



Evento: XXXIII Seminário de Iniciação Científica ▾

EXPOSIÇÃO AGUDA AO GLIFOSATO AFETA A SOBREVIVÊNCIA DO NEMATÓIDE *CAENORHABDITIS ELEGANS*¹

Isadora Pilatto Miron², Caroline Brandão Quines³, Matias Nunes Frizzo⁴, Thiago Gomes Heck⁵

¹ Projeto Institucional desenvolvido no Grupo de Pesquisa em Fisiologia (GPeF) da Universidade Regional do Noroeste do Estado do Rio Grande do Sul (UNIJUI).

² Acadêmica do curso de Biomedicina e bolsista PIBIC-UNIJUI, Universidade Regional do Noroeste do Rio Grande do Sul (UNIJUI), isadora.miron@sou.unijui.edu.br.

³ Docente dos cursos de graduação na saúde (UNIJUI); caroline.quines@unijui.edu.br.

⁴ Professor do Programa de Pós-Graduação em Atenção Integral à Saúde - PPGAIS (UNIJUI); matias.frizzo@unijui.edu.br

⁵ Grupo de Pesquisa em Fisiologia - GPeF, Programa de Pós-Graduação em Atenção Integral à Saúde - PPGAIS, Programa de Pós-Graduação em Modelagem Matemática e Computacional -PPGMMC, Universidade Regional do Noroeste do Estado do Rio Grande do Sul - UNIJUI/ INCT (In)atividade Física e Exercício, CNPq, Brasil; thiago.heck@unijui.edu.br

INTRODUÇÃO

Os herbicidas à base de glifosato estão dentre os agrotóxicos mais utilizados no mundo. Além das lavouras de diversas cultivares, são aplicados em áreas urbanas, em quintais e jardins. Como consequência da frequência e da ampla utilização de herbicidas à base de glifosato, moléculas de glifosato [N-(fosfonometil)-glicina] e de seus metabólitos estão presentes em diversos ambientes (STEPHEN, 2018). Após aplicação, parte de suas moléculas permanecem temporariamente nas camadas superficiais do solo, de onde podem ser carregadas durante as chuvas, pelos processos de erosão e escoamento, e atingir águas superficiais, ou ainda podem sofrer lixiviação, infiltrando nas camadas mais profundas do solo e atingindo águas subterrâneas (STEPHEN, 2018). Esse cenário constitui-se um problema do ponto de vista ecológico e de saúde pública, pois a presença de glifosato e seus metabólitos nos recursos naturais ameaça a saúde dos ecossistemas e a saúde humana. O *Caenorhabditis elegans* (*C.elegans*) é um nematoide transparente, bastante pequeno (aproximadamente 1 mm), bacterívoro de vida livre e encontrado no solo, água, vegetais e frutas em decomposição. Em laboratório é mantido em placas de Petri com meio de crescimento específico (nematode growth media – NGM) e geralmente alimentado com a bactéria *Escherichia coli* OP50 (APFELD et al., 2018). Esses nematoides possuem um ciclo de vida curto, com tempo rápido de geração de aproximadamente três dias e longevidade de



duas a três semanas, são vermes hermafroditas e cada verme produz cerca de 300 ovos, em temperatura de 20°C. Modelos com *C. elegans* se tornaram uma ferramenta valiosa para investigações em áreas como toxicidade ambiental, biologia do desenvolvimento, farmacologia, genética e neurociência e os ensaios toxicológicos são amplamente empregados em estudos de monitoramento ambiental, onde é avaliado o efeito da toxicidade sobre o ciclo de vida do nematoide (MENEELY et al., 2019). Dessa forma, a principal questão deste estudo é analisar como a exposição aguda ao glifosato afeta a sobrevivência dos *C. elegans*, oferecendo informações sobre os possíveis efeitos tóxicos do herbicida em organismos vivos. O estudo teve como objetivo avaliar o efeito de uma exposição aguda a diferentes concentrações de glifosato no teste de sobrevivência no nematoide *C. elegans*.

METODOLOGIA

Foram utilizadas cepa N2 (tipo selvagem) que foram mantidas a 20°C, em meio NGM (*Nematode growth medium*) e alimentadas com bactéria *Escherichia coli* OP50 (*E.coli* OP50). O glifosato Roundup® comercial foi adquirido de fornecedores locais. Os hermafroditas grávidos, quando chegaram no estágio adulto, foram submetidos ao processo de sincronização para a obtenção de todos os vermes no mesmo estágio larval (L1). A seguir, dois mil vermes no estágio larval L1 foram expostos a diferentes concentrações de glifosato: 1 µM (0,00002%), 10 µM (0,0002%), 100 µM (0,0017%) e 500 µM (0,0085%) por 30 minutos, caracterizando uma exposição aguda. O grupo controle foi apenas submetido à mesma exposição com o veículo do glifosato (água destilada). Após a exposição os vermes foram submetidos a um processo de lavagem para retirada do glifosato, para isso os microtubos contendo os vermes tratados foram centrifugados a 7.000 rpm, durante 3 minutos a 20°C e sobrenadante removido e o restante do volume repostado com tampão M9 (KH₂PO₄, Na₂HPO₄ e NaCl). Esse processo foi repetido 3 vezes. Na última lavagem foram removidos cerca de 750µL de sobrenadante, e o restante depositado em placas NGM previamente semeadas com 200µL de *E.coli* OP50. Nessas placas os vermes foram mantidos a 20°C. Após 48 horas foi realizado o ensaio de sobrevivência, no qual foram quantificados o número de vermes vivos contidos em cada placa utilizando uma câmara de Neubauer. Esse procedimento foi realizado em duplicata. Os resultados foram submetidos à análise de variância (ANOVA) de uma via seguido de múltiplas comparações de Dunnett's ($p < 0,05$). A concentração letal 50% (CL₅₀)



foi determinada utilizando um modelo de curva dose-resposta sigmoidal, com um limite superior fixado em 100%, utilizado para traçar as curvas. Todas as análises foram realizadas usando o programa GraphPad Prism 10.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

A exposição aguda de *Caenorhabditis elegans* (*C. elegans*) a diferentes concentrações de glifosato demonstrou um efeito tóxico significativo sobre a taxa de sobrevivência dos organismos testados. A avaliação de sobrevivência de *Caenorhabditis elegans* após exposição aguda (30 minutos) em concentrações mais baixas do herbicida, variando entre 1 μM e 500 μM demonstra que, embora as concentrações de 1 μM e 10 μM não tenham causado reduções estatisticamente significativas na sobrevivência dos nematóides quando comparadas ao controle, as concentrações de 100 μM e 500 μM provocaram uma diminuição significativa na viabilidade dos vermes quando comparadas ao grupo controle ($p < 0,05$). Também foi possível calcular a CL_{50} de 701, 80 μM após exposição aguda dos animais.

Os achados do presente estudo estão alinhados com pesquisas anteriores que apontam os efeitos prejudiciais do glifosato sobre organismos não-alvo (Bai & Ogbourne, 2016). Stephen (2018) já havia alertado para a persistência ambiental do glifosato e o seu potencial de contaminação em ecossistemas aquáticos e terrestres, afetando organismos sensíveis ao composto. Nesse contexto, outro estudo utilizando os *C. elegans* como bioindicador ambiental, mostrou-se que os nematoides são sensíveis a exposições diretas ao glifosato, reforçando sua aplicabilidade em ensaios toxicológicos de monitoramento ambiental (Meneely et al., 2019).

Diversos estudos vêm reforçando a aplicabilidade de *Caenorhabditis elegans* como modelo experimental para avaliar os efeitos tóxicos do glifosato, tanto em sua forma pura quanto em formulações comerciais (Garcia-Espiñeira et al., 2018; Bailey et al., 2018). A literatura também demonstra que os efeitos tóxicos do glifosato vão além da letalidade, afetando aspectos fisiológicos, neurológicos e reprodutivos dos nematoides (Naraine et al., 2022; Zhihang et al., 2024).

Fica evidente que os resultados dessa pesquisa corroboram com os resultados de outros autores, indicando que o glifosato e suas formulações afetam a viabilidade de *C. elegans* de forma dose-dependente da exposição. Este estudo reforça também a aplicabilidade



dos *C.elegans* como modelo experimental sensível e de baixo custo para avaliação da toxicidade ambiental de agrotóxicos, destacando sua relevância para estudos de monitoramento ambiental e saúde pública. Além disso, os achados contribuem para a reflexão sobre o uso indiscriminado de herbicidas e os possíveis impactos em organismos benéficos ao ecossistema. Ademais, pesquisas futuras com exposições crônicas de glifosato serão fundamentais para ampliar o conhecimento sobre os efeitos tóxicos do glifosato em organismos de solo, bem como subsidiar estratégias de manejo ambiental mais sustentáveis.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

Os resultados obtidos neste estudo evidenciam que o herbicida glifosato exerce efeito tóxico significativo sobre a sobrevivência do nematoide *Caenorhabditis elegans* em exposição aguda. As concentrações de 100 μM e 500 μM reduziram significativamente a taxa de sobrevivência de *C. elegans*, evidenciando um efeito tóxico mesmo em doses menores, sugerindo que há um limiar de exposição a partir do qual os danos tornam-se substanciais.

Palavras-chave: Glifosato; *Caenorhabditis elegans*; Toxicidade ambiental; Exposição aguda; Postura de ovos.

AGRADECIMENTOS

(CNPq, Processos 407329/2016-1 444286/2024-1, 403136/2024-5, 405546/2023-8, 307926/2022-2 de TGH, PIBIC-UNIJUÍ, PIBIC-CNPq.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

APFELD, Javier; ALPER, Scott. What can we learn about human disease from the nematode *C. elegans*? In: DISTEFANO, Johanna K. (Org.). *Methods in Molecular Biology*. New York, NY: Springer New York, 2018. v. 1706, p. 53–75. Disponível em: <https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC6391162/>.

DISTEFANO, Johanna K. (Org.). *Methods in Molecular Biology*. New York, NY: Springer New York, 2018. v. 1706. p. 53–75. Disponível em: <https://link.springer.com/book/10.1007/978-1-4939-7471-9>.



MENEELY, Philip M.; DAHLBERG, Caroline L.; ROSE, Jacqueline K. Working with worms: *Caenorhabditis elegans* as a model organism. *Current Protocols Essential Laboratory Techniques*, v. 19, n. 1, p. 1–35, 3 dez. 2019. Disponível em: https://www.researchgate.net/publication/335595793_Working_with_Worms_Caenorhabditis_elegans_as_a_Model_Organism.

STEPHEN, O. Duke. The history and current status of glyphosate. *Pest Management Science*, 2018. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/28643882/>.

GARCÍA-ESPIÑEIRA, María; TEJEDA-BENITEZ, Lesly; OLIVERO-VERBEL, Jesus. Toxicity of atrazine- and glyphosate-based formulations on *Caenorhabditis elegans*. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, v. 156, p. 216–222, 2018. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2018.02.075>.

NARAIN, Akshay S. et al. Roundup and glyphosate's impact on GABA to elicit extended proconvulsant behavior in *Caenorhabditis elegans*. *Scientific Reports*, v. 12, n. 13655, 2022. Disponível em: <https://doi.org/10.1038/s41598-022-17537-w>.

ZHIHANG, Huang et al. The joint toxicity effect of glyphosate and cadmium in a concentration-dependent manner on nematode *Caenorhabditis elegans*. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, v. 285, p. 117081, 2024. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2024.117081>.