



Evento: XXIX Seminário de Iniciação Científica

EFEITOS DE HERBICIDA À BASE DE GLIFOSATO SOBRE O COMPORTAMENTO, PERFIL MORFOMÉTRICO E METABÓLICO DE OLIGOQUETAS¹

EFFECTS OF GLYPHOSATE-BASED HERBICIDE ON BEHAVIOR, MORFOMETRIC AND
METABOLIC PROFILE OF OLIGOCHETS

**Rafaela Quintana Probst², Diovana Gelati de Batista³, Kauana Souza de Oliveira⁴,
Juliana Furlanetto Pinheiro⁵, Thiago Gomes Heck⁶, Pauline Goettens Fiorin⁷**

¹ Pesquisa desenvolvida pelo Grupo de Pesquisa em Fisiologia, Departamento de Ciências da Vida - UNIJUÍ

² Acadêmica do curso de Biomedicina - UNIJUÍ, Bolsista PIBIC/UNIJUÍ, Grupo de Pesquisa em Fisiologia/GPeF

³ Doutoranda do Programa de Pós-Graduação em Modelagem Matemática e Computacional - UNIJUÍ

⁴ Graduada no curso de Ciências Biológicas - UNIJUÍ

⁵ Acadêmica do curso de Medicina - UNIJUÍ, Bolsista FAPERGS

⁶ Docente do Programa de Pós-Graduação em Atenção Integral à Saúde UNICRUZ/UNIJUÍ

⁷ Docente do Programa de Pós-Graduação em Atenção Integral à Saúde UNICRUZ/UNIJUÍ

RESUMO

Os herbicidas à base de glifosato (HBGs) estão entre os agrotóxicos mais utilizados no mundo. No solo, organismos invertebrados, como as minhocas, podem ser afetados negativamente pelos HBGs, sendo importantes bioindicadores. O objetivo deste estudo foi avaliar se concentrações agronômicas de HBG são capazes de alterar o comportamento, perfil morfométrico e metabólico de minhocas. Foi realizado teste de evitação, em que as minhocas foram expostas por 48 horas, nos seguintes grupos experimentais: CTRL; que recebeu apenas água; e GLY1,5; GLY3 e GLY6, que receberam, em um dos lados das unidades experimentais (UEs), concentrações agronômicas usuais de HBG equivalentes a 1,5, 3 e 6 L/100 L de água, respectivamente. O comportamento foi avaliado pelo número de animais em cada lado das UEs. Analisamos também a massa corporal (perfil morfométrico) e a concentração de proteínas totais (perfil metabólico). O HBG não altera a massa corporal e o conteúdo de proteínas das minhocas, mas induziu comportamento de evitação na maior dosagem (GLY 6). Assim, nosso estudo ressalta a importância destes organismos como bioindicadores dos riscos do herbicida.

Palavras-chave: Agrotóxicos; Bioindicadores; Minhocas; Herbicidas; Saúde ambiental.

INTRODUÇÃO

O aumento da produtividade agrícola provocou o uso extensivo de agrotóxicos, dentre os quais, os herbicidas à base de glifosato (HBGs) são os mais utilizados no mundo. (AZIZ, 2020). No entanto, uma vez aplicado em lavouras, HBGs podem contaminar o solo, o ar e a água, representando risco à saúde de organismos de diferentes habitats e níveis



filogenéticos. No solo, a contaminação ocorre por adsorção das moléculas do herbicida à matéria orgânica e minerais, aumentando sua persistência no meio (BRUGGEN et al., 2018). Uma vez no solo, os HBGs e seus metabólitos são ingeridos por invertebrados, como minhocas, que são engenheiras do ecossistema e organismos bioindicadores (LAVELLE, 2006; POCHRON et al., 2019). Nesse sentido, estudos de toxicidade e comportamentais com minhocas permitem a avaliação dos impactos de contaminantes a estes organismos, ao ambiente e, indiretamente, à saúde (BATISTA, 2021). HBGs induzem alterações no status redox (SALVIO et al., 2016), na reprodução, sobrevivência (SANTADINO et al., 2014), locomoção (GAUPP-BERGHAUSEN et al., 2015) e na massa corporal (CORREIA; MOREIRA, 2010) de minhocas. Entretanto, a toxicidade de doses realistas de HBGs e seus efeitos comportamentais, morfométricos e metabólicos em minhocas têm de ser melhor elucidados. Desse modo, o objetivo do estudo foi avaliar se concentrações agronômicas de HBG são capazes de alterar o comportamento, o perfil morfométrico e metabólico em minhocas.

METODOLOGIA

Foram utilizadas 144 minhocas (*Eisenia spp*) adultas, com clitelo aparente e massa corporal média inicial de $0,309 \pm 0,008$ g, coletadas da vermicomposteira do Laboratório de Ensaio Biológicos (LeBio). Durante o período experimental, os animais foram mantidos em unidades experimentais (UEs), com umidade de 60% (FORSYTHE, 1975), em temperatura ambiente, com ciclo claro-escuro de 12h. Foi utilizado a formulação comercial de glifosato (Roundup Original DI ®), contendo sal de isopropilamina a 370 g/L como ingrediente ativo e outros componentes.

A análise comportamental foi realizada através do teste de evitação. As minhocas foram divididas nos seguintes grupos experimentais: CTRL, GLY 1,5, que representa metade da principal dosagem (1,5L/100L de água) recomendada; GLY 3, definida como a principal dosagem recomendada pelo fabricante (3L/100L de água); e GLY 6, o dobro da dosagem (6L/100L de água) recomendada. Cada grupo experimental continha 6 UE, com 6 minhocas cada, totalizando 36 animais/grupo. As UE foram divididas em duas porções: uma recebeu solo umedecido com água (lado esquerdo) e a outra (lado direito) com as concentrações de HBG, diluídas proporcionalmente em 30 mL de água destilada. No grupo controle, foi



aplicado água em ambos lados. Foram colocadas 6 minhocas no centro do recipiente. Após dois dias de exposição, os animais de cada lado foram coletados, contados, pesados, eutanasiados e congelados em nitrogênio líquido.

O comportamento de evitação foi estimado pela equação de Resposta Líquida: $RL = ((C-T)/N) * 100$ (SALVIO et al., 2016). Valores de NR positiva e acima de 80% foram considerados como comportamento de evitação, valores negativos como atração ao solo contaminado e valores iguais e/ou próximos a zero como ausência de resposta (SALVIO et al., 2016). A análise morfométrica foi realizada através da determinação da massa corporal por pesagem, antes e após a exposição ao HBG. A avaliação do perfil metabólico foi realizada por dosagem de proteínas totais, pelo método de Bradford (1976).

Os dados foram expressos em média±desvio padrão. Dados não paramétricos foram submetidos ao Teste de Kruskal-Wallis, seguido do Teste de Múltiplas Comparações de Dunn, e os paramétricos submetidos à Análise de Variância (ANOVA) de uma e duas vias, seguida do Teste de Múltiplas Comparações de Tukey.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Ao final das 48 horas de exposição ao HBG, observamos que os animais do grupo GLY 6 evitaram o solo tratado, quando comparados ao grupo CTRL, com uma resposta líquida de $83,33 \pm 18,25\%$ de evitação (Figura 1). Esta resposta indica que a presença do HBG no solo faz com que perca sua função de habitat, por ser percebido pelas minhocas como potencialmente prejudicial (BATISTA, 2021).

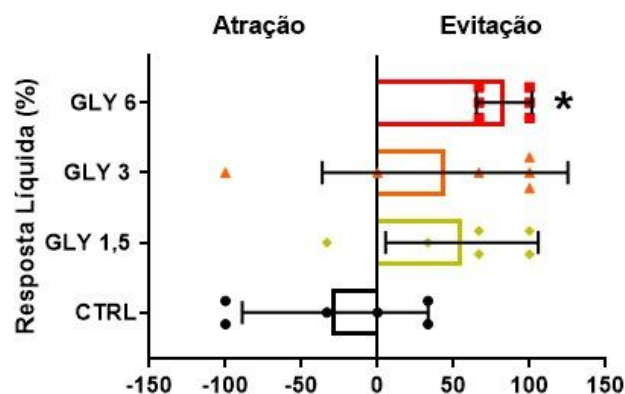


Figura 1. Efeito da exposição ao HBG no comportamento de evitação de minhocas. *P= 0,0129.



Na análise do perfil morfométrico, a massa corporal inicial foi semelhante em todos os grupos, e não sofreu alterações em nenhuma das concentrações de HBG ao final do experimento (Figura 2.A). Além disso, observamos que as concentrações de HBG não alteraram os níveis de proteínas totais na porção corporal anterior (Figura 2.B), que possui todos os sistemas corporais das minhocas.

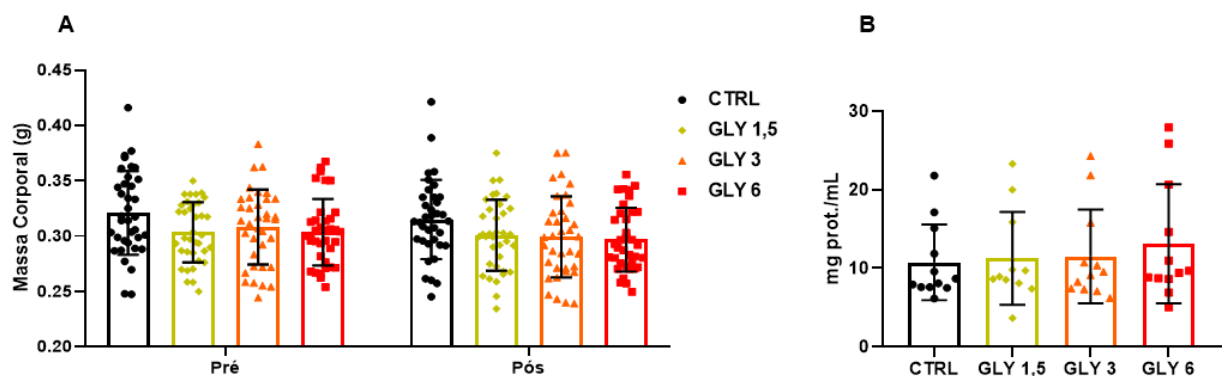


Figura 2. A) Massa corporal das minhocas nos períodos PRÉ e PÓS exposição. $P > 0,05$. B) Conteúdo de proteínas na porção corporal anterior das minhocas após experimento de evitação. $P = 0,8075$.

Nosso estudo mostra que concentrações usuais de HBG não alteram indicadores dos perfis morfométrico e metabólico. No entanto, a exposição a HBG e outros poluentes pode alterar o balanço energético, e assim levar a prejuízos metabólicos decorrentes de danos teciduais e enzimáticos (POCHRON, 2019). Nesse sentido, permanecer em solos contaminados pode ameaçar a saúde do organismo. Em função disso, a exposição contínua a dosagens agrônômicas de HBG precisa ser avaliada, de modo a sabermos se estes animais são capazes de se adaptar à condição.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

As dosagens utilizadas em nosso estudo, considerando concentrações agrônômicas usuais, não promovem alterações no perfil morfométrico e metabólico de oligoquetas, porém, o dobro da dosagem recomendada induz comportamento de evitação nas minhocas, o que indica a importância destas como bioindicadores dos riscos dos herbicidas para a saúde ambiental, animal e, indiretamente, humana.



AGRADECIMENTOS

Ao Programa Institucional de Bolsa de Iniciação Científica e Tecnológica (PIBIC CNPq, PIBIC UNIJUÍ, PROBIC FAPERGS, PIBIT CNPq, PIBIT UNIJUÍ, PROBIT FAPERGS) e a Coordenação de Aperfeiçoamento Pessoal de Nível Superior - CAPES, pela concessão de bolsas.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- AZIZ, Z, A. Efeitos tóxicos do glifosato. Dissertação (Mestrado integrado em Ciências Farmacêuticas). Instituto Universitário de Egaz Moniz, 2020.
- BATISTA, D, G. Efeitos do herbicida à base de glifosato em organismos de diferentes níveis filogenéticos. Dissertação (Programa de Pós-Graduação *Stricto-sensu* em Atenção Integral à Saúde). Universidade de Cruz Alta - UNICRUZ e Universidade Regional do Noroeste do Estado do Rio Grande do Sul - UNIJUÍ, 2021.
- BRADFORD, M. M. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. **Anal Biochem**, v.72, 1976.
- BRUGGEN, V. et al. Environmental and health effects of the herbicide glyphosate. **Sci Total Environ**, 2018.
- BUEGE, J. A.; AUST, S.D. Microsomal lipid peroxidation. **Meth Enzymol**, v. 52, 1978.
- CORREIA, F, V; MOREIRA, J, C. Effects of Glyphosate and 2,4-D on Earthworms (*Eisenia foetida*) in Laboratory Tests. **Bull Environ Contam Toxicol**, 2010.
- FORSYTHE, W. M. Física de suelos: manual de laboratório. San José, Instituto Interamericano de Ciencias Agrícolas. 1975.
- GAUPP-BERGHAUSEN, M. et al. Glyphosate-based herbicides reduce the activity and reproduction of earthworms and lead to increased soil nutrient concentrations. **Sci Rep**, 2015.
- LAVELLE, P. et al. Soil invertebrates and ecosystem services. **Eur. J. Soil Biol**, v. 42, 2006.
- POCHRON, S. et al. Temperature and body mass drive earthworm (*Eisenia fetida*) sensitivity to a popular glyphosate-based herbicide. **Appl Soil Ecol**, v. 139, 2019.
- SALVIO, C. et al. Survival, Reproduction, Avoidance Behavior and Oxidative Stress Biomarkers in the Earthworm *Octolasion cyaneum* Exposed to Glyphosate. **B Environ Contam Tox**, 2016.
- SANTADINO, M.; COVIELLA, C.; MOMO, F. Glyphosate sublethal effects on the population dynamics of the earthworm *Eisenia fetida* (savigny, 1826). **Water Air Soil Pollut**, 2014.