



## **ANÁLISE ECOTOXICOLÓGICA DO HERBICIDA GLIFOSATO EM SOLO NATURAL, UTILIZANDO *Enchytraeus crypticus* E *Folsomia candida***

**Palavras-Chave: AGROTÓXICOS, TOXICOLOGIA, BIOINDICADORES.**

**Autores(as):**

**ERICK ESCOBAR SANCHES, FT – UNICAMP**

**Prof<sup>ª</sup>. Dr<sup>ª</sup>. CASSIANA MARIA REGANHAN CONEGLIAN (orientadora), FT – UNICAMP**

### **INTRODUÇÃO**

O Brasil é o maior consumidor mundial de agrotóxicos, sendo este índice justificado pela necessidade de aumentar a produtividade agrícola por meio do controle das pragas que causam perdas significativas na produção, entretanto há diversas externalidades negativas associadas ao seu uso excessivo e inadequado, como os danos à saúde e ao meio ambiente (Rodrigues e Féres, 2021).

O Decreto N° 4.074/2002, que regulamenta a Lei n° 7.802, de 11 de julho de 1989, define o que são agrotóxicos, como devem ser embalados, os seus fins, entre outros (BRASIL, 2002). Eles tem como intuito combater insetos, fungos, ervas daninhas e outras pragas que causam prejuízos aos agricultores por devastarem as culturas reduzindo a produtividades das colheitas.

Todavia, esses produtos são componentes químicos que ao serem utilizados podem contaminar o solo, o ar e os corpos hídricos, culminando em impactos na biota local, podendo levar a morte e, ou, a obtenção de problemas crônicos para o resto da sua vida.

O uso de agrotóxicos no Brasil vem aumentando cada dia, ultrapassando a marca de 300 mil toneladas no ano de 2021, representando aumento de 700% nos últimos quarenta anos (EMBRAPA, 2021), e no ano de 2022 foram comercializadas 800,65 mil toneladas de agrotóxicos, com 3749 produtos formulados, colocando o Brasil entre os maiores consumidores do mundo. Dentre as moléculas mais comercializadas estão os herbicidas, que representam 733,89 mil toneladas (IBAMA, 2024).

O agrotóxico mais utilizado no mundo é o glifosato, molécula inicialmente sintetizada pela empresa Monsanto, muito utilizado, principalmente em plantações de soja (CEE-Fiocruz, 2019).

Nesse prisma, como o Brasil é o país com a maior produção mundial de soja, e o glifosato é muito utilizado. Porém, seu uso é preocupante, já que a própria Organização Mundial da Saúde (OMS) o caracteriza como nível 2A de provável carcinógeno para humanos, além dos estudos que comprovam a sua toxicidade no meio ambiente (CEE-Fiocruz, 2019).

Os ingredientes ativos em ordem crescente de toneladas mais vendidos no Brasil em 2021

foram glifosato e seus sais, 2,4-D, mancozebe, clorotalonil, atrazina, acefato, malationa, cletodim, enxofre e s-metolaclo (IBAMA, 2021). Domingues *et al* (2024) relatam que os agrotóxicos mais utilizados são os herbicidas glifosato (Roundup®) e 2,4-D, visando o aumento da produtividade e acumulação de riquezas das classes dominantes do agronegócio.

Ao ser utilizado, o glifosato pode atingir o solo e afetar o ecossistema daquele local, e por isso estudos devem ser realizados, com a finalidade de avaliar o seu impacto para organismos não-alvos do solo. Para avaliarmos a qualidade do solo e o impacto gerado por inúmeros compostos que são descartados, utilizam-se de análises físicas, químicas e biológicas, além do uso de bioindicadores ligados a ciclagem da matéria orgânica e ao comportamento, como a alimentação, reprodução, entre outros (De Andrea, 2010).

Os organismos bioindicadores da fauna edáfica escolhidos neste estudo foram o *Enchytraeus crypticus*, anelídeo da Subclasse Oligochaeta (Figura 1), e *Folsomia candida*, artrópode da Subclasse Collembola, ambos amplamente utilizados em testes de toxicidade (Figura 1). Estes foram escolhidos, já que são presentes em todo o mundo, sendo de fácil manutenção e cultivo em laboratório.

Os referidos bioindicadores são recicladores de matéria orgânica além de se alimentarem de outros microrganismos, participando da cadeia alimentar, ciclagem de nutrientes, auxiliando fertilização do solo. Esses organismos selecionados para o estudo são importantes representantes da fauna edáfica, sensíveis e amplamente utilizados em testes ecotoxicológicos (Fountain e Hopkin, 2005; Oliveira Filho e Barreta, 2016). Os organismos são expostos ao solo contaminado, e avaliam-se as mudanças quantitativas, que ocorreram na abundância dos grupos após uma interferência no ambiente (Bianchi, 2010).

Figura 1 - Organismos da fauna edáfica (*Enchytraeus crypticus* - esquerda e *Folsomia candida* - direita) utilizados para avaliar a toxicidade do herbicida glifosato em solo natural



Fonte: Santos, 2024.

Fonte: Oliveira, 2017

Diante do uso excessivo do herbicida glifosato no Brasil e no mundo, torna-se necessário analisar o efeito do mesmo, para organismos não alvo, e neste trabalho avaliou-se a reprodução dos organismos *Enchytraeus crypticus* e *Folsomia candida* em solo natural acrescido de diferentes concentrações do herbicida.

## **METODOLOGIA**

### **Teste de toxicidade crônica com o organismo *Folsomia candida***

O organismo é cultivado no Laboratório de Ecotoxicologia de Solos (LAECOS) da Faculdade de Tecnologia. O teste de toxicidade foi realizado de acordo com ABNT - NBR ISO 11267 (2019). Os organismos são mantidos no laboratório em recipientes de plástico, em substrato constituído por uma mistura homogênea com 400 g de gesso, 50 g de carvão ativado e 300 ml de água ultrapura.

O teste de toxicidade consistiu em expor os organismos adultos com idade 10-12 dias, por um período de 28 dias, a temperatura a  $20 \pm 2^\circ\text{C}$ , e umidade controlada semanalmente, em 30 g de solo natural e solo artificial tropical (SAT). A alimentação foi realizada uma vez por semana, utilizando fermento biológico, e fotoperíodo de 16h/8h (claro/escuro). Para o teste, utilizou-se dois controles (solo sem adição do glifosato), em solo natural e SAT, ambos em 8 repetições e 5 concentrações do produto comercial Roundup de acordo com as indicações para uso em cultura de cana de açúcar, em 5 repetições, sendo: 0,05 , 0,10 , 0,60 , 1,50 e 2,00 ml por Kg de solo.

Ao final da exposição dos organismos ao solo contaminado com o glifosato, transferiu-se para recipientes maiores e adicionou-se água destilada e tinta de carimbo, possibilitando a visualização dos organismos com o contraste em suspensão. O recipiente foi fotografado com câmera fotográfica CANON T7. O programa de computador AutoCAD 2021® foi utilizado para realizar a contagem dos organismos.

### **Teste de toxicidade crônica com o organismo *Enchytraeus crypticus***

O organismo é cultivado no Laboratório de Ecotoxicologia de Solos (LAECOS) da Faculdade de Tecnologia. O teste foi realizado de acordo com ABNT NBR ISO 16387 (2012). Os organismos são mantidos em placas de Petri com ágar nutritivo, contendo 13,9 gramas de ágar bacteriológico, 6 ml de solução de 0,1 M de bicarbonato de sódio ( $\text{NaHCO}_3$ ), 6,4 ml de solução 0,001M de cloreto de potássio (KCl) e 772 ml de água ultrapura, ingredientes suficientes para preparar 800 ml de meio, que após ser autoclavado a  $120^\circ\text{C}$  por 20 minutos e, após o resfriamento até  $60^\circ\text{C}$ , adicionou-se 8 ml de solução de cloreto de cálcio ( $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ ) juntamente com 8 ml de sulfato de magnésio ( $\text{MgSO}_4$ ).

O teste de toxicidade consistiu em expor os organismos adultos clitelados, por um período de 21 dias, a temperatura a  $20 \pm 2^\circ\text{C}$ , umidade controlada semanalmente, em 30 g de solo natural e SAT. Para o teste de toxicidade utilizou-se dois controles (solo sem adição do glifosato), em solos naturais e SAT, ambos em 8 repetições e 5 concentrações do produto comercial Roundup de acordo com as indicações para uso em cultura de cana de açúcar em 5 repetições, sendo: 0,05 , 0,10 , 0,60 , 1,50 e 2,00 ml por Kg de solo.

A alimentação foi realizada uma vez por semana, utilizando farinha de aveia e fotoperíodo de 16h/8h (claro/escuro). No final do teste adicionou-se em cada recipiente álcool 70% e o corante rosa de bengala a 1%. Os recipientes permaneceram em temperatura ambiente por pelo menos 24h para que os organismos ficassem corados. Para a quantificação dos organismos, o conteúdo de cada recipiente foi

lavado em água corrente em peneira com malha de 53 µm, e disposto em bandeja com água para a contagem manual dos organismos.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

### Resultados do teste de toxicidade com *Folsomia candida*

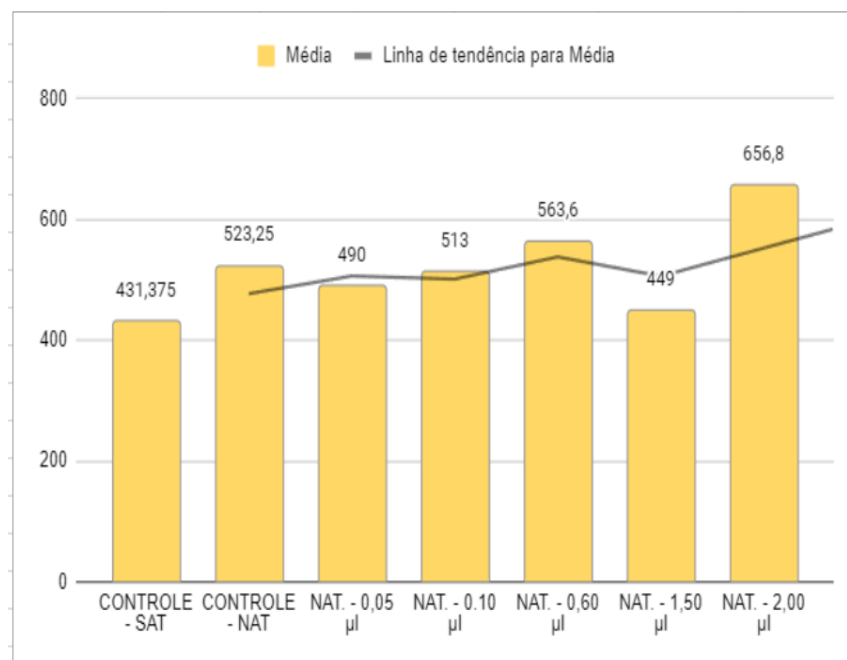
Até o momento, está sendo realizada a contagem e fotografia do teste. Os resultados do teste de toxicidade com o *Folsomia candida*, será finalizado e apresentado no relatório final e na ocasião do congresso de Iniciação Científica.

### Resultados do teste de toxicidade com *Enchytraeus crypticus*

De acordo com os resultados obtidos nota-se que nenhuma das concentrações testadas atingiram número médio de organismos menor que o controle, evidenciando alta proporção de indivíduos jovens, sendo ainda mais expressiva no solo contaminado com o herbicida (Figura 2). Não foi possível calcular a concentração de efeito 50 (CE50), que representa a concentração que causa redução de 50% na reprodução dos organismos.

Zhang et al. (2024) relatam que no solo, o glifosato é rapidamente biodegradado e organismos podem utilizar os metabólitos formados como fonte de fósforo, reduzindo a toxicidade.

Figura 2 - Resultados do ensaio de reprodução mediante *E. crypticus* expostos o glifosato



## CONCLUSÕES

Diante do exposto, pode-se verificar que nas concentrações do glifosato testadas não afetou a reprodução de *Enchytraeus crypticus*.

## BIBLIOGRAFIA

.ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS - ABNT - **ABNT NBR/ISO 11267/2019** Qualidade do solo - Inibição da reprodução de Comllembola (*Folsomia candida*) por poluentes no solo. Rio de Janeiro, 2019.

ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS. **ABNT - NBR/ISO 16387**: qualidade do solo: efeitos de poluentes em *Enchytraeidae* (*Enchytraeus sp.*): determinação de efeitos sobre reprodução e sobrevivência. Rio de Janeiro. 2012.

BIANCHI, M. de O. **Ensaio ecotoxicológico como ferramenta para avaliação do impacto ambiental de resíduos de mineração sobre o solo**. 2013. 91 f. Tese (Doutorado em Agronomia - Ciência do Solo). Instituto de Agronomia, Departamento de Solos, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro. 2013. Disponível em: <<https://tede.ufrj.br/jspui/handle/jspui/2004>>. Acesso em: 5 de mai. de 2023.

BRASIL. Decreto nº 4.074, de 4 de janeiro de 2002. Regulamenta a Lei 7802 de 11 de julho de 1989 que dispõe sobre agrotóxicos, seus componentes e afins e de outras providências. **Diário Oficial da União**, 2002. Disponível em: <[http://www.planalto.gov.br/ccivil\\_03/decreto/2002/d4074.htm#:~:text=Regulamenta%20a%20Lei%20no,e%20embalagens%2C%20o%20registro%2C%20a](http://www.planalto.gov.br/ccivil_03/decreto/2002/d4074.htm#:~:text=Regulamenta%20a%20Lei%20no,e%20embalagens%2C%20o%20registro%2C%20a)>. Acesso em: 1 de mai. de 2022.

CENTRO DE ESTUDOS ESTRATÉGICOS DA FIOCRUZ ANTONIO IVO DE CARVALHO . **Entenda o que é o glifosato, o agrotóxico mais vendido do mundo**. Centro de Estudos Estratégicos da Fiocruz Antonio Ivo de Carvalho. 2019. 1 p. Disponível em: <https://cee.fiocruz.br/?q=node/987>. Acesso em: 7 mai. 2023.

CENTRO DE ESTUDOS ESTRATÉGICOS DA FIOCRUZ ANTONIO IVO DE CARVALHO. **Glifosato, um provável carcinógeno liberado no Brasil**. Centro de Estudos Estratégicos da Fiocruz Antonio Ivo de Carvalho. 2019. 1 p. Disponível em: <https://cee.fiocruz.br/?q=node/1086>. Acesso em: 4 mai. 2023.

DOMINGUES, R.C. *et al.* Uso de agrotóxicos em canaviais de Pernambuco e danos à saúde do trabalhador. **Saúde em Debate**, v. 48, p. e8714, 2024

FOUNTAIN, M. T.; HOPKIN, S. P. FOLSOMIA CANDIDA (COLLEMBOLA): A "Standard" Soil Arthropod\*. *Annual Review of Entomology*, [s.l.], v. 50, n. 1, p. 201-222. jan. 2005. *Annual Reviews*. Disponível em: <<https://doi.org/10.1146/annurev.ento.50.071803.130331>>. Acesso em: 10 de mai. de 2023.

Instituto Brasileiro do Meio Ambiente e dos Recursos Naturais Renováveis. Painel de informações de agrotóxicos. Brasília, DF: DILIQ; IBAMA; 2024 Disponível em: <https://www.gov.br/ibama/pt-br/assuntos/quimicos-e-biologicos/agrotoxicos/paineis-de-informacoes-de-agrotoxicos/paineis-de-informacoes-de-agrotoxicos#Painel-comercializacao> Acesso em 5 de agosto de 2024

Nunes MET, Espíndola ELG. Sensitivity of *Eisenia andrei* (Annelida, Oligochaeta) to a commercial formulation of abamectin in avoidance tests with artificial substrate and natural soil under tropical conditions. **Ecotoxicology**. 2012;2:1063-71.

OLIVEIRA FILHO, L. C.I; BARETTA, D. Por que devemos nos importar com os colêmbolos edáficos?. *Scientia Agraria*, [S.l.], v. 17, n. 2, p. 21-40, jan. 2017. ISSN 1983-2443. Disponível em: <<https://revistas.ufpr.br/agraria/article/view/48242/29920>>. Acesso em: 10 de maio de 2023.

RODRIGUES, L.C.C.; FÉRES, J.G.. A relação entre intensificação no uso de agrotóxicos e intoxicações nos estabelecimentos agropecuários do Brasil. **Revista de Economia e Sociologia Rural**, v. 60, p. e244491, 2021.

ZHANG, Q. et al. Glyphosate Disorders Soil *Enchytraeid* Gut Microbiota and Increases Its Antibiotic Resistance Risk. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, v. 72, n. 4, p. 2089–2099, 18 jan. 2024.