno *et al.* (2021) realizou outros experimentos objetivando avaliar a comunidade microbiana dominante. Os resultados demonstraram que os sistemas de biopurificação contêm diversas populações microbianas capazes de degradar estas moléculas com diferentes propriedades. Outro fator, foi que apesar da presença de diversas comunidades microbianas em cada biomistura, percebeu-se um padrão semelhante na abundância relativa no decorrer do tempo para alguns filos específicos em todas as biomisturas testadas.

O estudo realizado por Aguilar-Romero *et al.* (2020), buscou avaliar a degradação dos fármacos ibuprofeno (IBP), diclofenaco (DCF) e triclosan (TCS) em uma biomistura contendo solo agrícola do tipo franco-argiloso siltoso, vermicomposto de torta de azeitona úmida e podas de oliveira. O experimento foi avaliado em laboratório durante 80 dias. A biomistura foi capaz de manter alta diversidade da comunidade bacteriana apesar dos níveis de contaminação e dos agentes biocidas adicionados, demonstrando assim sua alta resiliência.

2 CONCLUSÃO

O emprego do sistema *Biobed* pode auxiliar no processo de atenuação dos impactos provocados por agrotóxicos, podem alcançar a degradação em sua totalidade quando as características do sistema e as condições bióticas e abióticas são favoráveis. Entre as demandas de estudo, pode-se destacar a geração de dados em condições reais como complemento aos resultados obtidos em fase laboratorial, além da demanda sistemas capazes de operar em grande escala. Entre as vantagens, além do baixo custo e da eficiência, estudos comprovaram que os componentes da biomistura podem ser substituídos parcial ou totalmente por outros materiais alternativos disponíveis na região a ser implementado. Em suma, os *Biobeds* são uma alternativa viável a serem adotados por propriedades agrícolas, nas mais diversas condições ambientais brasileiras, para reduzir a contaminação dos solos e das águas por efluentes de agrotóxicos.

REFERÊNCIAS

AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA (Brasil). Regulamentação. Anvisa aprova novo marco regulatório para agrotóxicos. Brasília, DF: ANVISA, 2019.

ACOSTA-SÁNCHEZ, Alejandra; SOTO-GARITA, Claudio; MASÍS-MORA, Mario; CAMBRONERO-HEINRICH, Juan Carlos; RODRÍGUEZ-RODRÍGUEZ, Carlos E.. Impaired pesticide removal and detoxification by biomixtures during the simulated pesticide application cycle of a tropical agricultural system. *Ecotoxicology And Environmental Safety*, [S.L.], v. 195, p. 110460, jun. 2020. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.ecoenv.2020.110460>.

AGUILAR-ROMERO, Inés; ROMERO, Esperanza; WITTICH, Regina-Michaela; VAN DILLEWIJN, Pieter. Bacterial ecotoxicity and shifts in bacterial communities associated with the removal of ibuprofen, diclofenac and triclosan in biopurification systems. *Science Of The Total Environment*, [S.L.], v. 741, p. 140461, nov. 2020. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.scitotenv.2020.140461>.

AGUILAR-ROMERO, Inés; VAN DILLEWIJN, Pieter; NESME, Joseph; SØRENSEN, Søren J.; NOGALES, Rogelio; DELGADO-MORENO, Laura; ROMERO, Esperanza. A novel and affordable bioaugmentation strategy with microbial extracts to accelerate the biodegradation of emerging contaminants in different media. *Science Of The Total Environment*, [S.L.], v. 834, p. 155234, ago. 2022. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.scitotenv.2022.155234>.

BALABANIC, D.; HERMOSILLA, D.; BLANCO, A.; MERAYO, N.; KLEMENCIC, A. K. The possibility of removal of endocrine disrupters from paper mill waste waters using anaerobic and aerobic biological treatment, membrane bioreactor, ultra31Lopes TSA, Sena RF, Athayde Junior GB filtration, reverse osmosis and advanced oxidation processes. *Environmental toxicology III*, v. 32, p. 33-44, 2010. <https://doi.org/10.2495/etox100041>

BEAUD, M. (1994). *História do capitalismo: de 1500 até nossos dias*. 4. ed. São Paulo: Brasiliense.

BERGSVEINSON, J.; PERRY, B.J.; SHEEDY, C.; BRAUL, L.; REEDYK, S.; GOSSEN, B.D.; YOST, C.K.. Identifying the core bacterial and fungal communities within four agricultural *Biobeds* used for the treatment of pesticide rinsates. *Journal Of Applied Microbiology*, [S.L.], v. 125, n. 5, p. 1333-1342, 30 ago. 2018. Wiley. <http://dx.doi.org/10.1111/jam.14051>.

BERNARDELLI, P. V.; NAGEL-HASSEMER, M. E.; GEBLER, L. Introduction of advanced oxidative pre-treatment in the *Biobed* reactor system in the final disposal process of pesticide effluents. *CHEMICAL ENGINEERING TRANSACTIONS*, v. 86, p. 685-690, 2021. <https://doi.org/10.3303/CET2186115>

BRICEÑO G, PIZZUL L, DIEZ MC. Biodegradation of Pesticides by Actinobacteria and their Possible Application in *Biobed* Systems. In: Amoroso MJ, Benimeli CS, Cuozzo SA

(eds) Actinobacteria application in bioremediation and production of industrial enzymes. Taylor & Francis, Boca Raton, FL, 2013. pp 245–255

BRICEÑO, Gabriela; TORTELLA, Gonzalo; RUBILAR, Olga; PALMA, Graciela; DIEZ, M. Cristina. Advances in Chile for the Treatment of Pesticide Residues: *Biobeds* technology. Bioremediation In Latin America, [S.L.], p. 53-68, 2014. Springer International Publishing. http://dx.doi.org/10.1007/978-3-319-05738-5_4.

BRUM, A. (1988). Modernização da agricultura: trigo e soja. Petrópolis: Vozes.

CARDOSO EJB, ALVES PRL. Ecotoxicologia do solo. In: Begum G, editor. Ecotoxicologia. Rijeka: InTech – Editora de Acesso Aberto. 2012; págs. 27-50.

CARNIEL, L. S. C. Avaliação do risco ecológico de Mancozebe e Clorpirifós para representantes da macro e mesofauna do solo e eficiência de leitos biológicos de descarte. Dissertação (Mestrado), Lages: Universidade do Estado de Santa Catarina, Centro de Ciências Agroveterinárias, Programa de Pós-Graduação em Ciência do Solo, 2015, 140 p.

CASTILLO, María del Pilar; TORSTENSSON, Lennart. *Biobeds* - Biotechnology for Environmental Protection from Pesticide Pollution. Methods And Techniques For Cleaning-Up Contaminated Sites, [S.L.], p. 145-151, 2008. Springer Netherlands. http://dx.doi.org/10.1007/978-1-4020-6875-1_13.

CASTRO-GUTIÉRREZ, Víctor; MASÍS-MORA, Mario; DIEZ, María Cristina; TORTELLA, Gonzalo R.; RODRÍGUEZ-RODRÍGUEZ, Carlos E.. Aging of biomixtures: effects on carbofuran removal and microbial community structure. Chemosphere, [S.L.], v. 168, p. 418-425, fev. 2017. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.chemosphere.2016.10.065>.

CHAIM, Aldemir. Manual de tecnologia de aplicação de agrotóxicos / Aldemir Chaim. Brasília, DF: Embrapa Informação Tecnológica, 2009. 73p.

CHAUDHRY, Qasim *et al.* Utilising the Synergy between Plants and Rhizosphere Microorganisms to Enhance Breakdown of Organic Pollutants in the Environment (15 pp). Environmental Science And Pollution Research - International, [S.L.], v. 12, n. 1, p. 34-48, 5 ago. 2004. Springer Science and Business Media LLC. <http://dx.doi.org/10.1065/espr2004.08.213>.

CHIN-PAMPILLO, Juan Salvador; RUIZ-HIDALGO, Karla; MASÍS-MORA, Mario; CARAZO-ROJAS, Elizabeth; RODRÍGUEZ-RODRÍGUEZ, Carlos E.. Adaptation of biomixtures for carbofuran degradation in on-farm biopurification systems in tropical regions. Environmental Science And Pollution Research, [S.L.], v. 22, n. 13, p. 9839-9848, 3 fev. 2015. Springer Science and Business Media LLC. <http://dx.doi.org/10.1007/s11356-015-4130-6>.

COPPOLA L, CASTILLO MDP, MONACI E, VISCHETTI C (2007) Adaptação da composição do *Biobed* para degradação de clorpirifós às condições do sul da Europa. J Agric Food Chem 55:396–401 18. Diez MC, Tortella GR, Briceño G, Castillo MDP, Díaz J, Palma G, Altamirano C, Calderón C, Rubilar O (2013)

COPPOLA, Laura; CASTILLO, Maria D. P.; MONACI, Elga; VISCHETTI, Costantino. Adaptation of the *Biobed* Composition for Chlorpyrifos Degradation to Southern Europe Conditions. *Journal Of Agricultural And Food Chemistry*, [S.L.], v. 55, n. 2, p. 396-401, 23 dez. 2006. American Chemical Society (ACS). <http://dx.doi.org/10.1021/jf062744n>.

COPPOLA, Laura; COMITINI, Francesca; CASUCCI, Cristiano; MILANOVIC, Vesna; MONACI, Elga; MARINOZZI, Maria; TACCARI, Manuela; CIANI, Maurizio; VISCHETTI, Costantino. Fungicides degradation in an organic biomixture: impact on microbial diversity. *New Biotechnology*, [S.L.], v. 29, n. 1, p. 99-106, dez. 2011. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.nbt.2011.03.005>.

COPPOLA, Laura; COMITINI, Francesca; CASUCCI, Cristiano; MILANOVIC, Vesna; MONACI, Elga; MARINOZZI, Maria; TACCARI, Manuela; CIANI, Maurizio; VISCHETTI, Costantino. Fungicides degradation in an organic biomixture: impact on microbial diversity. *New Biotechnology*, [S.L.], v. 29, n. 1, p. 99-106, dez. 2011. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.nbt.2011.03.005>.

CÓRDOVA-MÉNDEZ, Edgar A.; GÓNGORA-ECHEVERRÍA, Virgilio R.; GONZÁLEZ-SÁNCHEZ, Avel; QUINTAL-FRANCO, Carlos; GIÁCOMAN-VALLEJOS, Germán; PONCE-CABALLERO, Carmen. Pesticide treatment in *Biobed* systems at microcosms level under critical moisture and temperature range using an Orthic Solonchaks soil from southeastern Mexico amended with corn husk as support. *Science Of The Total Environment*, [S.L.], v. 772, p. 145038, jun. 2021. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.scitotenv.2021.145038>.

DELGADO-MORENO, Laura; NOGALES, Rogelio; ROMERO, Esperanza. Vermiremediation of Biomixtures from *Biobed* Systems Contaminated with Pesticides. *Applied Sciences*, [S.L.], v. 10, n. 9, p. 3173, 2 maio 2020. MDPI AG. <http://dx.doi.org/10.3390/app10093173>.

DIAS, Leticia de A.; GEBLER, Luciano; NIEMEYER, Júlia C.; ITAKO, Adriana T. Lixo de Pínus e Vermicomposto como Substratos Alternativos para *Biobeds*: Eficiência na Degradação de Agrotóxicos. *Poluição do Solo da Água* 232, 283 (2021). <http://doi.org/10.1007/s11270-021-05231-y>.

DIAS, Leticia de A.; GEBLER, Luciano; NIEMEYER, Júlia C.; ITAKO, Adriana T.. Destination of pesticide residues on *Biobeds*: state of the art and future perspectives in latin america. *Chemosphere*, [S.L.], v. 248, p. 126038, jun. 2020. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.chemosphere.2020.126038>.

DIAZ, Jean Manuel Castillo; DELGADO-MORENO, Laura; NÖÑEZ, Rafael; NOGALES, Rogelio; ROMERO, Esperanza. Enhancing pesticide degradation using indigenous microorganisms isolated under high pesticide load in bioremediation systems with vermicomposts. *Bioresource Technology*, [S.L.], v. 214, p. 234-241, ago. 2016. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.biortech.2016.04.105>.

DIEZ, C., TORTELLA, G., Briceño, G., Castillo, M. del P., Diaz, J., Palma, G., ... Rubilar, O. (2013). Influência de novos resíduos lignocelulósicos em um sistema de biopurificação em

leito biológico na degradação de pesticidas aplicados em doses repetidamente altas. Revista Eletrônica de Biotecnologia, 16(6). doi:10.2225/vol16-issue6-fulltext-17

DIEZ, M.C; SCHALCHLI, H; ELGUETA, S; SALGADO, E; MILLAHUEQUE, N; RUBILAR, O; TORTELLA, G.R; BRICEÑO, G. Rhizosphere effect on pesticide degradation in *Biobeds* under different hydraulic loads. Journal Of Soil Science And Plant Nutrition, [S.L.], n. , p. 0, 2015. Springer Science and Business Media LLC. <http://dx.doi.org/10.4067/s0718-95162015005000037>.

DIEZ, MC ASPECTOS BIOLÓGICOS ENVOLVIDOS NA DEGRADAÇÃO DE POLUENTES ORGÂNICOS. J. Soil Sci. Planta Nutr. Temuco , v. 10, n. 3, pág. 244-267, julho de 2010 . Disponível em <http://www.scielo.cl/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0718-95162010000100004&lng=en&nrm=iso>. acesso em 13 de junho de 2022. <http://dx.doi.org/10.4067/S0718-95162010000100004>.

DIEZ, MC, Mora, ML, VIDELA, S. 1999. Adsorção de fenol e cor de BKME usando compostos alofânicos sintéticos. Água Res. 33(1), 125-130.

DZIOŃEK, Anna; WOJCIESZYŃSKA, Danuta; GUZIK, Urszula. Natural carriers in bioremediation: a review. Electronic Journal Of Biotechnology, [S.L.], v. 23, p. 28-36, set. 2016. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.ejbt.2016.07.003>.

EBELE, Anekwe Jennifer; ABDALLAH, Mohamed Abou-Elwafa; HARRAD, Stuart. Pharmaceuticals and personal care products (PPCPs) in the freshwater aquatic environment. Emerging Contaminants, [S.L.], v. 3, n. 1, p. 1-16, mar. 2017. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.emcon.2016.12.004>.

FAO (Food and Agriculture Organization). Agricultural database, 2003. Disponível em: <http://www.fao.org>.

FERNÁNDEZ-ALBERTI, S; RUBILAR, O; TORTELLA, G.R; DIEZ, M.C. Chlorpyrifos degradation in a Biomix: effect of pre-incubation and water holding capacity. Journal Of Soil Science And Plant Nutrition, [S.L.], n. , p. 0, 2012. Springer Science and Business Media LLC. <http://dx.doi.org/10.4067/s0718-95162012005000032>.

FOGG, Paul; BOXALL, Alistair B. A.; WALKER, Allan; JUKES, Andrew. Effect of Different Soil Textures on Leaching Potential and Degradation of Pesticides in *Biobeds*. Journal Of Agricultural And Food Chemistry, [S.L.], v. 52, n. 18, p. 5643-5652, 12 ago. 2004. American Chemical Society (ACS). <http://dx.doi.org/10.1021/jf040023n>.

FOGG, Paul; BOXALL, Alistair Ba; WALKER, Allan; A JUKES, Andrew. Pesticide degradation in a *Biobed*? composting substrate. Pest Management Science, [S.L.], v. 59, n. 5, p. 527-537, 2003. Wiley. <http://dx.doi.org/10.1002/ps.685>.

FOGG, Paul; BOXALL, Alistair Ba; WALKER, Allan; A JUKES, Andrew. Pesticide degradation in a *Biobed*? composting substrate. Pest Management Science, [S.L.], v. 59, n. 5, p. 527-537, 2003. Wiley. <http://dx.doi.org/10.1002/ps.685>.

FUNDACENTRO. Prevenção de acidentes no trabalho com agrotóxicos: segurança e saúde no trabalho, n. 3. São Paulo: Fundação Jorge Duprat Figueiredo de Segurança e Medicina do Trabalho, Ministério do Trabalho, 1998.

GANONG, L.H. Integrative reviews of nursing research. *Research in Nursing & Health*, New York, v. 10, n.11, p. 1-11. 1987.

GAO, Wenxuan; LIANG, Junfeng; PIZZUL, Leticia; FENG, Xin Mei; ZHANG, Keqiang; CASTILLO, Maria del Pilar. Evaluation of spent mushroom substrate as substitute of peat in Chinese *Biobeds*. *International Biodeterioration & Biodegradation*, [S.L.], v. 98, p. 107-112, mar. 2015. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.ibiod.2014.12.008>.

GEBLER, L., FIALHO, F. B. Introduzindo critérios de risco em modelos de contaminação pontual para locais de carga de agrotóxicos. *Pesticidas: relação ecotoxicológica e meio ambiente*, Curitiba, v. 21, p. 85-94, jan./dez. 2011.

GEBLER, Luciano, *et al.* Bioreactors to Organize the Disposal of Phytosanitary Effluents of Brazilian Apple Production. *Chemical engineering transactions*, v.43, 2015.

GEBLER, Luciano. Orientações para o Dimensionamento e Operação de *Biobeds* no Brasil. Comunicado Técnico, 204. Bento Gonçalves: Embrapa Uva e Vinho, 5p (2017).

GEBLER, Luciano. Pontos de abastecimento de pulverizadores agrícolas: Uma revisão comparando os modelos em uso. *Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental*, v.15, n.11, p.1180–1185, 2011.

GEBLER, Luciano. Sistema *Biobed* Brasil: Tecnologia para Disposição Final de Efluentes Contaminados com Agrotóxicos Originados na Produção de Frutas de Clima Temperado. Bento Gonçalves: Embrapa Uva e Vinho, 47p. (EMBRAPA UVA E VINHO. Documentos: 94).

GEBLER, Luciano; PIZZUTTI, Ionara R.; CARDOSO, Carmem D.; KLAUBERG, Osmar Filho; MIQUELLUTI, David J.; SIVORI, Regis S.s.. Bioreactors to organize phytosanitary effluents disposal of brazilian apple production. *Chemical Engineering Transactions*, [S.L.], v. 43, p. 343-348, 2015. AIDIC: Italian Association of Chemical Engineering. <http://dx.doi.org/10.3303/CET1543058>

GIKAS, Georgios D.; PÉREZ-VILLANUEVA, Marta; TSIORAS, Mathaios; ALEXOUDIS, Christos; PÉREZ-ROJAS, Greivin; MASÍS-MORA, Mario; LIZANO-FALLAS, Verónica; RODRÍGUEZ-RODRÍGUEZ, Carlos E.; VRYZAS, Zisis; TSIHRINTZIS, Vassilios A.. Low-cost approaches for the removal of terbuthylazine from agricultural wastewater: constructed wetlands and biopurification system. *Chemical Engineering Journal*, [S.L.], v. 335, p. 647-656, mar. 2018. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.cej.2017.11.031>.

GIKAS, Georgios D.; PÉREZ-VILLANUEVA, Marta; TSIORAS, Mathaios; ALEXOUDIS, Christos; PÉREZ-ROJAS, Greivin; MASÍS-MORA, Mario; LIZANO-FALLAS, Verónica; RODRÍGUEZ-RODRÍGUEZ, Carlos E.; VRYZAS, Zisis; TSIHRINTZIS, Vassilios A.. Low-cost approaches for the removal of terbuthylazine from agricultural wastewater: constructed wetlands and biopurification system. *Chemical Engineering Journal*, [S.L.], v. 335, p. 647-656, mar. 2018. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.cej.2017.11.031>.

GRASSI, Mariangela; RIZZO, Luigi; FARINA, Anna. Endocrine disruptors compounds, pharmaceuticals and personal care products in urban wastewater: implications for agricultural reuse and their removal by adsorption process. *Environmental Science And Pollution Research*, [S.L.], v. 20, n. 6, p. 3616-3628, 27 mar. 2013. Springer Science and Business Media LLC. <http://dx.doi.org/10.1007/s11356-013-1636-7>.

HOUTMAN, Corine J.. Emerging contaminants in surface waters and their relevance for the production of drinking water in Europe. *Journal Of Integrative Environmental Sciences*, [S.L.], v. 7, n. 4, p. 271-295, dez. 2010. Informa UK Limited. <http://dx.doi.org/10.1080/1943815x.2010.511648>.

HUETE-SOTO, Alejandra; CASTILLO-GONZÁLEZ, Humberto; MASÍS-MORA, Mario; CHIN-PAMPILLO, Juan Salvador; RODRÍGUEZ-RODRÍGUEZ, Carlos E.. Effects of oxytetracycline on the performance and activity of biomixtures: removal of herbicides and mineralization of chlorpyrifos. *Journal Of Hazardous Materials*, [S.L.], v. 321, p. 1-8, jan. 2017. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.jhazmat.2016.08.078>.

HUY, Dao Vãn *et al.* Avaliação da Ecotoxicidade de Biomisturas Usadas para Degradação de Pesticidas. *VNU Journal of Science: Earth and Environmental Sciences*, [SI], v. 36, n. 3, set. 2020. ISSN 2588-1094. Disponível em: < <https://js.vnu.edu.vn/EES/article/view/4654> >. Data de acesso: 12 mar. 2022. doi:<https://doi.org/10.25073/2588-1094/vnuees.4654>

KARANASIOS, Evangelos C.; TSIROPOULOS, Nikolaos G.; KARPOUZAS, Dimitrios G.. Quantitative and qualitative differences in the metabolism of pesticides in *Biobed* substrates and soil. *Chemosphere*, [S.L.], v. 93, n. 1, p. 20-28, set. 2013. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.chemosphere.2013.04.049>.

KARANASIOS, Evangelos; TSIROPOULOS, Nikolaos G.; KARPOUZAS, Dimitrios G.. On-farm biopurification systems for the depuration of pesticide wastewaters: recent biotechnological advances and future perspectives. *Biodegradation*, [S.L.], v. 23, n. 6, p. 787-802, 18 jul. 2012. Springer Science and Business Media LLC. <http://dx.doi.org/10.1007/s10532-012-9571-8>

KARANASIOS, Evangelos; TSIROPOULOS, Nikolaos G.; KARPOUZAS, Dimitrios G.; MENKISSOGLU-SPIROUDI, Urania. Novel biomixtures based on local Mediterranean lignocellulosic materials: evaluation for use in *Biobed* systems. *Chemosphere*, [S.L.], v. 80, n. 8, p. 914-921, ago. 2010. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.chemosphere.2010.06.003>.

KARANASIOS, Evangelos; TSIROPOULOS, Nikolaos G.; KARPOUZAS, Dimitrios G.; EHALIOTIS, Constantinos. Degradation and Adsorption of Pesticides in Compost-Based Biomixtures as Potential Substrates for *Biobeds* in Southern Europe. *Journal Of Agricultural And Food Chemistry*, [S.L.], v. 58, n. 16, p. 9147-9156, 28 jul. 2010. American Chemical Society (ACS). <http://dx.doi.org/10.1021/jf1011853>.

KARANASIOS, Evangelos; TSIROPOULOS, Nikolaos G.; KARPOUZAS, Dimitrios G.; MENKISSOGLU-SPIROUDI, Urania. Novel biomixtures based on local Mediterranean lignocellulosic materials: evaluation for use in *Biobed* systems. *Chemosphere*, [S.L.], v. 80, n. 8, p. 914-921, ago. 2010. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.chemosphere.2010.06.003>.

KRAMER, Marc G.; LAJTHA, Kate; THOMAS, Gesa; SOLLINS, Phillip. Contamination effects on soil density fractions from high N or C content sodium polytungstate. *Biogeochemistry*, [S.L.], v. 92, n. 1-2, p. 177-181, 11 dez. 2008. Springer Science and Business Media LLC. <http://dx.doi.org/10.1007/s10533-008-9268-6>.

KRAVVARITI, Konstantina; TSIROPOULOS, Nikolaos G; KARPOUZAS, Dimitrios G. Degradation and adsorption of terbuthylazine and chlorpyrifos in *Biobed* biomixtures from composted cotton crop residues. *Pest Management Science*, [S.L.], v. 66, n. 10, p. 1122-1128, 9 jul. 2010. Wiley. <http://dx.doi.org/10.1002/ps.1990>.

KUMARI, Anu; KUMARI, Usha; GUPTA, Suman; SINGH, Neera. Azoxystrobin and imidacloprid degradation in *Biobed* setup under laboratory conditions. *International Journal Of Environmental Analytical Chemistry*, [S.L.], p. 1-8, 24 fev. 2021. Informa UK Limited. <http://dx.doi.org/10.1080/03067319.2021.1890065>.

KUMARI, Anu; MANDAL, Abhishek; SINGH, Neera. Kinetics and isotherm modeling of azoxystrobin and imidacloprid retention in biomixtures. *Journal Of Environmental Science And Health, Part B*, [S.L.], v. 54, n. 2, p. 118-128, 4 out. 2018. Informa UK Limited. <http://dx.doi.org/10.1080/03601234.2018.1507230>.

KUMARI, Anu; SINGH, Neera; RAMAKRISHNAN, Balasubramanian. Parameters affecting azoxystrobin and imidacloprid degradation in *Biobed* substrates in the North Indian tropical environment. *Journal Of Environmental Science And Health, Part B*, [S.L.], v. 54, n. 10, p. 843-857, 4 jul. 2019. Informa UK Limited. <http://dx.doi.org/10.1080/03601234.2019.1633857>.

LESCANO, Maia; FUSSONI, Nerina; VIDAL, Eduardo; ZALAZAR, Cristina. Biodegradation of pesticide-contaminated wastewaters from a formulation plant employing a pilot scale *Biobed*. *Science Of The Total Environment*, [S.L.], v. 807, p. 150758, fev. 2022. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.scitotenv.2021.150758>.

LIZANO-FALLAS, Verónica; MASÍS-MORA, Mario; ESPINOZA-VILLALOBOS, David; LIZANO-BRENES, Michelle; RODRÍGUEZ-RODRÍGUEZ, Carlos E.. Removal of pesticides and ecotoxicological changes during the simultaneous treatment of triazines and chlorpyrifos in biomixtures. *Chemosphere*, [S.L.], v. 182, p. 106-113, set. 2017. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.chemosphere.2017.04.147>.

MADRIGAL-ZÑIGA, Kattia; RUIZ-HIDALGO, Karla; CHIN-PAMPILLO, Juan Salvador; MASÍS-MORA, Mario; CASTRO-GUTIÉRREZ, Víctor; RODRÍGUEZ-RODRÍGUEZ, Carlos E.. Fungal bioaugmentation of two rice husk-based biomixtures for the removal of carbofuran in on-farm biopurification systems. *Biology And Fertility Of Soils*, [S.L.], v. 52, n. 2, p. 243-250, 12 out. 2015. Springer Science and Business Media LLC. <http://dx.doi.org/10.1007/s00374-015-1071-7>.

MASIN, Carolina E.; LESCANO, Maia R.; RODRÍGUEZ, Alba R.; GODOY, José L.; ZALAZAR, Cristina S.. Earthworms to assess the innocuousness of spent biomixtures employed for glyphosate degradation. *Journal Of Environmental Science And Health, Part B*, [S.L.], v. 53, n. 8, p. 519-525, 30 abr. 2018. Informa UK Limited. <http://dx.doi.org/10.1080/03601234.2018.1462922>.

MASÍS-MORA, Mario; LIZANO-FALLAS, Verónica; TORTELLA, Gonzalo; BEITA-SANDÍ, Wilson; RODRÍGUEZ-RODRÍGUEZ, Carlos E.. Removal of triazines, triazoles and organophosphates in biomixtures and application of a biopurification system for the treatment of laboratory wastewaters. *Chemosphere*, [S.L.], v. 233, p. 733-743, out. 2019. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.chemosphere.2019.06.001>.

MONACI, Elga; COPPOLA, Laura; CASUCCI, Cristiano; PERUCCI, Piero; VISCHETTI, Costantino. Retention capacity of an organic bio-mixture against different mixtures of fungicides used in vineyards. *Journal Of Environmental Science And Health, Part B*, [S.L.], v. 44, n. 7, p. 724-729, 16 set. 2009. Informa UK Limited. <http://dx.doi.org/10.1080/03601230903163889>.

MORAES, Rodrigo Fracalossi de. *Agrotóxicos no Brasil: padrões de uso, política da regulação e prevenção da captura regulatória*. Rio de Janeiro: Instituto de Pesquisa Econômica Aplicada – Ipea, 2019. 84 p.

MURILLO-ZAMORA, Sergio; CASTRO-GUTIÉRREZ, Víctor; MASÍS-MORA, Mario; LIZANO-FALLAS, Verónica; RODRÍGUEZ-RODRÍGUEZ, Carlos E.. Elimination of fungicides in biopurification systems: effect of fungal bioaugmentation on removal performance and microbial community structure. *Chemosphere*, [S.L.], v. 186, p. 625-634, nov. 2017. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.chemosphere.2017.07.162>.

OMIROU, M.; DALIAS, P.; COSTA, C.; PAPASTEFANO, C.; DADOS, A.; EHALIOTIS, C.; KARPOUZAS, D.G.. Exploring the potential of *Biobeds* for the depuration of pesticide-contaminated wastewaters from the citrus production chain: laboratory, column and field studies. *Environmental Pollution*, [S.L.], v. 166, p. 31-39, jul. 2012. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.envpol.2012.03.001>.

PAPAZLATANI, Christina V.; KARAS, Panagiotis A.; LAMPRONIKOU, Eleni; KARPOUZAS, Dimitrios G.. Using *Biobeds* for the treatment of fungicide-contaminated effluents from various agro-food processing industries: microbiome responses and mobile genetic element dynamics. *Science Of The Total Environment*, [S.L.], v. 823, p. 153744, jun. 2022. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.scitotenv.2022.153744>.

PAPAZLATANI, Christina V.; KARAS, Panagiotis A.; TUCAT, Guillermo; KARPOUZAS, Dimitrios G.. Expanding the use of *Biobeds*: degradation and adsorption of pesticides contained in effluents from seed-coating, bulb disinfection and fruit-packaging activities. *Journal Of Environmental Management*, [S.L.], v. 248, p. 109221, out. 2019. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.jenvman.2019.06.122>.

PINTO, A.P.; RODRIGUES, S.C.; CALDEIRA, A.T.; TEIXEIRA, D.M.. Exploring the potential of novel biomixtures and *Lentinula edodes* fungus for the degradation of selected pesticides. Evaluation for use in *Biobed* systems. *Science Of The Total Environment*, [S.L.], v. 541, p. 1372-1381, jan. 2016. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.scitotenv.2015.10.046>.

QUATRIN, Gustavo D.; PIZZUTTI, Ionara R.; GEBLER, Luciano; DIAS, Jonatan V.; CARDOSO, Carmem D.. New analytical method for chlorpyrifos determination in *Biobeds*

constructed in Brazil: development and validation. *Journal Of Chromatography B*, [S.L.], v. 1157, p. 122285, nov. 2020. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.jchromb.2020.122285>.

RANDIKA, J. L. P. C.; BANDARA, P. K. G. S. S.; SOYSA, H. S. M.; RUWANDEEPIKA, H. A. D.; GUNATILAKE, S. K.. Bioremediation of pesticide-contaminated soil: a review on indispensable role of soil bacteria. *Journal Of Agricultural Sciences – Sri Lanka*, [S.L.], v. 17, n. 1, p. 19, 4 jan. 2022. Sri Lanka Journals Online (JOL). <http://dx.doi.org/10.4038/jas.v17i1.9609>.

RANI, Lata; THAPA, Komal; KANOJIA, Neha; SHARMA, Neelam; SINGH, Sukhbir; GREWAL, Ajmer Singh; SRIVASTAV, Arun Lal; KAUSHAL, Jyotsna. An extensive review on the consequences of chemical pesticides on human health and environment. *Journal Of Cleaner Production*, [S.L.], v. 283, p. 124657, fev. 2021. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.jclepro.2020.124657>.

RIVERA-UTRILLA, José; SÁNCHEZ-POLO, Manuel; FERRO-GARCÍA, María Ángeles; PRADOS-JOYA, Gonzalo; OCAMPO-PÉREZ, Raúl. Pharmaceuticals as emerging contaminants and their removal from water. A review. *Chemosphere*, [S.L.], v. 93, n. 7, p. 1268-1287, out. 2013. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.chemosphere.2013.07.059>.

RIVERO, Anisleidy; GÉREZ, Natalia; JESÛS, Florencia; NIELL, Silvina; CERDEIRAS, María Pía; HEINZEN, Horacio; CESIO, María Verónica. Unambiguous evaluation of chlorpyrifos and TCP bioremediation in laboratory and field experiments. *International Journal Of Environmental Analytical Chemistry*, [S.L.], p. 1-13, 16 set. 2020. Informa UK Limited. <http://dx.doi.org/10.1080/03067319.2020.1817429>.

RIVERO, Anisleidy; NIELL, Silvina; CERDEIRAS, M. Pía; HEINZEN, Horacio; CESIO, María Verónica. Development of analytical methodologies to assess recalcitrant pesticide bioremediation in *Biobeds* at laboratory scale. *Talanta*, [S.L.], v. 153, p. 17-22, jun. 2016. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.talanta.2016.02.025>.

RODRÍGUEZ-CASTILLO, Gabriel; MOLINA-RODRÍGUEZ, Marvin; PÉREZ-VILLANUEVA, Marta; MASÍS-MORA, Mario; RODRÍGUEZ-RODRÍGUEZ, Carlos E.. Removal of Two Neonicotinoid Insecticides and Mineralization of 14C-Imidacloprid in Biomixtures. *Bulletin Of Environmental Contamination And Toxicology*, [S.L.], v. 101, n. 1, p. 137-143, 1 jun. 2018. Springer Science and Business Media LLC. <http://dx.doi.org/10.1007/s00128-018-2370-0>.

RODRÍGUEZ-RODRÍGUEZ, Carlos E.; CAMBRONERO-HEINRICHS, Juan Carlos; CASTRO-GUTIÉRREZ, Víctor; TORTELLA, Gonzalo R.. Biopurification Systems: current advances and future prospects of on-farm biodegradation of pesticides. *The Handbook Of Environmental Chemistry*, [S.L.], p. 287-315, 2021. Springer International Publishing. http://dx.doi.org/10.1007/978_2021_798.

RODRÍGUEZ-RODRÍGUEZ, Carlos E.; CASTRO-GUTIÉRREZ, Víctor; LIZANO-FALLAS, Verónica. Alternative Approaches to Determine the Efficiency of Biomixtures Used for Pesticide Degradation in Biopurification Systems. *Methods In Pharmacology And Toxicology*, [S.L.], p. 57-73, 27 out. 2017. Springer New York. http://dx.doi.org/10.1007/978-1-4939-7425-2_3.

RODRÍGUEZ-RODRÍGUEZ, Carlos E.; MADRIGAL-LEÓN, Karina; MASÍS-MORA, Mario; PÉREZ-VILLANUEVA, Marta; CHIN-PAMPILLO, Juan Salvador. Removal of carbamates and detoxification potential in a biomixture: fungal bioaugmentation versus traditional use. *Ecotoxicology And Environmental Safety*, [S.L.], v. 135, p. 252-258, jan. 2017. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.ecoenv.2016.10.011>

ROFFIGNAC, L. de.; CATTAN, P.; MAILLOUX, J.; HERZOG, D.; BELLEC, F. I. Efficiency of a bagasse substrate in a biological bed system for the degradation of glyphosate, malathion and lambda-cyhalotrin under tropical climate conditions. *Pest Management Science*, v. 64, n. 12, p. 1303-1313, Dec. 2008. <https://doi.org/10.1002/ps.1633>

ROMERO, E., Delgado-Moreno, L. & Nogales, R. Dissipação de pesticidas e atividades enzimáticas em biomisturas não gramadas e gramíneas, compostas por resíduos de vinícolas, usadas em sistemas de biorremediação de leitos biológicos. *Poluição do Solo da Água* 230, 33 (2019). <https://doi.org/10.1007/s11270-019-4093-1>

RUIZ-HIDALGO, Karla; CHIN-PAMPILLO, Juan Salvador; MASÍS-MORA, Mario; R., Elizabeth Carazo; RODRÍGUEZ-RODRÍGUEZ, Carlos E.. Degradation of carbofuran by *Trametes versicolor* in rice husk as a potential lignocellulosic substrate for biomixtures: from mineralization to toxicity reduction. *Process Biochemistry*, [S.L.], v. 49, n. 12, p. 2266-2271, dez. 2014. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.procbio.2014.10.006>.

RUIZ-HIDALGO, Karla; MASÍS-MORA, Mario; BARBIERI, Edison; CARAZO-ROJAS, Elizabeth; RODRÍGUEZ-RODRÍGUEZ, Carlos E.. Ecotoxicological analysis during the removal of carbofuran in fungal bioaugmented matrices. *Chemosphere*, [S.L.], v. 144, p. 864-871, fev. 2016. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.chemosphere.2015.09.056>.

SAEZ, Juliana M.; BIGLIARDO, Ana L.; RAIMONDO, Enzo E.; BRICEÑO, Gabriela E.; POLTI, Marta A.; BENIMELI, Claudia S.. Lindane dissipation in a biomixture: effect of soil properties and bioaugmentation. *Ecotoxicology And Environmental Safety*, [S.L.], v. 156, p. 97-105, jul. 2018. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.ecoenv.2018.03.011>.

SANTOS, L.H.M.L.M.; ARAÚJO, A.N.; FACHINI, A.; PENA, A.; DELERUE-MATOS, C.; MONTENEGRO, M.C.B.S.M. Ecotoxicological aspects related to the presence of pharmaceuticals in the aquatic environment. *J. Hazard. Mater.* 2010, 175, 45–95.

SHIVA, V. *Monoculturas da mente: perspectiva da biodiversidade e da biotecnologia*. São Paulo: Gala, 2003.

SHUGART LR, editor. *Tópicos Emergentes em Ecotoxicologia: Princípios, Abordagens e Perspectivas*. Oak Ridge: Springer Science; 2009. 400p.

SNIEGOWSKI, Kristel; BERS, Karolien; VAN GOETEM, Kris; RYCKEBOER, Jaak; JAEKEN, Peter; SPANOGHE, Pieter; SPRINGAEL, Dirk. Improvement of pesticide mineralization in on-farm biopurification systems by bioaugmentation with pesticide-primed soil. *Fems Microbiology Ecology*, [S.L.], v. 76, n. 1, p. 64-73, 13 jan. 2011. Oxford University Press (OUP). <http://dx.doi.org/10.1111/j.1574-6941.2010.01031.x>.

TORSTENSSON L (2000) Experiences of *Biobeds* in practical use in Sweden—a method for elimination of point-source contamination. *Pest Outlook* 11:206–211

TORSTENSSON L, Castillo MdP (1997) Use of *Biobeds* in Sweden to minimize environmental spillages from agricultural spraying equipment. *Pest Outlook* 8:24–27

TORSTENSSON, L. (2000). Experiences of *Biobeds* in practical use in Sweden. *Pesticide Outlook*, 11(5), 206–211. doi:10.1039/b008025j

TORTELLA, G.R.; RUBILAR, O.; CASTILLO, M.D.P.; CEA, M.; MELLA-HERRERA, R.; DIEZ, M.C.. Chlorpyrifos degradation in a biomixture of *Biobed* at different maturity stages. *Chemosphere*, [S.L.], v. 88, n. 2, p. 224-228, jun. 2012. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.chemosphere.2012.02.072>.

TORTELLA, G.R; SALGADO, E; CUOZZO, S.A; MELLA-HERRERA, R.A; PARRA, L; DIEZ, M.C; RUBILAR, O. Combined microbiological test to assess changes in an organic matrix used to avoid agricultural soil contamination, exposed to an insecticide. *Journal Of Soil Science And Plant Nutrition*, [S.L.], n. , p. 0, 2014. Springer Science and Business Media LLC. <http://dx.doi.org/10.4067/s0718-95162014005000069>.

UNESP. Faculdade de Ciências Agrônomicas. Biblioteca Prof. Paulo de Carvalho Mattos. Tipos de revisão de literatura. Botucatu, 2015. Disponível em: <https://www.fca.unesp.br/Home/Biblioteca/tipos-de-evisao-de-literatura>. Acesso em: 26 fev.

URRUTIA, C.; RUBILAR, O.; TORTELLA, G.R.; DIEZ, M.C.. Degradation of pesticide mixture on modified matrix of a biopurification system with alternatives lignocellulosic wastes. *Chemosphere*, [S.L.], v. 92, n. 10, p. 1361-1366, ago. 2013. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.chemosphere.2013.04.088>.

LIZANO-FALLAS, V., MASÍS-MORA, M.; ESPINOZA-VILLALOBOS, D.; LIZANO-BRENES, M.; RODRÍGUEZ-RODRÍGUEZ, C.E. *Chemosphere* 182, 106 (2017).

VISCHETTI, Costantino; CAPRI, Ettore; TREVISAN, Marco; CASUCCI, Cristiano; PERUCCI, Piero. Biomassbed: a biological system to reduce pesticide point contamination at farm level. *Chemosphere*, [S.L.], v. 55, n. 6, p. 823-828, maio 2004. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.chemosphere.2003.11.042>.

VIVAS, A. B. Moreno, S. Garcia-Rodriguez, E. Benitez. Assessing the impact of composting and vermicomposting on bacterial community size and structure, and microbial functional diversity of an olive-mill waste Bioresour. Technol., 100 (3) (2009), pp. 1319-1326

VON WIRÉN-LEHR, S., del Pilar Castillo, M., Torstensson, L., & Scheunert, I. (2001). Degradation of isoproturon in *Biobeds*. *Biology and Fertility Soils* 33, 535–540 (2001). <https://doi.org/10.1007/s003740100368>.

WILDE, Tineke de; SPANOGHE, Pieter; RYCKEBOER, Jaak; JAEKEN, Peter; SPRINGAEL, Dirk. Sorption characteristics of pesticides on matrix substrates used in biopurification systems. *Chemosphere*, [S.L.], v. 75, n. 1, p. 100-108, mar. 2009. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.chemosphere.2008.11.037>.

WILDE, Tineke de; SPANOGHE, Pieter; RYCKEBOER, Jaak; JAEKEN, Peter; SPRINGAEL, Dirk. Transport and degradation of pesticides in a biopurification system under

variable flux, part I: a microcosm study. *Environmental Pollution*, [S.L.], v. 158, n. 10, p. 3309-3316, out. 2010. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.envpol.2010.07.021>.

CAPÍTULO 2

ANÁLISES MICROBIOLÓGICAS PARA AVALIAÇÃO DO COMPORTAMENTO DA COMUNIDADE FÚNGICA EM SISTEMAS *BIOBEDS*

RESUMO

Ao considerar o contexto brasileiro no aumento da produtividade agrícola e o uso intensivo de agrotóxicos, diversos aspectos negativos emergem ocasionando impactos socioambientais. O Brasil é considerado um dos maiores consumidores de agrotóxicos do mundo, contudo, os efeitos de muitas moléculas ainda não estão bem esclarecidos em relação à sua toxicidade em organismos não-alvo. Aliado a isso, ainda há uma problemática em relação a utilização e descarte de agrotóxicos, que por diversas vezes acabam sendo realizados de maneira inadequada. O metidationa (Suprathion 400 EC) é um inseticida organofosforado amplamente utilizado na maleicultura brasileira. Considerando, existem poucas informações ou dados na literatura sobre sua persistência bem como os possíveis efeitos na microbiota do solo. Com o intuito de suprir algumas dessas limitações, este estudo teve como objetivo: I) realizar a instalação de um sistema *Biobed* piloto para o tratamento de resíduos de metidationa e II) avaliar o desenvolvimento e a maturação biológica em duas matrizes: a biomistura composta por solo agrícola, palha e acícula de pínus (BA) e outra recebendo apenas solo agrícola (BS) bem como os efeitos deste agrotóxico sobre a comunidade fúngica. As análises foram realizadas com base no método de contagem de Unidades Formadoras de Colônias (UFC). As amostras das matrizes foram coletadas periodicamente, onde passaram por um processo de diluição seriada e inoculação na superfície de placas de Petri contendo o meio de cultura extrato de malte-ágar. Após 7 dias de incubação, estas placas eram recolhidas para a contagem final das colônias formadas. Ao analisar os resultados obtidos, foi possível obter um melhor entendimento mudanças no perfil da comunidade de fungos ocasionada ao longo do experimento, além de insights sobre a capacidade potencial de tratamento em diferentes matrizes. Embora cada um dos tratamentos fosse composto de diferentes materiais e possam ser considerados ambientes microbianos independentes, a resposta da microbiota ao evento de contaminação foi semelhante. Após a aplicação da metidationa, a resposta da comunidade de fungos em ambas as matrizes contaminadas apresentou uma queda que perdurou durante os 90 dias de monitoramento. A acícula de pínus demonstrou ser o material mais adequado, promovendo a colonização e desenvolvimento da microbiota. Os resultados sugerem que as biomisturas tiveram uma atividade biológica incipiente para tratar os resíduos. Deve-se ponderar que o tempo de amostragem se demonstrou principiante ao processo de desintoxicação. Para um melhor parecer, seria necessário a continuidade no tempo de monitoramento.

Palavras-Chave: Atividade biológica; Biodegradação; Fungos; Resíduos de agrotóxicos; Metidationa.

ABSTRACT

When considering the Brazilian context in the increase of agricultural productivity and the intensive use of pesticides, several negative aspects emerge causing socio-environmental impacts. Brazil is considered one of the largest consumers of pesticides in the world, however, the effects of many molecules are still not well understood in relation to their toxicity in non-target organisms. Allied to this, there is still a problem regarding the use and disposal of pesticides, which often end up being carried out inappropriately. Methidathione (Suprathion 400 EC) is an organophosphate insecticide widely used in Brazilian male culture. Considering, there is little information or data in the literature about its persistence as well as the possible effects on the soil microbiota. In order to overcome some of these limitations, this study aimed to: I) carry out the installation of a pilot *Biobed* system for the treatment of methidathione residues and II) evaluate the development and biological maturation in two matrices: the biomixture composed of agricultural soil, straw and pinus needle (BA) and another receiving only agricultural soil (BS) as well as the effects of this pesticide on the fungal community. The analyzes were performed based on the Colony Forming Units (CFU) counting method. Samples from the matrices were periodically collected, where they went through a process of serial dilution and inoculation on the surface of Petri dishes containing the malt-agar extract culture medium. After 7 days of incubation, these plates were collected for the final count of colonies formed. By analyzing the results obtained, it was possible to obtain a better understanding of the changes in the profile of the fungal community caused throughout the experiment, as well as insights into the potential treatment capacity in different matrices. Although each of the treatments was composed of different materials and can be considered independent microbial environments, the response of the microbiota to the contamination event was similar. After the application of methidathione, the response of the fungal community in both contaminated matrices showed a drop that lasted during the 90 days of monitoring. The pine needle proved to be the most suitable material, promoting the colonization and development of the microbiota. The results suggest that the biomixes had an incipient biological activity to treat waste. It should be considered that the sampling time proved to be a beginner in the detoxification process. For a better opinion, continuity in monitoring time would be necessary.

Key-words: Biological activity; Biodegradation; Fungi; Pesticides residues; Metidathione.

1 INTRODUÇÃO

Ao considerar o contexto brasileiro de aumento da produtividade agrícola e o uso intensivo de agrotóxicos, diversos aspectos negativos emergem ocasionando impactos socioambientais. O Brasil é considerado um dos maiores consumidores de agrotóxicos do mundo (ANVISA, 2019). Contudo, os efeitos de muitas moléculas ainda não estão bem esclarecidos em relação à sua toxicidade em organismos não-alvo (MASÍS-MORA *et al.*, 2020). Aliado a isso, ainda há uma problemática em relação a utilização e descarte de agrotóxicos, que por diversas vezes são realizados de maneira inadequada (CASTILLO *et al.* 2008; KARANASIOS *et al.*, 2012).

O solo pode ser considerado o ambiente biológico mais diretamente afetado pelo uso de agrotóxicos. Ele é responsável por inúmeras funções ambientais, além de abrigar diversos organismos que contribuem direta ou indiretamente com a prestação de serviços ecossistêmicos (PARRON *et al.*, 2015; OCKLEFORD *et al.*, 2017). Nesse contexto, a busca por estratégias adequadas para a destinação de resíduos contendo agrotóxicos torna-se uma necessidade. Os sistemas *Biobeds* surgiram como uma abordagem biotecnológica viável para a degradação de agrotóxicos. Este sistema foi desenvolvido na Suécia e devido à sua eficiência, posteriormente ganharam adaptações e instalações em diversas localidades como a exemplo da América do Sul (RIVERO *et al.*, 2016; DIAS *et al.*, 2021; LESCANO *et al.*, 2022).

O principal componente constituinte é uma matriz composta por materiais selecionados, chamada biomistura. Ela é responsável por desenvolver uma microbiota ativa, que promove um dos principais processos responsáveis pela descontaminação ambiental. Estudos relatam que a degradação microbiana é um importante via de degradação para agrotóxicos (ETO, 1977; MATSUMARA, 1982; CASTILLO *et al.*, 2008; DIEZ *et al.*, 2013). Embora esses ecossistemas projetados demonstrem remoção eficiente para determinados agrotóxicos, a dinâmica funcional do microbioma ainda permanece pouco estudada no que se refere a inseticidas organofosforados como a metidationa. Como tal, a caracterização adicional desses parâmetros pode auxiliar na otimização de suas propriedades e implantação do sistema.

Com o intuito de suprir algumas dessas limitações, este capítulo teve por objetivo realizar a instalação de um sistema *Biobed* em escala piloto para o tratamento de resíduos de

metidationa e, utilizando deste sistema, avaliar o desenvolvimento e a maturação biológica em duas matrizes: uma biomistura composta por solo agrícola, palha e acícula de pínus (BA) e outra composta apenas por solo agrícola (BS), além dos efeitos do inseticida metidationa sobre a microbiota. O emprego de um sistema constituído exclusivamente por solo, objetiva simular o seu comportamento na adsorção e degradação do agrotóxico. Através dos resultados, será possível comparar e evidenciar qual dos componentes possui maior potencial.

2 MATERIAIS E MÉTODOS

2.1 LOCALIZAÇÃO DA ÁREA DE EXPERIMENTO

Os experimentos foram realizados na Universidade Federal de Santa Catarina, Campus de Curitibanos. Os espaços utilizados foram a Fazenda Experimental, os Laboratórios de Fitopatologia e Biologia do Solo, além da casa de vegetação. A área utilizada para a instalação dos *Biobeds* foi uma Casa de Vegetação pertencente ao CBS 01, no qual não possuía em sua estrutura nenhum sistema de controle interno, como a exemplo de irrigação e temperatura.

A respeito das características de Curitibanos, cada destacar que o município está localizado na região Planalto Serrano no estado de Santa Catarina, abrangendo uma área de aproximadamente 952.283 km² de extensão territorial e com uma população estimada de 40.037 habitantes das quais, cerca de 92% encontram-se no perímetro urbano e 8% no perímetro rural, conforme dados do IBGE (2021). De acordo com dados do IPEA (2020), o município foi apontado no Censo Agropecuário de 2017, como uma das localidades com intensificação no uso de agrotóxicos.

Inserido em uma altitude de 987 m, o clima da região de Curitibanos é classificado como Cfb, caracterizado como clima temperado, conforme a classificação climática de Köppen e Geiger (1928). Conforme dados da EPAGRI, a média anual das temperaturas absolutas é de 0,6 °C e máximas de 30,9 °C. A pluviosidade média anual na região é de 1.647 mm (Pandolfo, 2002) e a umidade relativa é de 78% (WREGGE *et al.*, 2012). Na região de Curitibanos predominam os solos do tipo Cambissolos e Argissolos (CEPA, 2003). O bioma característico é a Mata Atlântica com fitofisionomia da Floresta Ombrófila Mista, popularmente conhecida como Mata de Araucária.

2.2 OBTENÇÃO DOS MATERIAIS E MONTAGEM DO SISTEMA

Para a composição da biomistura foi realizada a coleta dos materiais em diferentes localidades. A palha de milho utilizada foi retirada de áreas de cultivo agrícola no município de Videira/SC. As palhas de milho foram trituradas em um forrageador, ficando com um tamanho aproximado cinco centímetros, para facilitar a homogeneidade da biomistura, conforme o apontado por Castillo, Torstensson e Stenström (2008).

A acícula foi coletada na área de reflorestamento de Pínus localizada dentro da Fazenda Experimental Agropecuária, que foi implantada em 2005. Para a coleta, buscou-se selecionar a camada intermediária de acícula que estava depositada no solo, para selecionar os fragmentos que já tenham iniciado o processo de degradação e continham possíveis fungos nativos.

O solo escolhido foi coletado também dentro da Fazenda Experimental Agropecuária em uma área de cultivo agrícola. A seleção do solo agrícola foi no intuito de assegurar que a microbiota, presente nas amostras de solo, seja nativa da região, bem como já tenha sido exposta a produtos químicos empregado na lavoura. As amostras de solo foram retiradas da camada superficial entre de 0 a 20 cm. O solo foi transportado com o auxílio de uma carreta agrícola, onde foi armazenado em um local protegido e com baixa luminosidade para auxiliar na preservação das comunidades de microrganismos presentes. Segundo análises realizadas, o solo selecionado pode ser classificado como Cambissolo Háptico (EMBRAPA, 2003). As propriedades do solo podem ser observadas na Tabela 1.

Tabela 1: Caracterização do solo agrícola utilizado para a composição das matrizes.

Amostra	Resultado
Matéria orgânica (mg dm ⁻³)	46,01
Carbono	26,75
pH (água)	5,20
Capacidade de troca catiônica (cmol _c dm ⁻³)	7,23
Argila (%)	58,75
Areia (%)	21,25
Silte (%)	20,00

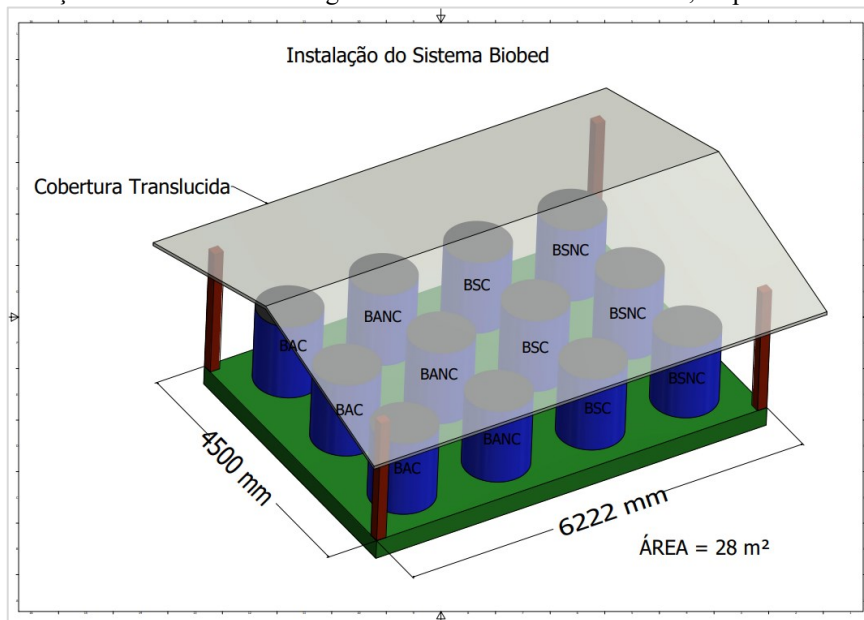
Fonte: a autora (2021).

A montagem dos *Biobeds* ocorreu no período de setembro de 2020. Para tal, utilizou-se um local adequado onde os materiais foram depositados sobre uma lona e misturados manualmente com o auxílio de uma pá de jardim e balde para obter a maior homogeneidade possível na formação da Biomistura.

A biomistura foi depositada em recipientes plásticos (popularmente conhecidos como tambores, bambonas ou barris) com capacidade de 200 litros cada. O sistema é impermeável e não possui recirculação de efluentes. Este modelo já foi utilizado em estudos na Costa Rica (Masís-Mora *et al.* 2019) e apresentou grande viabilidade. Em todos os quatro tratamentos foi realizado o plantio de gramíneas nativas.

Após a montagem, o sistema foi abrigado no Campus da UFSC Curitibanos, dentro de uma casa-de-vegetação. Este local possui aproximadamente 28m² sendo utilizado para diversos experimentos, possuía cobertura transparentes para proteger os experimentos contra os agentes meteorológicos exteriores, conforme pode ser observado na Figura 1.

Figura 1: Representação do projeto de instalação dos sistemas *Biobeds* dentro da casa-de-vegetação. Cada cilindro representa uma réplica. Os tratamentos BAC e BANC são compostos pela matriz de acícula de pinus, onde o primeiro foi exposto a contaminação de metidationa e o segundo foi utilizado como controle, respectivamente. Os tratamentos BSC e BSNC são compostos pela matriz de solo agrícola, onde o primeiro foi exposto a contaminação de metidationa e o segundo foi utilizado como controle, respectivamente.



Fonte: A autora (2020).

A casa-de-vegetação utilizada não possuía nenhum sistema de controle interno para temperatura, umidade e ventilação. Sendo assim, a manutenção da umidade das biomisturas era realizada duas vezes por semana de maneira manual com auxílio de regadores. Durante o

período do verão, a frequência semanal foi aumentada para três vezes. A verificação do ponto ideal de umidade era realizada através da coleta de amostras para testes de umidade.

O período de maturação das matrizes foi iniciado a partir do primeiro dia de montagem dos sistemas (ocorrido em setembro/2020). A previsão inicial era estimada em entre 50 a 90 dias para o processo de maturação, baseada em estudos realizados anteriormente (CASTILLO *et al.* 2008; ROFFIGNAC *et al.*, 2008; KARANASIOS *et al.*, 2012; GÓNGORA-ECHEVERRÍA *et al.*, 2017; DIAS *et al.* 2020). No entanto, devido a ocorrência da pandemia (COVID-2019) por questões de segurança e restrições de acesso às dependências da UFSC, este período teve que ser estendido, permanecendo por aproximadamente 180 dias em processo de maturação. Decorrido este período, foi realizada a avaliação das biomisturas para verificação de presença da microbiota, se a mesma se encontrava estável e o sistema possuía aptidão para receber a contaminação com o agrotóxico.

2.4 METIDATIONA (SUPRATHION 400 EC)

O ingrediente ativo selecionado para a análise foi a metidationa ($C_6H_{11}N_2O_4PS_3$) inseticida do grupo dos organofosforados, comercialmente encontrada no Brasil através do agrotóxico Suprathion 400 EC, registrado no Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento - MAPA sob nº 01258803. No Brasil, é indicado para utilização nas culturas de maçã e algodão (AGROFIT, 2022).

A seleção deste agrotóxico foi realizada com base no levantamento técnico das potencialidades do estado, onde é considerado atualmente como um dos principais estados brasileiros produtores de alimentos, especialmente na fruticultura, além do levantamento de dados com produtores e profissionais responsáveis pelo suporte técnico a fruticultores, pertencentes a Cooperativas da região Meio Oeste Catarinense. Dentre a pesquisa, o Suprathion 400 EC demonstrou-se um dos produtos mais viáveis, devido seu grande volume empregado bem como suas propriedades. Na Tabela 2 é possível observar maiores detalhes deste produto.

Tabela 2: Principais características do agrotóxico metidationa (Suprathion 400 EC).

Nome comercial	Suprathion 400 EC
Classe	Inseticida
Tipo de formulação	Concentrado Emulsionável (EC)
Princípio ativo	Metidationa e Xilol
Culturas indicadas	Algodão e maçã
Modo de aplicação	Terrestre

Intervalo de aplicações	21 dias
Meia Vida no Solo	5 a 23 dias
Meia Vida na planta	< 7 dias
Classe toxicológica	Classe I - Extremamente Tóxico
Classe toxicológica (reclassificação)	Categoria 2 – Produto Altamente Tóxico – faixa vermelha
Classificação quanto ao potencial de periculosidade ambiental	II - Produto muito perigoso
Testes ecotoxicológicos	Fauna edáfica (minhocas)
Fabricante	Adama Brasil SA

Fonte: adaptado de Extoxnet (1996), Anvisa (2019), Agrolink (2020) e Sigen (2020).

Segundo consulta no banco de dados PPDB (Pesticide Properties Database) da Universidade de Hertfordshire (2007) o metidationa possui a Solubilidade em água a 20°C (mg l^{-1}) no valor de 240, considerada moderada. Sobre seu comportamento de Adsorção e mobilidade do solo, foi classificado como moderadamente móvel (Koc 400). Além disso, apresentou Baixa lixiviabilidade e potencial de bioconcentração. Testes ecotoxicológicos foram realizados entre os representantes da fauna edáfica, foram realizados somente com minhocas da espécie *Eisenia fetida*, que demonstraram um alto risco.

Pesquisas realizadas em base de dados (BRANCH, 2004; APA, 2006) revelaram que a Metidationa foi banida na União Europeia e nos Estados Unidos, devido seu risco representativo ao ecossistema. No Brasil, no entanto, sua comercialização continua liberada. Outra questão, é que apesar da bula representar indicação apenas para o uso em culturas de maçã e algodão, estudos retrataram o emprego de Metidationa (Suprathion 400 EC) em outras culturas, como Pêra-asiática (TIBURSKI, 2015) e Videira (WURZ, *et al.*, 2019).

2.4 DELINEAMENTO EXPERIMENTAL

O experimento foi conduzido em casa de vegetação da Universidade. O delineamento experimental utilizado foi inteiramente casualizado (DIC) em esquema fatorial 4x3, sendo 4 tratamentos (BA, BANC, BS, BSNC) com 3 repetições cada, conforme descrito na Tabela 3.

Tabela 3: Descrição dos tratamentos empregados.

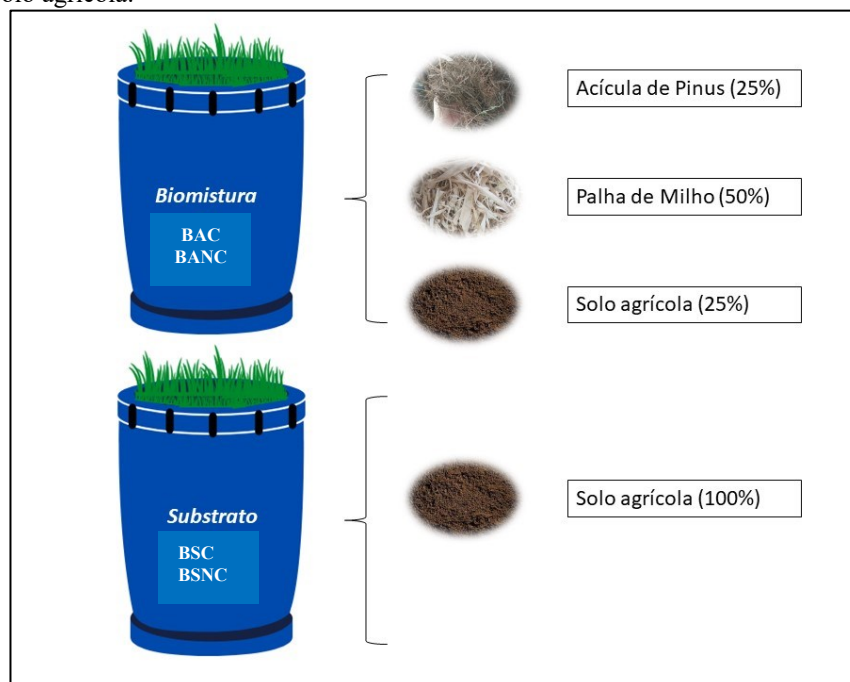
Tratamento	Abreviatura	Composição
Biomistura de acícula contaminada	BAC	Solo agrícola (50%) Palha de milho (25%) Acícula de Pínus (25%)

Tratamento	Abreviatura	Composição
Biomistura de acícula não-contaminada	BANC	Solo agrícola (50%) Palha de milho (25%) Acícula de Pinus (25%)
Biomistura de solo contaminado	BSC	Solo agrícola (100%)
Biomistura de solo não-contaminado	BSNC	Solo agrícola (100%)

Fonte: a autora (2021).

Conforme apresentado na Tabela 3, foram selecionados duas biomisturas para compor a matriz do sistema *Biobed*: a primeira foi constituída por palha de milho, acícula de pínus e solo agrícola (BANC) na proporção (2:1:1); a segunda biomistura foi composta integralmente por solo agrícola (BSNC). Esta, possui por objetivo simular o comportamento do solo na adsorção e degradação do agrotóxico, avaliar o desenvolvimento da microbiota e realizar a comparação da eficiência em relação a BANC que possui materiais lignocelulósicos. Esta escolha está relacionada com base no estudo realizado por Dias *et al* (2020) que utilizaram materiais alternativos facilmente encontrados na região Sul do Brasil. Mais detalhes podem ser observados na Figura 2.

Figura 2: Ilustração do sistema *Biobed* implantado. Recipiente BANC representa a matriz composta por acícula de pínus, palha de milho e solo (proporção 25:50:25). Recipiente BSNC representa a matriz composta exclusivamente por solo agrícola.



Fonte: A autora (2022).

2.5 REALIZAÇÃO DAS AMOSTRAGENS

As amostras das matrizes foram coletadas periodicamente, conforme pode ser observado na 4.

Tabela 4: Período de amostragem

Data da amostragem	Tempo	Descrição
05/05/2021	0	Período anterior a contaminação
08/05/2021	1	3 dias após a contaminação com agrotóxico
07/06/2021	2	30 dias após a contaminação
12/07/2021	3	60 dias após a contaminação
16/08/2021	4	90 dias após a contaminação

Fonte: a autora (2021).

A coleta foi realizada com o auxílio de um trado holandês. As amostras compostas foram coletadas em diferentes pontos do sistema (na camada compreendida entre 10- 20 cm) e depois homogeneizadas. A cada coleta, o trado era lavado em água corrente, secado e higienizado com álcool 70° a fim de evitar contaminação cruzada. Na Figura 3 é possível observar detalhes do momento da coleta.

Figura 3: Registro da coleta de amostras no sistema *Biobed*. A) Momento de inserção do trado em uma réplica; B) Ponto de retirada da amostra destacado entre o círculo vermelho.



Fonte: a autora (2021).

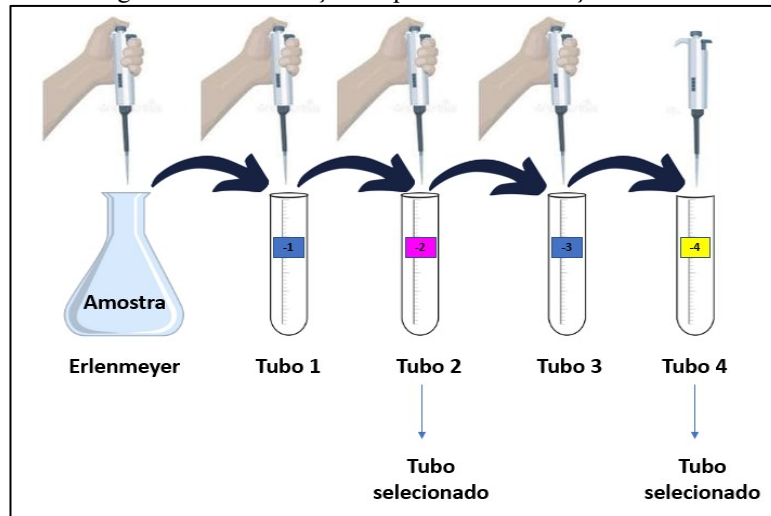
As amostragens foram armazenadas em sacos plásticos identificados, onde foram fracionadas em três partes distintas. A primeira quantidade (aproximadamente 300 g) foi separada para a análise química, para verificar se ocorreu a degradação do agrotóxico. A segunda parte (400 g) foi selecionada para os ensaios ecotoxicológicos. Essas amostras foram armazenadas congeladas (-20° C) para evitar a degradação dos agrotóxicos até a realização dos testes, conforme descrito no Capítulo 3 da presente dissertação. Uma terceira parcela da amostra (50 g) foi separada para a avaliação microbiológica.

2.6 AVALIAÇÃO MICROBIOLÓGICA

A avaliação da microbiota presente através das colônias de fungos, foi baseada no método de Contagem de Unidades Formadoras de Colônia (UFC), fundamentado nos estudos realizados por Castillo *et al.* (2001) e Dias *et al.* (2021). As amostras das biomisturas para a avaliação dos fungos foram coletadas e armazenadas na geladeira em sacos plásticos transparentes identificados. No dia seguinte à coleta (período inferior a 24h), foi iniciado o processo de avaliação. Todas estas etapas ocorreram no Laboratório de Fitopatologia da UFSC Campus de Curitibanos, utilizando a capela de fluxo laminar. Primeiramente, foram adicionados 5 g da amostra em um becker contendo 45 mL de água de peptona (concentração 2%) previamente autoclavado. Para obter uma mistura homogênea, foi encaminhado os frascos para agitação, por um período de 30 minutos a 160 rpm. Após este procedimento, as amostras ficaram 10 minutos em repouso, para decantar as partículas flutuantes e não prejudicar o processo de pipetagem.

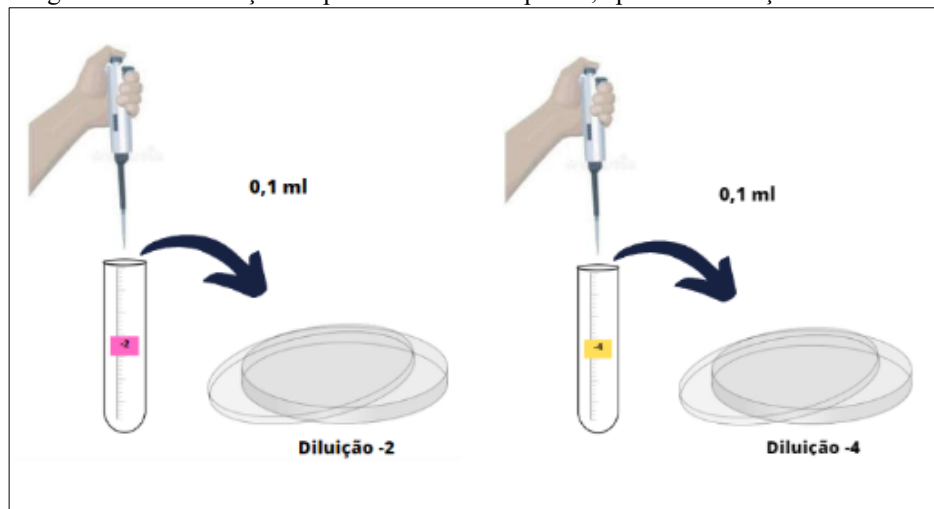
A segunda etapa consistiu na execução da diluição seriada (OLSEN E RICE, 1989). Para tal, com o auxílio de uma micropipeta automática, retirava-se a quantidade de 1 mL uma solução do becker que foi despejado em um primeiro tubo de ensaio contendo água de peptona 2%. Em seguida, coletou-se deste primeiro tubo o mesmo volume e despejou no segundo, repetindo este processo até o quarto e último tubo. Na Figura 4, é possível visualizar o procedimento.

Figura 4: Demonstração do processo de diluição seriada.



Fonte: A autora (2021).

A terceira etapa consistiu em retirar o volume de 0,1 mL das diluições seriadas realizadas no segundo e quarto tubo (que correspondiam a diluição 10^{-2} e 10^{-4}) e inserir dentro das placas de Petri, que continham o meio de cultura solidificado de extrato de Malte-Ágar, conforme pode ser observado na Figura 5.

Figura 5: Demonstração do processo de verter placas, aplicando diluições 10^{-2} e 10^{-4} .

Fonte: A autora (2021).

Ao todo, para cada amostra das matrizes, foram utilizadas duas diluições com quatro repetições cada, totalizando 96 placas para cada período de amostragem. As placas que receberam a diluição foram vedadas e incubadas em BOD a 25°C por sete dias. Durante este período, foi realizado o acompanhamento diário do aparecimento das colônias. Após sete dias

de incubação, o experimento era finalizado, através da contagem final das colônias e registro fotográfico.

2.7 CONTAMINAÇÃO COM METIDATIONA (SUPRATHION 400 EC)

O produto comercial utilizado foi o inseticida Suprathion 400 EC da Adama Brasil. As principais características e propriedades deste produto foram apresentadas no item 1.3.1 do presente capítulo. O processo de contaminação dos *Biobeds* ocorreu após o período de maturação da biomistura. O método de contaminação foi a simulação do derrame acidental de Suprathion 400 EC, em uma única dose com volume de 1 L sob os *Biobeds* selecionados, conforme pode ser observado na Figura 6.

Figura 6: Registro do momento da simulação de derramamento acidental. Para cada uma das matrizes selecionadas, foram despejados uniformemente o volume de 1L do agrotóxico sobre a camada superficial.



Fonte: A autora (2021).

O procedimento foi realizado pelo Técnico responsável do Setor Agropecuário, que possui autorização para manuseio de agrotóxicos. Durante o procedimento, foi necessário a utilização de Equipamentos de Proteção Individual (EPI'S) tais como luvas e máscaras. Para uma melhor distribuição do agrotóxico, o conteúdo do frasco foi despejado em movimentos circulares, para assegurar que toda a superfície dos *Biobeds* recebesse o agrotóxico de maneira mais homogênea possível. As embalagens vazias de agrotóxico foram recolhidas e destinadas à empresa responsável pela coleta no Campus.

2.8 ANÁLISE ESTATÍSTICA

As análises estatísticas do número UFC foram realizadas com base nos dados de contagem da diluição 10^{-2} , na qual foi obtido o maior número de colônias fúngicas. O número de colônias por tratamento foi convertido para o formato de unidades formadoras de colônias por grama de amostra (UFC g^{-1}).

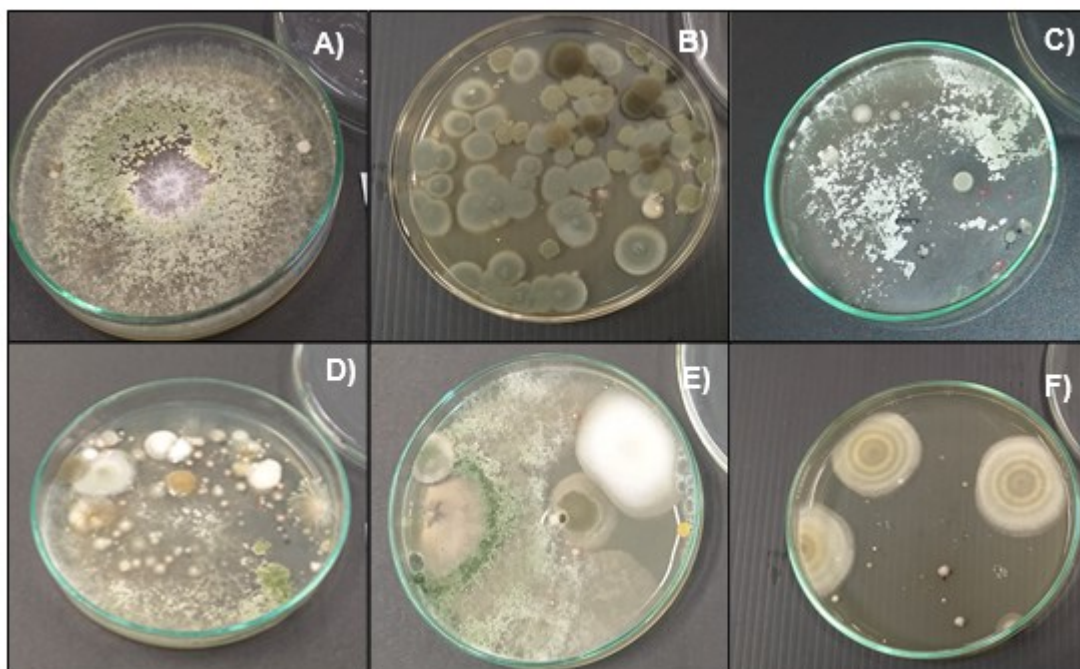
A Normalidade dos dados foi verificada através do teste de Shapiro-Wilk e a homogeneidade através do teste de Levene, no software RStudio. Em seguida, foi realizada a análise de variância (ANOVA) para experimentos fatoriais seguida do Teste de Tukey ($p < 0,05$), comparando os diferentes tratamentos.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1 CRESCIMENTO E CONTAGEM DE FUNGOS

As análises da comunidade fúngica foram avaliadas levando em consideração os quatro tratamentos estabelecidos (BAC, BANC, BS e BSNC). Estes testes iniciaram durante o período de maturação e prosseguiram após o evento de contaminação com metidationa, ao longo de 90 dias. Na Figura 7 é possível observar os detalhes do acompanhamento dos tratamentos que receberam a contaminação.

Figura 7: Imagens representando a etapa final da incubação de cada amostragem realizada: A) Amostragem do tempo de maturação, B) Amostragem intermediária (30 dias) e C) Amostragem final (90 dias), ambas correspondentes a matriz composta por Acícula de pínus e contaminada com metidationa; D) Amostragem do tempo de maturação, E) Amostragem intermediária (30 dias) e F) Amostragem final (90 dias), ambas correspondentes a matriz composta por solo agrícola e contaminado com metidationa.



Fonte: A autora (2021).

Conforme pode ser observado, verificou-se uma sucinta mudança nas características das colônias de fungos ao longo do tempo. Na primeira coleta realizada, relativa ao período de maturação, houve uma grande incidência de colônias de fungos. Com o decorrer do experimento, observou-se nas amostragens um aumento apenas da presença de fungos filamentosos. Na Tabela 5 é possível observar as médias obtidas para cada tratamento durante o período de amostragem.

Tabela 5: Média amostral das Unidades Formadoras de Colônias para cada tratamento ao longo do experimento (10^{-2} UFC g^{-1}). BAC - Biomistura de Acícula Contaminada; BANC - Biomistura de Acícula Não-contaminado; BSC - Biomistura de Solo Contaminada; BSNC - Biomistura de Solo Não-contaminada.

Amostra	Período de amostragem (dias)				
	0	3	30	60	90
BAC (Biomistura de Acícula Contaminada)	-	19,58 aB	2,75 bC	9,00 bB	8,67 bB
BANC (Biomistura de Acícula Não-contaminado)	27,67 aA	28,42 aA	22,33 bA	20,08 bA	22,92 bA
BSC (Biomistura de Solo Contaminada)	-	18,83 aB	1,00 bC	1,25 bC	4,17 bC
BSNC (Biomistura de Solo Não-contaminada)	14,12 aB	11,75 aC	15,25 aB	11,67 aB	13,92 aB

Letras iguais minúsculas nas linhas e maiúsculas nas colunas não diferem entres si pelo Teste de Tukey ($p=0,05$).
Fonte: O autor (2021).

Conforme apresentado na Tabela 5, os resultados demonstraram que a Biomistura de Acícula de Pinus apresentou um maior número de colônias de fungos durante todo o experimento quando comparado ao solo agrícola. Na Figura 9 é possível observar

Conforme apresentado na Tabela 5, os resultados demonstraram que a biomistura de acícula de pinus apresentou um maior número de colônias de fungos durante todo o experimento quando comparado ao solo agrícola.

Após o evento de contaminação com a metidationa, percebeu-se uma pequena redução no número de colônias em ambas as biomisturas contaminadas. O comportamento de recuperação foi mais perceptível no tratamento com a biomistura de acícula de pinus. No entanto, a redução mais significativa ocorreu após os 30 dias do derramamento. Este comportamento pode estar relacionado ao processo de lixiviamento da metidationa dentro da biomistura. Em um primeiro momento, o inseticida ficou na camada superficial e posteriormente começou o processo de lixiviamento, atingindo as demais camadas da biomistura.

Conforme Castillo *et al.* (2008), para que uma matriz seja capaz de reter e degradar agrotóxicos de forma eficiente, ela deve não apenas promover a sorção de pesticidas, mas também desenvolver uma flora microbiana capaz de degradação e tolerância as altas concentrações de contaminantes aplicados. A utilização de acícula de pinus proporcionou a adição de matéria orgânica às matrizes, o que influenciou na adsorção e bioacumulação de contaminantes como a exemplo da metidationa. Por ser um material lignocelulósico, a acícula de pinus, juntamente com a palha de milho, é rica em fibras, permitindo a colonização de microrganismos, como os fungos da podridão branca, que são considerados os responsáveis pela degradação da lignina e de uma ampla gama de pesticidas. A adição de acícula de pinus já havia sido avaliada em experimentos anteriores (DIAS *et al.* 2021), e apesar de ser avaliada em escala diferente das apresentadas no presente trabalho, apresentou resultados semelhantes.

A concentração inicial do agrotóxico nesta pesquisa foi considerada uma alta carga de contaminação quando comparado à maioria dos estudos que avaliaram a degradação de agrotóxicos em *Biobeds* utilizando concentrações inferiores (VISCHETTI *et al.* 2008). No entanto, a escolha do solo agrícola possibilitou fornecer o inóculo de populações microbiológicas adaptadas a agrotóxicos (HUETE-SOTO *et al.*, 2017). Desta maneira, os efeitos sinérgicos dessas populações podem ser compreendidos em uma remoção mais rápida de contaminantes do que usando apenas o solo.

Diversos estudos apresentaram resultados semelhantes quanto ao comportamento de biomisturas e solos no processo de degradação de agrotóxicos. Vischetti *et al.* (2020) realizou um experimento em escala laboratorial durante 150 dias para avaliar os parâmetros de adsorção e degradação de três pesticidas (clorpirifós, metalaxil e cimoxanil). Em geral, tanto a adsorção quanto a degradação foram maiores na biomistura (20% de solo, 40% de composto de jardim composto e 40% de galhos de videira) do que no solo. No entanto, percebeu-se um efeito mais lento no processo com relação ao clorpirifós. Este fato pode ser devido a ser um inseticida organofosforado e apresentar um efeito mais tóxico na microbiota do solo.

Estudos realizados por Rodríguez-Castillo *et al.* (2018) avaliaram a remoção de imidaclopride e tiametoxam em duas biomisturas diferentes preparadas com resíduos agroindustriais tropicais e solos pré-expostos ao longo de 228 dias. Para determinar a capacidade das matrizes de oxidar completamente o imidaclopride, os testes de mineralização foram realizados em biomisturas e comparada com seu comportamento no solo. Embora as biomisturas tenham demonstrado alcançar mineralização mais rápida do que os respectivos solos, a eliminação nestes sistemas permaneceu bastante lenta.

O trabalho realizado por Lescano *et al.* (2018) buscou avaliar a eficiência de *Biobeds* constituídos por materiais locais oriundos das atividades agrícolas, usando apenas o solo como controle. A concentração inicial de glifosato foi de 1.000 mg kg^{-1} . O glifosato desapareceu quase completamente após 63 dias em todas as biomisturas testadas. Já no controle, o glifosato foi degradado em 53%, porém houve a ocorrência de AMPA (ácido aminometilfosfônico) um dos principais produtos gerados da degradação do glifosato, na qual ao final do teste foi de 438 mg kg^{-1} . Estes resultados revelaram que as biomisturas apresentaram maior capacidade de degradação do glifosato e menor acúmulo de AMPA em comparação ao solo. Outro estudo realizado por Lescano *et al.* (2022) utilizando um *Biobed* piloto composto por solo e restolho de milho revelou que ao longo de 180 dias de experimento, as comunidades compostas por fungos, bactérias e leveduras tiveram a diminuição de microrganismos disponíveis quando comparados ao início do teste.

Tortella *et al.* (2013) monitoraram a estrutura das comunidades de fungos e bactérias durante a degradação da atrazina em um sistema de biopurificação e observaram pouco impacto destes produtos durante o período de tratamento. No entanto, em um trabalho de Díaz *et al.* (2016), as matrizes compostas por vermicomposto não foram capazes de remover

significativamente o imidaclopride ao longo de 30 dias, mesmo usando bioaumento das matrizes com microrganismos autóctones.

Embora estudos de laboratório e semi-campo forneçam uma indicação do potencial de depuração de um determinado sistema, a avaliação em grande escala é uma etapa essencial antes da implementação do sistema. Além disso, frente aos diferentes materiais constituintes das matrizes, as propriedades dos agrotóxicos bem como as condições em que o sistema é exposto são fatores que interferem diretamente, tornando o comportamento de cada sistema diferente e singular.

5 CONCLUSÕES

A partir dos resultados experimentais obtidos nesta pesquisa, pode-se concluir que a inclusão de métodos para a quantificação de populações microbianas é apropriada para avaliar a eficácia das matrizes na degradação do contaminante, além de poder indicar o tempo de vida útil das matrizes. De modo geral, estas técnicas de contagem de colônias são oportunas devido ao seu baixo custo quando comparado a outras técnicas de avaliação mais aprimoradas, além da facilidade do monitoramento da sensibilidade às variações da matriz e do agrotóxico.

A contagem microbiana possibilitou identificar que a matriz composta por acícula de pínus apresentou uma maior atividade fúngica durante todo o período amostral compreendido desde o período de maturação bem como após a aplicação da metidationa.

Para uma melhor avaliação sobre a eficiência do sistema e a toxicidade residual, seria necessário a avaliação do sistema por um período mais longo. Com base nos resultados encontrados, recomenda-se para trabalhos futuros continuar a pesquisa nos seguintes aspectos: em aspectos como a identificação de microrganismos presentes que possuem potencial para degradar o contaminante e estipular a vida útil da biomistura

REFERÊNCIAS

ADAMA. Suprathion 400 EC. 2015. Disponível em: <https://www.adama.com/brasil/pt/produtos/inseticidas/suprathion-400-ec.html>. Acesso em: 18 maio 2020

AGROFIT. Dados do ingrediente ativo - metidationa. Disponível em: http://agrofit.agricultura.gov.br/agrofit_cons/ap_ing_ativo_consulta_cons. Acesso em: 4 mai. 2021.

AGROFIT. Dados do ingrediente ativo - metidationa. Disponível em: http://agrofit.agricultura.gov.br/agrofit_cons/ap_ing_ativo_consulta_cons. Acesso em: 4 mai. 2021.

AMA. National Center for Biotechnology Information. PubChem Compound Summary for CID 13709, Methidathion. <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Methidathion>. Accessed Jan. 30, 2022.

ANVISA – AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA. Agrotóxicos. 2019. Disponível em: <http://www.anvisa.gov.br/monografias/index.htm>. Acesso em: 30 mar. 2020.

APA. Methidathion, I. R. E. D., & Pesticides, O. (2006). Office of Pesticide Programs Reregistration Eligibility Decision for Methidathion.

APA. National Center for Biotechnology Information (2022). PubChem Compound Summary for CID 13709, Methidathion. Retrieved January 30, 2022 from <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Methidathion>.

BERGSVEINSON, J.; PERRY, B.J.; SHEEDY, C.; BRAUL, L.; REEDYK, S.; GOSSEN, B.D.; YOST, C.K.. Identifying the core bacterial and fungal communities within four agricultural *Biobeds* used for the treatment of pesticide rinsates. *Journal Of Applied Microbiology*, [S.L.], v. 125, n. 5, p. 1333-1342, 30 ago. 2018. Wiley. <http://dx.doi.org/10.1111/jam.14051>.

BRANCH, Environmental Field. Nikiba Daughtry Environmental Field Branch Office of Pesticide Programs. 2004.

CARNIEL, L. S. C. Avaliação do risco ecológico de Mancozebe e Clorpirifós para representantes da macro e mesofauna do solo e eficiência de leitos biológicos de descarte. Dissertação (Mestrado), Lages: Universidade do Estado de Santa Catarina, Centro de Ciências Agroveterinárias, Programa de Pós-Graduação em Ciência do Solo, 2015, 140 p.

CARNIEL, L. S. C. Avaliação do risco ecológico de Mancozebe e Clorpirifós para representantes da macro e mesofauna do solo e eficiência de leitos biológicos de descarte. Dissertação (Mestrado), Lages: Universidade do Estado de Santa Catarina, Centro de Ciências Agroveterinárias, Programa de Pós-Graduação em Ciência do Solo, 2015, 140 p.

CASTILLO MP, Torstensson L, Stenström J (2008) *Biobeds* para proteção ambiental do uso de pesticidas-uma revisão. J Agric Food Chem 56:6206–6219

DIAS, L. A., GEBLER, L., NIEMEYER, J. C., ITAKO, A. T. (2020). Destination of pesticide residues on *Biobeds*: State of the art and future perspectives in Latin America. Chemosphere, 248. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2020.126038>

DIAS, L.d., ITAKO, A.T., GEBLER, L. *et al.* Pine Litter and Vermicompost as Alternative Substrates for *Biobeds*: Efficiency in Pesticide Degradation. Water Air Soil Pollut 232, 283 (2021). <https://doi.org/10.1007/s11270-021-05231-y>

DIEZ MC, LEVIO M, BRICEÑO G, RUBILAR O, TORTELLA G, Gallardo F (2013a) Biochar como substituto parcial da turfa em biomisturas degradantes de pesticidas formuladas com diferentes tipos de solo. J Biobaseado Mater Bio 7:741–747

DOMÍNGUEZ-RODRÍGUEZ VI, Baltierra-Trejo E, Gómez-Cruz R, Adams RH. 2021. Microbial growth in *Biobeds* for treatment of residual pesticide in banana plantations. PeerJ 9:e12200 <https://doi.org/10.7717/peerj.12200>

ELGUETA, Sebastian; CORREA, Arturo; CAMPO, Marco; GALLARDO, Felipe; KARPOUZAS, Dimitrios; DIEZ, Maria Cristina. Atrazine, chlorpyrifos, and iprodione effect on the biodiversity of bacteria, actinomycetes, and fungi in a pilot biopurification system with a green cover. Journal Of Environmental Science And Health, Part B, [S.L.], v. 52, n. 9, p. 651-657, 8 jun. 2017. Informa UK Limited. <http://dx.doi.org/10.1080/03601234.2017.1330070>.

GÓNGORA-ECHEVERRÍA,V., F. Martin-Laurent, C. Quintal-Franco, G. Giacomán-Vallejos, C. Ponce-Caballero. Agricultural effluent treatment in *Biobed* systems using novel substrates from southeastern Mexico: the relationship with physicochemical parameters of biomixtures. Environ. Sci. Pollut. Res., 24 (10) (2017), pp. 9741-9753

INSTITUTO DE PLANEJAMENTO E ECONOMIA AGRÍCOLA DE SANTA CATARINA (CEPA). Caracterização regional Curitibanos. SDR, Curitibanos, 2003.

KARANASIOS, E., N. Tsiropoulos, D. Karpouzas. On-farm biopurification systems for the depuration of pesticide wastewaters: recent biotechnological advances and future perspectives. Biodegradation, 23 (2012), pp. 787-802

LESCANO, Maia; FUSSONI, Nerina; VIDAL, Eduardo; ZALAZAR, Cristina. Biodegradation of pesticide-contaminated wastewaters from a formulation plant employing a pilot scale *Biobed*. Science Of The Total Environment, [S.L.], v. 807, p. 150758, fev. 2022. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.scitotenv.2021.150758>.

MASÍS-MORA, Mario; LIZANO-FALLAS, Verónica; TORTELLA, Gonzalo; BEITASANDÍ, Wilson; RODRÍGUEZ-RODRÍGUEZ, Carlos E.. Removal of triazines, triazoles and organophosphates in biomixtures and application of a biopurification system for the treatment of laboratory wastewaters. Chemosphere, [S.L.], v. 233, p. 733-743, out. 2019. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.chemosphere.2019.06.001>.

OLSEN, P.E., RICE, W.A.. Rhizobium sp. Strain identification and quantification in comercial inoculants by immnoblot analysis. Applied and Environmental Microbiology. V.55, n.2, p.520-522, 1989.

PPDB- Pesticide Properties Database. Disponível em: <https://sitem.herts.ac.uk/aeru/ppdb/en/Reports/456.htm>. Acesso em: 21 out. 2021.

RODRÍGUEZ-CASTILLO, G., Molina-Rodríguez, M., Pérez-Villanueva, M. *et al.* Remoção de dois inseticidas neonicotinóides e mineralização de 14 C-imidacloprid em biomisturas. Bull Environ Contam Toxicol 101, 137–143 (2018). <https://doi.org/10.1007/s00128-018-2370-0>

RODRÍGUEZ-RODRÍGUEZ CE, Cambronero-Heinrichs JC, Castro-Gutiérrez V., Tortella GR (2021) Sistemas de Biopurificação: Avanços Atuais e Perspectivas Futuras da Biodegradação de Pesticidas na Fazenda. Dentro: .O Manual de Química Ambiental. Springer, Berlim, Heidelberg. https://doi.org/10.1007/698_2021_798

ROFFIGNAC, L., P. Cattan, J. Mailloux, D. Herzog, F. Le Bellec. Efficiency of a bagasse substrate in a biological bed system for the degradation of glyphosate, malathion and lambda-cyhalothrin under tropical climate conditions. Pest Manag. Sci., 64 (2008), pp. 1303-1313

RUSSELL, Jennifer N.; PERRY, Benjamin J.; BERGSVEINSON, Jordyn; FREEMAN, Claire N.; SHEEDY, Claudia; NILSSON, Denise; BRAUL, Larry; YOST, Christopher K.. Metagenomic and metatranscriptomic analysis reveals enrichment for xenobiotic-degrading bacterial specialists and xenobiotic-degrading genes in a Canadian Prairie two-cell *Biobed* system. Environmental Microbiology Reports, [S.L.], v. 13, n. 5, p. 720-727, 8 jul. 2021. Wiley. <http://dx.doi.org/10.1111/1758-2229.12990>.

TIBURSKI, Lucas. Flutuação populacional da mariposa oriental, *Grapholita molesta* (busck, 1916) (Lepidoptera : tortricidae) em pomares comerciais de pera asiática na mesorregião serrana de Santa Catarina. Trabalho de conclusão de Curso (graduação). Universidade Federal de Santa Catarina, Curitibanos. 2015

TORTELLA, GR, Mella-Herrera, RA, Sousa, DZ, Rubilar, O., Briceño, G., Parra, L., & Diez, MC (2013). Dissipação de carbendazim na biomistura de sistemas de biopurificação em fazendas e seu efeito nas comunidades microbianas. Chemosphere, 93(6), 1084-1093. doi:10.1016/j.chemosphere.2013.05

VISCHETTI, C., Coppola, L., Monaci, E., Cardinali, A., & Castillo, M. d. P. (2007). Microbial impact of the pesticide chlorpyrifos on Swedish and Italian *Biobeds*. Agronomy for Sustainable Development, 27(3), 267–272. doi:10.1051/agro:2007020

WURZ, Douglas André, *et al.* Levantamento principais defensivos agrícolas comercializados na região dos campos de cima da serra/RS e região de altitude/SC para uso na vitivinicultura. Revista Científica Rural v. 21, n 2. p. 344- 35, 2019

YANG, Shufan; HAI, Faisal I.; NGHIEM, Long D.; PRICE, William E.; RODDICK, Felicity; MOREIRA, Maria T.; MAGRAM, Saleh F.. Understanding the factors controlling the removal of trace organic contaminants by white-rot fungi and their lignin modifying enzymes:

a critical review. *Bioresource Technology*, [S.L.], v. 141, p. 97-108, ago. 2013. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.biortech.2013.01.173>.

YU, Y., CHU, X., PANG, G., XIANG, Y., & FANG, H. (2009). Efeitos de aplicações repetidas do fungicida carbendazim sobre sua persistência e comunidade microbiana no solo. *Jornal de Ciências Ambientais*, 21(2), 179–185. doi:10.1016/s1001-0742(08)62248-2

CAPÍTULO 3

ENSAIOS DE ECOTOXICIDADE NA AVALIAÇÃO DA TOXICIDADE RESIDUAL DE SUPRATHION 400 EC (METIDATIONA) EM *BIOBEDS*

RESUMO

As biomisturas consistem no principal componente do sistema *biobed*, sendo seguramente empregadas para promover a retenção e a degradação de resíduos de agrotóxicos. Constituem um material recente, que pode ser um recurso interessante para auxiliar na degradação de diversos contaminantes. No entanto, apesar dos benefícios potenciais de sua utilização, faz-se necessário avaliar sua eficiência na redução da ecotoxicidade. A maioria dos estudos limita-se a quantificar a remoção dos contaminantes através de análises químicas. Contudo, diversos processos metabólicos ocorrem dentro do sistema possibilitando a geração de outros produtos de transformação que podem ocasionar toxicidade residual da biomistura. Visto que o propósito do sistema *biobed* é a biorremediação, faz-se necessário a inclusão de outras análises para complementar as avaliações. Essas informações são necessárias para excluir potenciais impactos ambientais negativos decorrentes do seu uso e descarte. Frente a isso, o presente estudo teve como objetivo avaliar a eficiência do sistema *biobed* e a toxicidade residual durante a remoção do inseticida metidationa (fórmula comercial Suprathion 400 EC®) em uma matriz contendo resíduos agrícolas: Acícula de pinus e palha de milho. O solo agrícola foi usado como matriz de controle. Para tal, foram realizados testes padronizados de ecotoxicidade com os invertebrados do solo colêmbolos (*Folsomia candida*) e enquitreídeos (*Enchytraeus crypticus*). Em suma, nossos experimentos mostraram que, ao longo de 90 dias, a redução da ecotoxicidade foi limitada em ambos os substratos. Os colêmbolos foram os organismos mais sensíveis para monitorar o processo, quando comparados aos enquitreídeos. Os resultados sugerem que, apesar da provável remoção parcial do inseticida, é necessário otimizar as biomisturas para minimizar a toxicidade residual e potenciais efeitos sobre a fauna edáfica. Para uma melhor avaliação sobre a eficiência do sistema e a toxicidade residual, seria necessário a avaliação do sistema por um maior período e a complementação com a análise química.

Palavras-Chave: *Biobeds*; Ecotoxicidade; Fauna edáfica; Metidationa.

ABSTRACT

Biomixtures are the main component of the biobed system and are safely used to promote the retention and degradation of pesticide residues. They constitute a recent material, which can be an interesting resource to help in the degradation of several contaminants. However, despite the potential benefits of its use, it is necessary to evaluate its efficiency in reducing ecotoxicity. Most studies are limited to quantifying the removal of contaminants through chemical analysis. However, several metabolic processes occur within the system, allowing the generation of other transformation products that can cause residual toxicity of the biomixture. Since the purpose of the biobed system is bioremediation, it is necessary to include other analyzes to complement the evaluations. This information is necessary to exclude potential negative environmental impacts arising from its use and disposal. In view of this, the present study aimed to evaluate the efficiency of the biobed system and the residual toxicity during the removal of the insecticide metidathion (commercial formula Suprathion 400 EC®) in a matrix containing agricultural residues: pine needles and corn straw. Agricultural soil was used as a control matrix. To this end, standardized ecotoxicity tests were carried out with soil invertebrates springtails (*Folsomia candida*) and enchytraeus (*Enchytraeus crypticus*). In short, our experiments showed that, over 90 days, the reduction in ecotoxicity was limited in both substrates. Springtails were the most sensitive organisms to monitor the process, when compared to enchytraeids. The results suggest that, despite the probable partial removal of the insecticide, it is necessary to optimize the biomixtures to minimize residual toxicity and potential effects on soil fauna. For a better evaluation of the system's efficiency and residual toxicity, it would be necessary to evaluate the system for a longer period and complement it with chemical analysis.

Keywords: Biobeds; Ecotoxicity; edaphic fauna; Metidathione.

1 INTRODUÇÃO

A contaminação do solo é um grave problema ambiental ocasionada notadamente pela aplicação em larga escala e longo prazo de resíduos perigosos, a exemplo dos oriundos dos setores agroindustriais e agrícolas, como os agrotóxicos. Os riscos potenciais destes produtos para o ecossistema terrestre estão relacionados ao seu uso e descarte inadequado, como aplicações incorretas, derramamentos acidentais e ou despejo de resíduos da lavagem de equipamentos, produzindo grandes volumes de resíduos cuja eliminação representa uma fonte de contaminação pontual a longo prazo e com alta concentração (FOGG *et al.* 2003; WILDE *et al.* 2007; CASTILLO *et al.* 2008; TORTELLA *et al.* 2012; KARANASIOS *et al.* 2010). Este uso indiscriminado pode afetar os recursos hídricos e o solo, além de ocasionar a perturbação da biodiversidade e sua microbiota, comprometendo o meio ambiente e a saúde humana (HELWEG *et al.* 2002; RAMWELL *et al.* 2004; GEBLER e FIALHO, 2011).

Frente a este cenário, diversas estratégias vêm sendo desenvolvidas e adaptadas no intuito de mitigar a ocorrência destes impactos ambientais. Um exemplo relevante é o emprego de sistemas de tratamento *in situ* para efluentes contaminados, como os sistemas de biorremediação- *Biobeds*. Estes sistemas baseiam-se na capacidade da biomistura (variedade dos substratos) e nos microrganismos integrados (COOPER *et al.* 2006; CASTILLO *et al.* 2008; VISCHETTI *et al.* 2007; CHIN-PAMPILLO *et al.* 2015).

Diversos estudos relatam que as biomisturas foram seguramente empregadas para promover a retenção e a degradação de resíduos de agrotóxicos, devido suas propriedades. No entanto, a maioria dos estudos limita-se a quantificar a remoção do composto original através de análises químicas (VISCHETTI *et al.* 2008). Contudo, diferentes processos metabólicos ocorrem dentro da biomistura possibilitando a geração de produtos de transformação que podem ocasionar toxicidade residual.

Visto que o propósito do sistema *Biobed* é a degradação e desintoxicação de resíduos de agrotóxicos, faz-se necessário a inclusão de outras análises para avaliar sua aptidão. Essas informações são necessárias para excluir potenciais impactos ambientais negativos decorrentes do seu uso e descarte. O objetivo deste estudo foi determinar a eficiência do sistema *Biobed* e a ecotoxicidade do inseticida *Suprathion 400 EC®* (metidationa) aos invertebrados do solo colêmbolos (*Folsomia candida*) e enquitreídeos (*Enchytraeus*

crypticus). por meio de testes padronizados de ecotoxicidade em duas matrizes alternativas compostas por Acícula de Pínus e substrato solo.

2 MATERIAIS E MÉTODOS

2.1 AMOSTRAS

As amostras utilizadas nos ensaios Ecotoxicológicos foram provenientes das matrizes empregadas nos sistemas *Biobeds*, conforme descrito no item 2.5 referentes ao Capítulo II da presente dissertação. As biomisturas foram preparadas empregando materiais locais como acícula de Pínus, palha de milho além de solo agrícola. Os experimentos foram conduzidos usando três réplicas independentes. Seguindo a mesma metodologia, as amostras foram coletadas em sacos plásticos transparentes identificados e posteriormente armazenadas no congelador a -18°C. Este processo foi empregado no intuito de preservar as características das amostras bem como realizar o desfaunamento das biomisturas, eliminando possíveis organismos edáficos que pudessem contaminar ou causar qualquer interferência aos organismos-teste utilizados.

Os ensaios realizados objetivaram avaliar a reprodução dos invertebrados terrestres, utilizando organismos oriundos do cultivo do laboratório de Ecologia da UFSC Campus de Curitibanos, como as espécies *F. candida* (colêmbolo) e *E. crypticus* (enquitreídeo). Os organismos foram cultivados em ambiente controlado. Os testes foram executados de acordo com as normas ABNT, em cinco etapas do presente projeto. A primeira etapa consistiu na avaliação das duas matrizes (BS e BA) sem a presença do contaminante (branco), no intuito de averiguar a presença de algum elemento que pudesse interferir nos organismos. As etapas seguintes objetivaram verificar a Ecotoxicidade do contaminante metidationa (Suprathion 400 EC) ao longo dos períodos T1, T2, T3 e T4 que correspondiam a 3, 30, 60 e 90 dias após o episódio de contaminação, respectivamente. Para que as amostras atendessem as especificações do teor de umidade e manutenção para a realização dos ensaios, as amostras foram previamente submetidas ao teste de capacidade de retenção de água (CRA) conforme a norma ABNT NBR ISO 11269-2 (ABNT, 2014). Além disso, no intuito de verificação e controle laboratorial, todos os ensaios realizados utilizaram o solo artificial tropical (SAT) para atestar a confiabilidade do ensaio. Este foi composto por 5% de pó de casca de coco,

20% de caulim e 75% de areia fina lavada e seca, conforme a norma OECD 226 (OECD, 2016) para atender o padrão de validação de parâmetros mínimos de reprodução dos organismos. Os tratamentos foram testados utilizando cinco réplicas (n=5), além de uma adicional que não continha a presença de organismos (denominado parâmetro), para averiguação de índices como o pH e umidade. Os ensaios foram conduzidos de modo inteiramente casualizado.

Durante o início e o final da montagem dos experimentos, foi aferido os índices de pH e umidade para monitoramento e controle dos ensaios. Os resíduos gerados durante todas as atividades laboratoriais foram acondicionados em sacos específicos e encaminhados ao setor responsável pelo gerenciamento de resíduos perigosos da UFSC, onde posteriormente foram destinados para descarte em aterro sanitário específico.

2.2 ORGANISMOS TESTE E CONDIÇÕES DOS ENSAIOS

2.2.1 Reprodução de *Folsomia candida*

Os colêmbolos da espécie *Folsomia candida* foram mantidos em recipientes plásticos com capacidade de 125ml contendo um substrato composto por carvão ativado e gesso na proporção de 1:10. Os cultivos foram mantidos em câmara tipo DBO, a $20\pm 1^\circ\text{C}$, com fotoperíodo claro/escuro de 16h/8h. A manutenção era realizada duas vezes por semana, através da adição do alimento (fermento biológico seco) e água destilada.

Para a reprodução, os adultos foram trocados de recipientes como maneira de estimular a reprodução. No terceiro dia após a troca, os ovos que haviam sido depositados eram coletados com o auxílio de um pincel de cerdas macias e adicionados em um novo recipiente identificado. Os ovos eram postos sob pequenos pedaços de gesso removíveis, a fim de facilitar no processo de eclosão dos ovos. Após a constatação do nascimento dos primeiros indivíduos, era realizado o registro para o controle, permitindo manter estes ovos em um período de espera por mais 48h a ocorrência dos nascimentos. Findado este período, os ovos restantes que não eclodiram foram descartados. Os juvenis ficaram aptos para serem usados nos ensaios quando atingiram a idade entre 10 e 12 dias.

A montagem dos ensaios de reprodução foi realizada em recipientes plásticos (volume de 125 ml) contendo 30 g de amostra úmida para o meio (biomistura de acícula, substrato solo

ou SAT). Foram utilizadas cinco réplicas para cada tratamento ($n=5$), onde foram inseridos dez juvenis (idade entre 10 a 12 dias). Além disso, uma sexta réplica que não continha a presença de organismos (denominado parâmetro) foi adicionada para averiguação dos indicadores de umidade e pH.

Os recipientes foram mantidos em DBO a $20\pm 1^\circ\text{C}$ e fotoperíodo de 16h/8h, ao longo de 28 dias. A manutenção dos cultivos foi realizada nos dias 1 e 14, através do controle da umidade e adição de aproximadamente 4g de fermento seco. Além disso, ao menos duas vezes por semana os recipientes eram abertos a fim de realizar a aeração dos cultivos, conforme pode ser observado na Figura 1.

Figura 1: Registro da manutenção realizada no ensaio de reprodução de *Folsomia candida*.

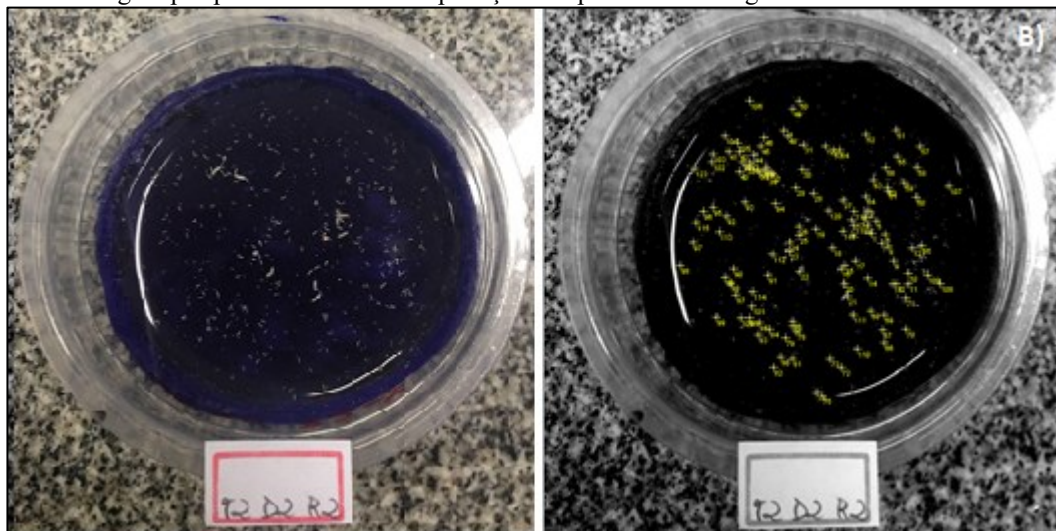


Fonte: A autora (2021).

O ensaio teve duração de 28 dias. Transcorrido este período, foi realizado o seu desmanche. Para isso, organizou-se os recipientes em fileiras, de acordo com o tratamento correspondente. Em seguida, realizou-se a pesagem final de todas as réplicas. Posteriormente, os recipientes foram encheidos com água da torneira e adicionou-se quatro gotas de tinta de carimbo azul para corar os juvenis.

Em seguida, com o auxílio de uma espátula, as amostras foram agitadas cuidadosamente para que os organismos vivos flutuassem na superfície do líquido. Após este procedimento, as réplicas foram deixadas separadas por 15 minutos, a fim de que partículas sólidas decantassem e somente os organismos permanecessem flutuando. Concluído, era realizado a contagem dos indivíduos adultos bem como feito o registro fotográfico para posterior análise e contagem dos organismos juvenis no programa ImageJ®, conforme pode ser observada na figura 2.

Figura 2: Contagem de juvenis de *Folsomia candida* no programa ImageJ®. A) Imagem original. B) Imagem pré-processada e com a aplicação dos pontos de contagem manual.



Fonte: A autora (2021).

As imagens carregadas no ImageJ® passaram por uma etapa de pré-processamento para ajustar suas propriedades e adequar a imagem para uma melhor interpretação e contagem precisa. A enumeração ocorreu de maneira manual através da utilização da ferramenta “Multi-point”.

2.2.2 Reprodução de *Enchytraeus crypticus*

A criação de enchytraídeos da espécie *Enchytraeus. crypticus* seguiu a norma ABNT NBR/ISO 16.387 (ABNT, 2012), que apresenta especificações para o cultivo dos organismos. Os meios foram cultivados em SAT umedecido com água destilada, à temperatura de $20\pm 1^\circ\text{C}$ com fotoperíodo claro/escuro de 16h/8h, alimentando os organismos semanalmente com farinha de aveia. A manutenção dos cultivos era realizada periodicamente, através da transferência de organismos selecionados para um novo recipiente com meio novo.

A montagem dos ensaios de reprodução foi realizada em recipientes plásticos (125 ml) contendo 30 g de amostra úmida (biomistura, substrato ou SAT). Foram utilizadas cinco réplicas para cada tratamento ($n=5$), onde foram inseridos dez adultos clitelados de *E. crypticus*, conforme pode ser observado na Figura 3. Além disso, uma sexta réplica que não continha a presença de organismos (denominada parâmetro) foi adicionada para averiguação dos indicadores de umidade e pH.

Figura 3: Registro da montagem do experimento com a espécie *E. crypticus*.

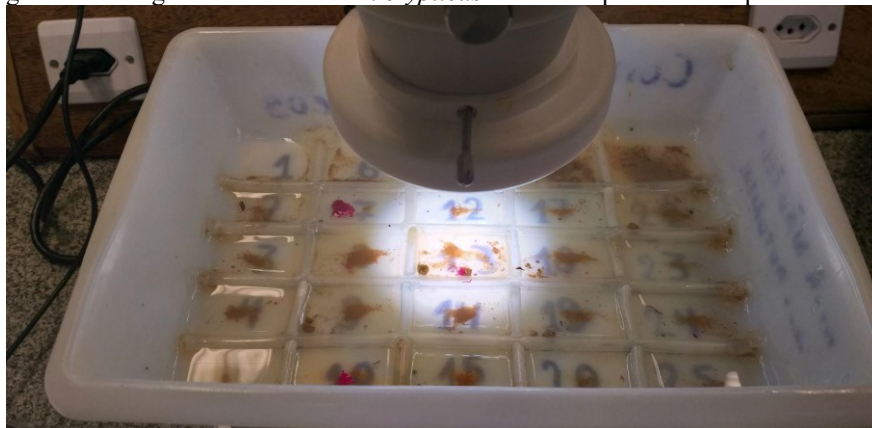


Fonte: A autora (2021).

Seguidamente à montagem dos ensaios, os recipientes foram organizados e receberam a adição de água e alimento (aveia). Posteriormente foram pesados e levados para armazenamento. Os recipientes foram mantidos em uma sala climatizada a 18°C, com baixa incidência de luminosidade. A manutenção dos cultivos foi realizada semanalmente, através do controle da umidade e adição de aproximadamente 4g de aveia como alimento. Além disso, ao menos duas vezes por semana os recipientes eram abertos a fim de realizar a aeração dos cultivos.

O ensaio teve duração de 28 dias. Transcorrido este período, foi realizado o seu desmanche. Para isso, organizou-se os recipientes em fileiras, de acordo com o tratamento correspondente. Em seguida, realizou-se a pesagem final dos recipientes. Posteriormente, foi realizada a adição de álcool 70% e oito gotas de corante rosa bengala para corar os juvenis. Após 48 horas, as amostras estavam disponíveis para leitura. Para a contagem de juvenis, as amostras foram postas em uma peneira de malha 150mm e lavadas em água corrente. Em seguida, eram inseridas em um recipiente (bandeja plástica com divisórias) e levadas a lupa estereoscópica binocular para sua contagem, conforme pode ser observada na figura 4.

Figura 4: Contagem de indivíduos *E. crypticus* em uma lupa estereoscópica binocular.



Fonte: A autora (2021).

A contagem era realizada através de um contador manual. As informações eram anotadas em uma planilha impressa e posteriormente eram repassadas a uma planilha eletrônica onde era armazenada para posterior análise dos dados.

2.3 ANÁLISE DOS DADOS

Com a finalidade de avaliar os ensaios de ecotoxicidade, os dados foram analisados no software SigmaPlot 12.0 (2021). Foi realizado a análise de variância (ANOVA) seguida do teste de Dunnet ($p < 0,05$), quando os dados foram considerados normais e homogêneos. Tais pressupostos foram verificados por meio dos testes de Shapiro-Wilk. Para os dados que não foram considerados normais, foi aplicada a estatística não paramétrica de Kruskal-Wallis seguida do teste de comparações múltiplas de Dunn ($p < 0,05$).

3. RESULTADOS

3.1 BIOMISTURA DE ACÍCULA X SUBSTRATO SOLO

3.1.1 Validação dos ensaios

Os testes de ecotoxicidade baseados na reprodução foram empregados para estimar a toxicidade residual nos sistemas. Os ensaios foram realizados em diferentes etapas, de acordo com o período de amostragem descrito no Capítulo II desta dissertação, bem como da disponibilidade de organismos-teste de idade sincronizada quando relacionado aos colêmbolos. Decorrente a isso, os resultados dos ensaios foram analisados com base na

proporcionalidade do número de juvenis em cada período, em relação às suas respectivas testemunhas (SAT ou amostra não-contaminada). Em cada ensaio amostral, foram realizados testes empregando SAT para fins de validação, que em sua totalidade atingiram os valores mínimos de reprodução.

Os ensaios com colêmbolos cumpriram o critério de validação descritos na norma ABNT NBR ISO 11267 (ABNT, 2019), onde a mortalidade dos adultos no solo controle (SAT) não pode ser superior a 20%; a taxa de reprodução mínima de 100 colêmbolos por réplica deve ser considerada; e o coeficiente de variação não pode exceder 30%.

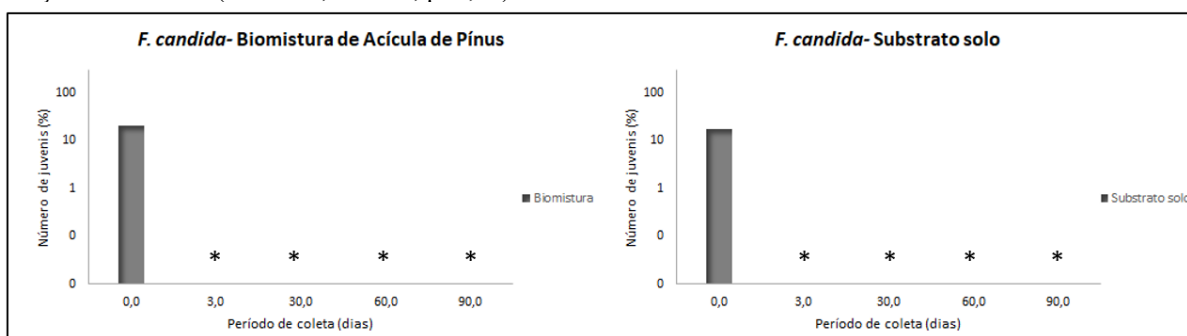
Para os ensaios com enquitreídeos, os critérios de validação que foram cumpridos são referentes a ABNT NBR ISO 16387 (ABNT, 2012), onde no solo controle (SAT), a mortalidade dos adultos não excedeu a 20%; a média de juvenis deve ser maior que 25 indivíduos e o coeficiente de variação não pode exceder 50% no SAT.

3.1.2 Ensaios de reprodução com colêmbolos

Os valores das médias reprodutivas de *F. candida* analisados encontram-se na Tabela 4. Em cada período de amostragem, os dados foram comparados com a testemunhas dos ensaios, sendo o controle SAT para a primeira amostragem- tempo 0 (anterior a contaminação) e amostra não-contaminada para os demais tempos sequenciais (1, 30, 60 e 90 dias).

Para os colêmbolos, a toxicidade da metidationa foi extremamente alta. Nos ensaios de reprodução não houve registro de reprodução em nenhum período amostrado ao longo de 90 dias após a contaminação, conforme pode ser observado na Figura 5.

Figura 5: Número de juvenis de *F. candida* nas matrizes Biomistura de acícula de pinus e Substrato solo, ao longo de 90 dias de degradação de metidationa. Asteriscos indicam diferenças estatisticamente significativas em relação ao Controle (ANOVA, Dunnet, $p < 0,05$).



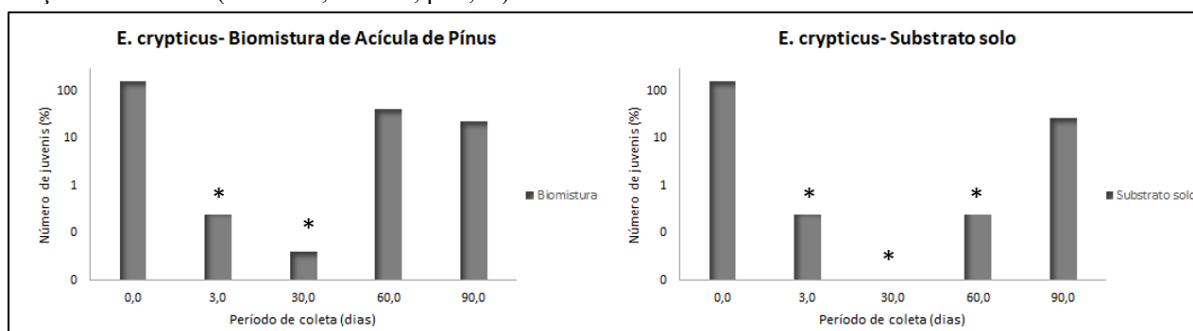
Fonte: A autora (2021).

3.1.3 Ensaios de reprodução com enquitreídeos

Os ensaios de reprodução com enquitreídeos foram analisados e para cada período de amostragem, os dados foram comparados com a testemunhas dos ensaios, sendo o controle SAT para a primeira amostragem- tempo 0 dias (anterior a contaminação) e amostra não-contaminada para os demais tempos sequenciais.

Os dados de reprodução de enquitreídeos cumpriram os pressupostos de distribuição normal e homogeneidade das variâncias, condições para o uso da ANOVA. Os resultados evidenciaram que houve uma redução significativa da reprodução durante o período entre 3 dias e 30 dias, quando comparados a biomistura de referência (testemunha). No entanto, a partir de 60 dias, houve uma retomada na reprodução de enquitreídeos, conforme pode ser observada na Figura 6.

Figura 6: Número de Juvenis de *E. crypticus* nas matrizes biomistura de acícula de pinus e substrato solo, ao longo de 90 dias de degradação de metidationa. Asteriscos indicam diferenças estatisticamente significativas em relação ao Controle (ANOVA, Dunnet, $p < 0,05$).



Fonte: A autora (2021).

4. DISCUSSÃO

Ao delinear a amostragem para os ensaios de ecotoxicidade, a pergunta inicial foi se as matrizes empregadas no sistema *Biobed* apresentariam toxicidade residual oriunda do evento de contaminação de metidationa ao longo do período de amostragem.

O desempenho do sistema *biobed* é avaliado em geral, através da diminuição da concentração dos contaminantes em estudo. A literatura sugere que os processos responsáveis pela atenuação de agrotóxicos em biomisturas podem ser influenciados tanto pelas propriedades dos agrotóxicos quanto às características dos materiais componentes do sistema e a presença de microbiota (GAO *et al.*, 2010). No entanto, de acordo com Karanasios *et al.*

(2012), o processo de degradação não significa que ocorreu a desintoxicação do sistema. Nesse sentido, a execução de outros ensaios, como os ecotoxicológicos, auxilia a complementar as análises químicas convencionais.

A abordagem adotada envolveu análises para diagnosticar e determinar a ecotoxicidade das amostras das matrizes contaminadas. Este critério é utilizado para identificar resíduos que constituem ou podem constituir riscos imediatos ou tardios quando dispostos no meio ambiente. Os resultados dos ensaios com colêmbolos e enquitreídeos indicaram que as populações de ambas as espécies sofreram redução significativa na reprodução quando expostas as matrizes contaminadas. Os colêmbolos apresentaram uma sensibilidade maior do que os enquitreídeos. Os resultados apontaram uma redução incipiente da toxicidade do substrato contaminado ao longo do tempo. Ainda assim, houve uma diferença entre a última amostragem da biomistura contaminada e controle, este último manteve a média maior de reprodução.

Carniel *et al.* (2020) realizaram a instalação de *biobeds* a campo compostos pela biomistura original (solo, palha e turfa), para avaliar a degradação de Clorpirifós (organofosforado) e Lorsban. Os ensaios de ecotoxicidade empregaram três organismos diferentes, sendo estes colêmbolos (*F. candida*), minhocas (*E. andrei*) e enquitreídeos (*E. crypticus*). Nas condições de simulação de derramamento acidental, mesmo 420 dias após a contaminação, a espécie *F. candida* não apresentou reprodução. Tais resultados corroboram com os resultados obtidos neste trabalho sendo a espécie *F. candida* a mais sensível para ambos as matrizes testadas, indicando ser um organismo-teste adequado para monitorar a eficiência deste sistema.

Houve uma tendência de a toxicidade residual ser mais significativa na matriz composta exclusivamente por solo (BS) quando comparado a biomistura de acícula (BA). Esses resultados corroboram com estudos realizados anteriormente (WILDE *et al.* 2009; KARANASIOS *et al.* 2010). Isto pode ter ocorrido devido à falta de componentes orgânicos que promovessem o estabelecimento de uma microbiota (CASTILLO *et al.* 2008). Além disso, a textura do solo pode interferir diretamente na capacidade de reter poluentes, devido às propriedades e texturas presentes nos diversos tipos de solos (KRAEMER *et al.* 2009). No presente estudo, o solo utilizado nas matrizes avaliadas foi um Cambissolo Háplico, caracterizado pela presença considerável de argila. Em geral, solos mais argilosos

normalmente possuem maior capacidade de retenção de pesticidas, prejudicando sua degradação (HILLEL, 1998).

A maioria das informações sobre a persistência de agrotóxicos é derivada de documentos de registro, poucos estudos aparecem na literatura científica. Dado o exposto, os efeitos de muitas moléculas ainda não estão bem esclarecidos em relação a seu comportamento em diferentes solos bem como à sua toxicidade em organismos não-alvo. Com relação ao emprego de metidationa, até o momento não foram localizados estudos relacionados especificamente a ação deste ingrediente ativo sob os organismos edáficos não-alvo. No solo, a meia-vida da metidationa pode variar de 10 e 11 dias, em condições anaeróbicas e aeróbicas, respectivamente. Além disso, estudos de campo suplementares relataram meias-vidas de dissipação de 5 a 30 dias nas primeiras camadas do solo, consideradas entre 10 a 20 cm da superfície (EPA, 2006).

Estudos realizados por Vischetti *et al.* (2020) realizaram um experimento laboratorial para avaliar os parâmetros de adsorção e degradação de duas matrizes distintas (solo e biomistura) contaminadas com três pesticidas (clorpirifós, metalaxil e cimoxanil) utilizados na cultura da uva. Em geral, tanto os processos de adsorção quanto degradação foram maiores no biomix do que no solo. No entanto, o produto clorpirifós (inseticida organofosforado) apresentou um processo mais lento em relação aos outros dois produtos químicos. Este fator, deve-se a um efeito mais tóxico deste agrotóxico sob a microflora do solo além da maior adsorção deste pesticida na biomistura que reduz a sua disponibilidade para dissipação. Karanasios *et al.* 2010, avaliaram a degradação e adsorção de agrotóxicos em três matrizes diferentes (biomistura original, biomistura composta e solo do tipo franco-argiloso arenoso) contaminadas por uma mistura de agrotóxicos (dimetoato, indoxacarb, buprofezina, terbutilazina, metribuzina, metalaxil-M, iprodiona, azoxistrobina). Os resultados demonstraram que a biomistura composta por materiais compostados, teve uma degradação superior quando comparada à biomistura original constituída por turfa e ao substrato solo. Outro estudo realizado por Karanasios *et al.* (2013) realizou a comparação entre o emprego de um solo argiloso e biomisturas na desintoxicação de três agrotóxicos, dentre eles o inseticida organofosforado clorpirifós ao longo de 90 dias. Os resultados demonstraram que em geral, quantidades menores de metabólitos foram acumuladas nas biomisturas em comparação com o solo. Recentemente, Rivero *et al.* (2020) realizaram experimentos laboratoriais e a campo para testar duas biomisturas compostas por solos agrícolas diferentes da região do Uruguai.

Os resultados demonstraram que apesar de ambos terem conseguido realizar a mesma degradação, houve diferentes cinéticas de dissipação devido principalmente às características do solo.

5 CONCLUSÃO

Este estudo nos permitiu avaliar o desempenho do sistema *biobed* composto por duas matrizes diferentes, disposto para um derramamento acidental simulado, com elevada concentração de metidationa em condições de semi-campo. As matrizes avaliadas demonstraram uma eficiência incipiente na redução da ecotoxicidade após 90 dias. Os ensaios de reprodução com organismos não-alvo indicaram que o tempo amostrado no sistema (90 dias após a contaminação), não foi suficiente para atingir o sucesso no tratamento.

Embora estudos de laboratório e semi-campo forneçam uma indicação do potencial de depuração de um determinado sistema *biobed*, a avaliação em um sistema piloto é um passo essencial antes da implementação. Em suma, nossos experimentos mostraram que as matrizes apresentaram um elevado potencial de toxicidade. Entre os organismos avaliados, os colêmbolos apresentaram maior sensibilidade quando comparados aos enquitreídeos. Este cenário, ficou mais evidente especialmente na matriz composta por substrato solo.

Para uma melhor avaliação sobre a eficiência do sistema e a toxicidade residual, seria necessário a avaliação do sistema por um período mais longo. Além disso, o uso de testes de toxicidade empregando organismos de diferentes níveis da cadeia trófica é altamente recomendado, especialmente se a biomistura for destinada ao tratamento simultâneo da mistura de vários agrotóxicos.

De modo geral, não foram identificadas na literatura pesquisas que retratem especificamente sobre o ingrediente ativo metidationa e testes de toxicidade. Isso ressalta a necessidade de se continuar investigando esse produto, desenvolvendo novas tecnologias de tratamento a fim de propiciar a redução dos parâmetros físico-químicos do agrotóxico, em especial, da toxicidade final da matriz.

REFERÊNCIAS

- ABNT – ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS. NBR 10004: Resíduos sólidos: Classificação. Rio de Janeiro, 2004. 71 p.
- ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS. NBR ISO 11267: Qualidade do solo - Inibição da reprodução de *Collembola* (*Folsomia candida*) por poluentes do solo. 2019. 22 p.
- ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS. Qualidade do solo – Determinação dos efeitos de poluentes na flora terrestre – Parte 2: Efeito de substâncias químicas na emergência e no crescimento de vegetais superiores. ABNT NBR ISO 11269-2. ABNT: Rio de Janeiro, 2014.
- CARNIEL, Leticia Scopel Camargo. Avaliação do risco ecológico de Mancozebe e Clorpirifós para representantes da macro e mesofauna do solo e eficiência de leitos biológicos de descarte. – Lages, 2015. 140 p.
- CAS- COMMON CHEMISTRY. Disponível em: https://commonchemistry.cas.org/detail?cas_rn=950-37-8. Acesso em: 20 set. 2020.
- CASTILLO MDP, TORSTENSSON L, STENSTRÖM J (2008) *Biobeds* for environmental protection from pesticide use: a review. *J Agric Food Chem* 56:6206–6219.
- CHIN-PAMPILLO JS, Ruiz-Hidalgo K, Masís-Mora M, Carazo-Rojas E, Rodríguez-Rodríguez CE (2015) Design of an optimized biomixture for the degradation of carbofuran based on pesticide removal and toxicity reduction of the matrix. *Environ Sci Pollut Res* 22:19184–19193
- CHIN-PAMPILLO, J. S., Ruiz-Hidalgo, K., Masís-Mora, M., Carazo-Rojas, E., & Rodríguez-Rodríguez, C. E. (2015). Design of an optimized biomixture for the degradation of carbofuran based on pesticide removal and toxicity reduction of the matrix. *Environmental Science and Pollution Research*, 22(23), 19184–19193. doi:10.1007/s11356-015-5093-3
- EMBRAPA – EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA. Sistema Brasileiro de Classificação de Solos. Rio de Janeiro, 3 ed., 2013. 356 p
- EPA- United States Environmental Protection Agency. Methidathion. Disponível em: <<https://comptox.epa.gov/dashboard/DTXSID5020819>>. Acesso em: 20 set. 2021.
- FOGG, P.; BOXALL, A. B. A.; WALKER, A.; JUKES, A. Pesticide degradation in a *Biobed*. composting substrate. *Pest Management Science*, v. 59, n. 5, p. 527-537, May/2003.
- GAO *et al.*, 2010
- GEBLER, L., FIALHO, F. B. Introduzindo critérios de risco em modelos de contaminação pontual para locais de carga de agrotóxicos. *Pesticidas: relação ecotoxicológica e meio ambiente*, Curitiba, v. 21, p. 85-94, jan./dez. 2011.

HELWEG A, Bay H, Hansen HPB, Rabolle M, Sonnenborg A, Stenvang L (2002) Pollution at and below sites used for mixing and loading of pesticides. *Int J Environ Anal Chem* 82:583–590.

HILLEL, D. *Environment soils physics*. Massachusetts:Editora, 1998. 384p.

HUY, Dao Vãn *et al.* Avaliação da Ecotoxicidade de Biomisturas Usadas para Degradação de Pesticidas. *VNU Journal of Science: Earth and Environmental Sciences*, [SI], v. 36, n. 3, set. 2020. ISSN 2588-1094.

KARANASIOS, E., Papadi-Psyllou, A., Karpouzas, D. G., & Tsiropoulos, N. G. (2012). Optimization of Biomixture Composition and Water Management for Maximum Pesticide Dissipation in Peat-Free *Biobeds*. *Journal of Environment Quality*, 41(6), 1787. doi:10.2134/jeq2012.0093

KARANASIOS, E.; Tsiropoulos, NG; Karpouzas, DG; Ehaliotis, C. Degradação e adsorção de pesticidas em biomisturas à base de composto como substratos potenciais para *Biobeds* no sul da Europa. *J. Agric. Química Alimentar*. 2010 , 58 , 9147-9156. <https://doi.org/10.1021/jf1011853>

KARANASIOS, E.; Tsiropoulos, NG; Karpouzas, DG; Ehaliotis, C. Degradação e adsorção de pesticidas em biomisturas à base de composto como substratos potenciais para *Biobeds* no sul da Europa. *J. Agric. Química Alimentar*. 2010 , 58 , 9147-9156. <https://doi.org/10.1021/jf1011853>

KARANASIOS, Nik olaos G. Tsiropoulos, Dimitrios G. Karpouzas and Constantinos Ehaliotis . Degradation and Adsorption of Pesticides in Compost-Based Biomixtures as Potential Substrates for *Biobeds* in Southern Europe. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 2010, 58 (16) , 9147-9156. <https://doi.org/10.1021/jf1011853>

KARANASIOS, Nik olaos G. Tsiropoulos, Dimitrios G. Karpouzas and Constantinos Ehaliotis . Degradation and Adsorption of Pesticides in Compost-Based Biomixtures as Potential Substrates for *Biobeds* in Southern Europe. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 2010, 58 (16) , 9147-9156. <https://doi.org/10.1021/jf1011853>.

KRAMER MG, Lajtha K, Thomas G, Sollins P (2009) Contamination effects on soil density fractions from high N or C content sodium polytungstate. *Biogeochemistry* 92:177–181. <https://doi-org.ez46.periodicos.capes.gov.br/10.1007/s10533-008-9268-6>.

NIEMEYER, J. C.; CHELINHO, S.; SOUSA, J. P. Soil ecotoxicology in Latin America: current research and perspectives. *Environmental Toxicology and Chemistry*. v.36, n.7, p.1795-1810, 2017. DOI: 10.1002/etc.3792

OECD- ORGANISATION FOR ECONOMIC CO-OPERATION AND DEVELOPMENT. 226: Guidelines for the testing of chemicals: Predatory mite (*Hypoaspis* (*Geolaelaps*) *aculeifer*) reproduction test in soil. 1 ed. Paris: OECD, 2016. 26 p.

OECD- ORGANISATION FOR ECONOMIC CO-OPERATION AND DEVELOPMENT.
226: Guidelines for the testing of chemicals: Predatory mite (*Hypoaspis* (*Geolaelaps*)
aculeifer) reproduction test in soil. 1 ed. Paris: OECD, 2016. 26 p.

RAMWELL CT, Johnson PD, Boxall ABA, Rimmer DA (2004) Pesticide residues on the external surfaces of field crop sprayers: environmental impact. *Pest Manag Sci* 60:795–802

RIVERO, Anisleidy. Natalia Gérez, Florencia Jesús, Silvina Niell, María Pía Cerdeiras, Horacio Heinzen & María Verónica Cesio (2020) Unambiguous evaluation of chlorpyrifos and TCP bioremediation in laboratory and field experiments, *International Journal of Environmental Analytical Chemistry*, DOI: 10.1080/03067319.2020.1817429

SNIEGOWSKI, K; K. Bers, K. van Goetem, J. Ryckeboer, P. Jaeken, P. Spanoghe, D. Springael. Minimal pesticide-primed soil inoculum density to secure maximum pesticide degradation efficiency in on-farm biopurification systems *Chemosphere*, 88 (2012), pp. 1114-1118

SYSTAT SOFTWARE Inc. – SSI. SigmaPlot for Windows, version 12.0. Disponível em: <http://www.sigmaplot.co.uk/products/sigmaplot/produpdates/prod-updates18.php>.

VISCHETTI, C.; Monaci, E.; Casucci, C.; De Bernardi, A.; Cardinali, A. Adsorption and Degradation of Three Pesticides in a Vineyard Soil and in an Organic Biomix. *Environments* 2020, 7, 113. <https://doi.org/10.3390/environments7120113>

VISCHETTI, C.; Coppola, L.; Monaci, E.; Mincarelli, L.; Casucci, C.; Tafi, M.; Agnelli, A. Efeito de diferentes frações de carbono orgânico na adsorção de metalaxil em substratos orgânicos residuais e solos. *Fres. Ambiente. Touro*. 2013 , 22 , 200-206.

VISCHETTI, Costantino; Elga Monaci, Alessandra Cardinali, Cristiano Casucci, Piero Perucci, The effect of initial concentration, co-application and repeated applications on pesticide degradation in a *Biobed* mixture, *Chemosphere*, Volume 72, Issue 11, 2008. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2008.04.065>.