



Evento: XXIX Seminário de Iniciação Científica

EFEITOS DO HERBICIDA A BASE DE GLIFOSATO NA ATIVIDADE OXIDATIVA EM OLIGOQUETAS ¹

EFFECTS OF GLYPHOSATE-BASED HERBICIDE ON OXIDATIVE ACTIVITY IN OLIGOCHETTES

Juliana Furlanetto Pinheiro², Kauna Souza de Oliveira³, Edivania Gelati de Batista⁴, Diovana Gelati de Batista⁵, Pauline Brendler Goettens Fiorin⁶, Thiago Gomes Heck^{6,7}

¹ Projeto de pesquisa desenvolvido no Grupo de Pesquisa em Fisiologia - GPeF UNIJUI.

² Bolsista PROBIC-FAPERGS, estudante do curso de Medicina UNIJUI.

³ Egressa do curso de Ciências Biológicas UNIJUI.

⁴ Estudante do curso de ciências biológicas do Instituto Federal Farroupilha

⁵ Bolsista CAPES, doutoranda em Modelagem Matemática e Computacional UNIJUI

⁶ Professor do PPG em Atenção Integral à Saúde UNIJUI/UNICRUZ.

⁷ Professor do PPG em Modelagem Matemática e Computacional UNIJUI.

RESUMO

O Herbicida da Base de Glifosato (HBG) é mundialmente o agrotóxico mais consumido. No solo, o HBG sofre adsorção, difusão e ingestão pelos organismos vivos do ambiente edáfico, como as oligoquetas, que são bioindicadores toxicológicos ambientais. Atualmente, tem-se conhecimento sobre alterações morfológicas e reprodutivas, além de dados sobre indução a mortalidade de oligoquetas pela exposição ao HBG. O objetivo deste estudo foi avaliar a resposta oxidativa de celomócitos e da porção anterior de oligoquetas expostas ao HBG. Foram utilizados 144 animais; peso médio de $0,309 \pm 0,008$ g, separados em quatro Grupos: controle (CTRL), GLY 1,5, GLY 3 e GLY 6, sendo que cada grupo seis animais. Estudamos marcadores de atividade oxidativa pela lipoperoxidação com atividade do Malondialdeído (MDA) e da Superóxido Dismutase (SOD). Resultados: a exposição ao HBG induziu redução na atividade da SOD em celomócitos e não aumentou lipoperoxidação no tecido da porção anterior dos animais em comparação aos animais não expostos ao glifosato. Estes resultados sugerem que a exposição ao glifosato pode causar alteração no status redox e prejuízo à atividade citoprotetora de oligoquetas.

Palavras-chave: Glifosato. Estresse oxidativo. Oligoquetas.

INTRODUÇÃO

O Herbicida à Base de Glifosato (HBG), de formulação N-(fosfometil) glicina, é mundialmente o agrotóxico mais consumido (MAGGI et al 2020). No solo, HBGs sofrem



adsorção, difusão e ingestão pelos organismos vivos do ambiente edáfico, como oligoquetas, que são bioindicadores toxicológicos (KARACA, 2010).

O comportamento de evitação desses animais é uma resposta à presença de contaminantes nocivos no ambiente edáfico (SALVIO et al., 2016). Sabe-se que HBGs induzem mortalidade, alterações morfológicas e reprodutivas em oligoquetas (SANTINO; COVIELLA; MOMO, 2014; SAMAL; MISHRA; SAHOO, 2019). Contudo, os efeitos desses herbicidas sobre o comportamento e marcadores imunológicos e oxidativos ainda precisam ser elucidados. Nesse sentido, o objetivo deste estudo foi avaliar a resposta oxidativa de celomócitos e da porção anterior de oligoquetas submetidas à exposição ao HBG em diferentes concentrações.

METODOLOGIA

Utilizou-se ao longo de todo o experimento um total de 144 oligoquetas (*Eisenia sp*) adultas com o clitelo aparente, pesando em média $0,309 \pm 0,008$ g, selecionadas diretamente da composteira. Foram realizadas 6 rodadas experimentais, nas quais as minhocas foram separadas em quatro Grupos: controle (CTRL), GLY 1,5, GLY 3 e GLY 6, sendo que cada grupo continha (n=6) animais. Os animais foram colocados em potes plásticos, que constituíram as Unidades Experimentais (UEs). Cada UE continha 95% de solo livre de matéria orgânica e 5% de erva-mate. A umidade do composto foi ajustada para 60%. As oligoquetas passaram por um período de aclimação de 24 horas em um ambiente sem a presença de tratamento. Após o período de aclimação, os animais foram coletados das UEs e redistribuídos em novas UEs contendo um composto idêntico ao anterior. As UEs foram divididas ao meio, sendo que os animais pertencentes ao grupo CTRL receberam apenas água destilada nos dois lados, enquanto os animais dos grupos GLY receberam em um dos lados as respectivas concentrações de HBG: GLY 1,5 L/100 L de água - 0,45 mL HBG , em 30 ml de água destilada; GLY 3 L/100 L de água - 0,9 mL HBG, em 30 ml de água destilada; GLY 6 L/100 L de água - 1,8 mL HBG, em 30 ml de água destilada e, os animais puderam circular livremente entre os lados. Ao final das 48 horas de exposição ao HBG, os animais foram retirados das UEs. Foi coletado o fluido celômico pelo método adaptado de extrusão não-invasiva de EYAMBE (1991) com o uso de um béquero de 10ml em que os animais eram



colocados individualmente e submersos em 1ml de solução de 5% etanol e 95% solução salina (NaCl 0,9%) suplementada com EDTA (2,5 mg/ml) com um pH 7,3 durante 3 minutos, após isso era adicionado 1ml de LBSS. Ao final, foram eutanasiados e coletada a porção anterior. Os resultados foram apresentados em média \pm desvio padrão. A normalidade foi checada por teste de D'Agostino-Pearson e Shapiro-Wilk. Para comparar os diferentes grupos, os resultados foram submetidos à Análise de Variância (ANOVA) de uma via seguida de teste de Múltiplas Comparações de Tukey. Foi considerado significativo valor $P \leq 0,05$.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

A exposição ao HBG não induziu lipoperoxidação nos tecidos da porção anterior dos animais, independentemente da resposta comportamental destes animais ($P=0,250$) (Figura 1 A e B). No entanto, a exposição ao HBG induziu redução na atividade da SOD em celomócitos de animais do grupo GLY 6 ($P=0,033$) (Figura 1C), e também em animais que evitaram o solo tratado com HBG (Figura 1D).

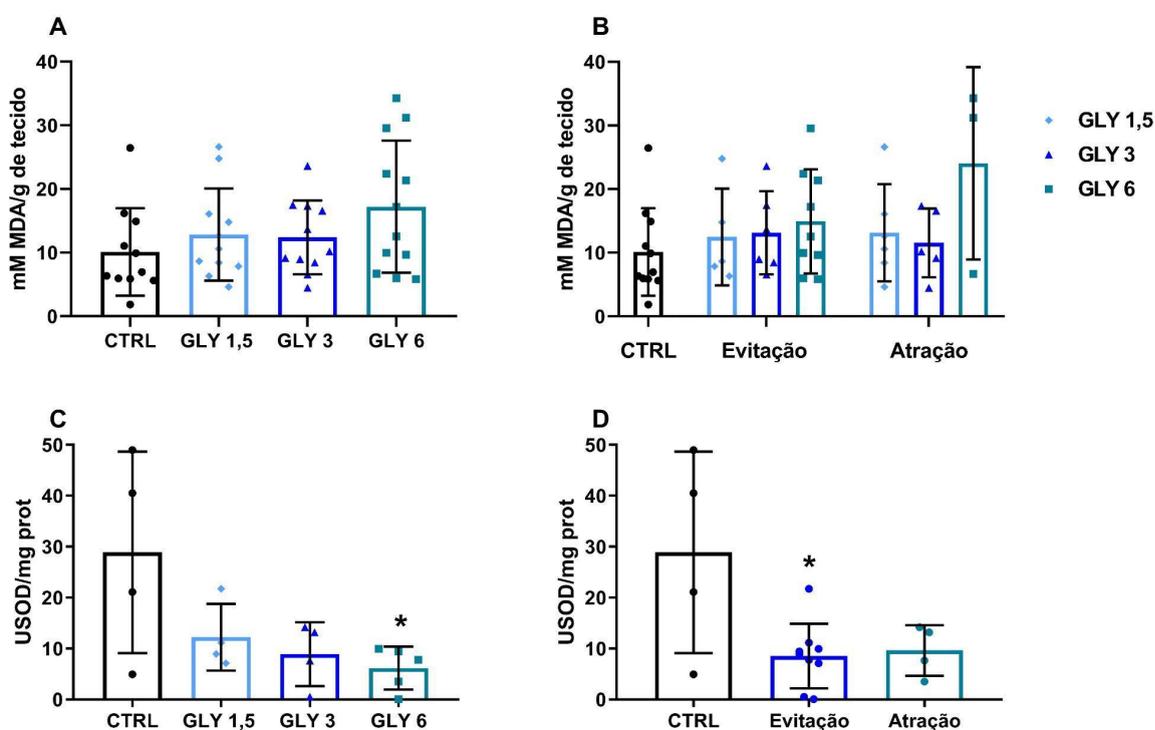


Figura 1. Perfil oxidativo de oligoquetas expostas ao HBG: (A) Conteúdo de MDA da porção anterior por grupo experimental. ANOVA de uma via seguido de Teste de Tukey $P=0,187$). (B) Conteúdo de MDA na porção anterior por resposta comportamental. ANOVA de uma via seguido de Teste de Tukey ($P=0,250$). (C) Atividade



da SOD em celomócitos por grupo experimental. ANOVA de uma via seguido de Teste Tukey, CTRL vs GLY6 P=0,0331. (D) Atividade da SOD por resposta comportamental. ANOVA de uma via seguido de Teste de Múltiplas Comparações de Tukey, Evitação vs CTRL P=0,0165.

Os produtos da lipoperoxidação são utilizados como biomarcadores de estresse oxidativo, os quais indicam a perda do equilíbrio *redox* entre oxidantes e as defesas antioxidantes de um organismo, tecido ou célula, e conseqüentemente, a presença de lipoperoxidação pode indicar a perda da função homeostática e integridade da célula por efeitos tóxicos (GASCHLER; STOCKWELL, 2017). Outra classe de bioindicadores relativos ao estresse oxidativo é a SOD, enzima responsável pela inativação de superóxidos os quais também são citotóxicos (WANG *et al*, 2018).

Anatomicamente, a porção anterior de oligoquetas é composta de cavidade celômica, músculos, células ciliadas quimiorreceptoras, epitélio, além de possuir a porção anterior do tubo digestório e peritônio. Estudos com modelo animal, demonstraram que o HBG induz redução da atividade da SOD e aumento de atividade antioxidante, o que justifica as possíveis hepatotoxicidade, nefrotoxicidade e neurotoxicidade (TANG *et al*, 2017; CATTANI *et al*, 2017). Considerando a porção das oligoquetas estudadas, a exposição ao glifosato pode, mesmo que indiretamente, indicar efeitos tóxicos a estes sistemas. Além disso, no caso dos celomócitos, a redução da atividade da SOD pode representar alterações do perfil oxidativo e, conseqüentemente, uma perda na atividade citoprotetora dessas células imunológicas.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

Podemos concluir que o HBG reduz a atividade da SOD e não altera a lipoperoxidação em oligoquetas, o que pode indicar alteração no status *redox* e prejuízo à atividade citoprotetora.

AGRADECIMENTOS

Agradecemos ao Programa Institucional de Bolsas de Iniciação Científica e Tecnológica (PIBIC/CNPq, PIBIC/UNIJUÍ, PROBIC/FAPERGS, PIBIT/CNPq, PIBIT/UNIJUÍ e PROBIT/FAPERGS) e à Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior -CAPES, pela concessão da bolsa de pesquisa.



REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

CATTANI, Daiane et al. Developmental exposure to glyphosate-based herbicide and depressive-like behavior in adult offspring: implication of glutamate excitotoxicity and oxidative stress. **Toxicology**, v. 387, p. 67-80, 2017

GASCHLER, Michael M .; STOCKWELL, Brent R. Peroxidação lipídica na morte celular. **Comunicações de pesquisa bioquímica e biofísica** , v. 482, n. 3, pág. 419-425, 2017.

KARACA, Ayten (Ed.). **Biologia das minhocas** . Springer Science & Business Media, 2010.

MAGGI, F. et al. The global environmental hazard of glyphosate use, **Science of The Total Environment**, v. 717, 2020.

SAMAL, Suryasikha; MISHRA, CSK; SAHOO, Sunanda. Anomalias setal-epidérmicas, musculares e enzimáticas induzidas por certos agroquímicos na minhoca *Eudrilus eugeniae* (Kinberg). **Ciência Ambiental e Pesquisa de Poluição** , v. 26, n. 8, pág. 8039-8049, 2019.

SANTADINO, M.; COVIELLA, C.; MOMO, F. Glyphosate sublethal effects on the population dynamics of the earthworm *Eisenia fetida* (savigny, 1826). **Water, Air, and Soil Pollution**, v. 225, n. 12, 2014.

TANG, Juan et al. O desequilíbrio iônico está envolvido nos mecanismos de dano oxidativo do fígado em ratos expostos ao glifosato. **Fronteiras em fisiologia** , v. 8, p. 1083, 2017.

WANG, Ying et al. Superoxide dismutases: Dual roles in controlling ROS damage and regulating ROS signaling. **Journal of Cell Biology**, v. 217, n. 6, p. 1915-1928, 2018.