

VI-138 – ANÁLISE ECOTOXICOLÓGICA DO GLIFOSATO POTÁSSICO, PIRACLOSTROBINA E EPOXICONAZOL, ISOLADOS E EM MISTURA MEDIANTE O ORGANISMO *Enchytraeus crypticus*

Bruna de Oliveira Silva Santos⁽¹⁾

Graduanda em Engenharia Ambiental na Faculdade de Tecnologia da UNICAMP (FT/UNICAMP).

Cassiana Maria Reganham Coneglian⁽²⁾

Docente na Faculdade de Tecnologia da UNICAMP (FT/UNICAMP).

Juliana Jacomini Oliveira⁽³⁾

Doutoranda em Tecnologia na área de Ambiente na Faculdade de Tecnologia da UNICAMP (FT/UNICAMP).

Endereço⁽¹⁾: Avenida Acadêmico Luis Antonio Azevedo Bitencourt, 200 – Jardim Esmeralda - Limeira - SP - CEP: 13848-458 - Brasil - tel: (16) 99302-2681 - e-mail: b167279@dac.unicamp.br

RESUMO

A Revolução Verde proporcionou inovações tecnológicas para as plantações, visando maiores ganhos econômicos e menores perdas. Uma das tecnologias desenvolvidas são os agrotóxicos, produtos sintéticos ou naturais, que combatem os seres nocivos as culturas. O Brasil é um dos países que mais consome agrotóxico no mundo, e existe uma preocupação relacionada ao consumo dessas substâncias por causarem impactos na saúde pública e no meio ambiente, afetando diferentes ecossistemas. Considerando os impactos ambientais e que estas substâncias podem atingir organismos não alvos, o presente estudo teve como objetivo avaliar a ecotoxicidade do glifosato potássico, na formulação comercial ZAPP QI 620, e dos fungicidas epoxiconazol e piraclostrobina, na formulação comercial Abacus HC, isolados e em mistura, utilizando como bioindicador o organismo terrestre *Enchytraeus crypticus*. Os ensaios realizados avaliaram a reprodução do organismo em solo artificial tropical (SAT) contaminado com os agrotóxicos em diferentes concentrações de acordo com as especificações das doses propostas na bula de cada agrotóxico. Não foi possível realizar o cálculo do CE50 para os produtos, no entanto, notou-se alterações na reprodução do organismo.

PALAVRAS-CHAVE: Agrotóxico, Bioindicadores, Ecotoxicologia, Fungicida, Herbicida.

INTRODUÇÃO

A utilização dos agrotóxicos surgiu com a necessidade de se aumentar a produção e o rendimento das culturas. Agrotóxicos são produtos sintéticos ou naturais que reduzem as perdas causadas por agentes nocivos às plantações como ervas daninhas, fungos, insetos e outros (Manjunath, et al., 2024). São substâncias responsáveis por causar diversos danos no meio ambiente, como a contaminação do solo, da água e do ar, além de impactos na saúde humana, que podem ser desde sintomas leves como náuseas, até a morte (Kaur et al., 2024).

A Revolução Verde, que ocorreu em meados de 1960, foi o que impulsionou tecnologias agrícolas como o uso dos agrotóxicos. A partir disso, o Brasil começou a incentivar os agricultores a utilizarem esse tipo de substância a partir da criação do Sistema Nacional de Crédito Rural (1965) e o Programa Nacional de Defensivos Agrícolas (1975) (Santos e Santos, 2023). O consumo no Brasil vem aumentando desde então, em 2022, as vendas totais de ingredientes ativos (i.a.) chegaram a 800.652 toneladas, o que representa um aumento de 11% em relação a 2021, cujas vendas chegaram a 720.870 toneladas. (Ibama, 2023).

Considerando todo o impacto no ecossistema que os agrotóxicos causam e o consumo elevado dessas substâncias, o presente trabalho visou avaliar a toxicidade de dois produtos comerciais (p.c.) para o organismo *Enchytraeus crypticus*. Estudos semelhantes a este estão sendo realizados, como o de Niemeyer et al (2018), que avaliaram a toxicidade de diferentes formulações comerciais compostas por glifosato em minhocas, colêmbolos e isópodes.



O glifosato potássico foi utilizado na formulação comercial ZAPP QI 620, um herbicida sistêmico, seletivo condicional para aplicação pós-emergência de diversas espécies daninhas e culturas. Sua aplicação ocorre principalmente em culturas de milho e soja geneticamente modificados com resistência ao glifosato (BULA ZAPP QI 620, s.d.), vale ressaltar que o glifosato e seus sais são os i.a. mais utilizados no país (Ibama, 2023).

O epoxiconazol e piraclostrobina foi utilizado na formulação comercial Abacus® HC, um fungicida sistêmico aplicado em culturas de algodão, aveia, amendoim, café, cana-de-açúcar, cevada, girassol, milho, soja e trigo. O epoxiconazol age inibindo a biossíntese do ergosterol, e o piraclostrobina age inibindo a formação de ATP essencial para os processos metabólicos dos fungos (BULA ABACUS® HC, s.d.).

O organismo utilizado foi o *Enchytraeus crypticus* (Figura 1), um enquitreídeo que possui sensibilidade a compostos antropogênicos e por isso se tornou organismo modelo para avaliação da toxicidade dessas substâncias. Além disso, são seres importantes para o ecossistema edáfico, por realizarem a decomposição da matéria orgânica e a ciclagem de nutrientes.



Figura 1: Imagem do *E. crypticus* adulto clitelado.

OBJETIVOS

O objetivo do presente estudo foi avaliar a toxicidade do herbicida glifosato potássico, na formulação comercial ZAPP QI 620, e dos fungicidas epoxiconazol e piraclostrobina, na formulação comercial Abacus® HC, e da mistura dos dois produtos, utilizando o organismo terrestre *Enchytraeus crypticus*, a partir do teste de reprodução e sobrevivência em solo artificial tropical (SAT).

METODOLOGIA UTILIZADA

Os testes de toxicidade crônica e o cultivo do *E. crypticus* foram baseados na Norma ABNT NBR ISO 16387 (2012). O cultivo do organismo foi realizado em placas de petri contendo ágar nutritivo, bicarbonato de sódio (NaHCO₃), cloreto de potássio (KCl), cloreto de cálcio (CaCl₂.H₂O) e sulfato de magnésio (MgSO₄). Sendo alimentados duas vezes por semana com farinha de aveia, e mantidos em estufa com temperatura de 20 ± 2°C, e fotoperíodo 16h:8h (claro:escuro).

Para a realização dos ensaios foi utilizada uma adaptação do solo artificial da Organização para Cooperação e Desenvolvimento Econômico (OECD) (OECD, 1984), composto por 75% de areia industrial fina (peneirada

em malha de 2 mm, lavada e seca em estufa a 150°C por 48h), 20% de caulim e 5% de fibra de coco, seguindo o proposto na ABNT NBR 15537 (2014).

As concentrações utilizadas nos ensaios foram definidas de acordo com a bula dos produtos comerciais (p.c.). Onde considerou-se a maior e a menor dose de produtos recomendada para a aplicação por hectares, e a partir disso foram realizados cálculos para as doses a serem utilizadas em laboratório (Tabela 1 e 2), seguindo o proposto por Niva e Brown (2019). Para o teste de mistura dos agrotóxicos foram consideradas as mesmas concentrações das Tabelas 1 e 2, designados de M, da seguinte maneira: M0 (G0+EP0; controle); M1 (G1+EP1); M2 (G2+EP2); M3 (G3+EP3); M4 (G4+EP4); M5 (G5+EP5) e M6 (G6+EP6).

Tabela 1: Quantidade de p.c. utilizados no ensaio de toxicidade com ZAPP QI 620, e as concentrações de i.a. por quilograma de solo seco.

Identificação	µl de p.c.	µl de glifosato potássico
G0 (controle)	0	0
G1	1,4	868
G2	2,8	1736
G3	4,2	2604
G4	5,6	3472
G5	7,0	4340
G6	8,4	5208

Tabela 2: Quantidade de p.c. utilizados no ensaio de toxicidade com Abacus® HC, e as concentrações de i.a. por quilograma de solo seco.

Identificação	µl de p.c.	µl de epoxiconazol	µl de piraclostrobina
EP0 (controle)	0	0	0
EP1	0,5	80	130
EP2	0,6	96	156
EP3	0,7	112	182
EP4	0,8	128	208
EP5	0,9	144	234
EP6	1,0	160	260

Após o preparo do SAT, o mesmo foi umedecido e contaminado com as concentrações de cada ensaio, em seguida, adicionou-se 30 g do solo contaminado em recipientes de vidro, juntamente com 10 organismos clitelados. O ensaio permaneceu em estufa com temperatura de $20 \pm 2^\circ\text{C}$, e fotoperíodo 16h:8h (claro:escuro), durante o período de 21 dias. Os organismos foram alimentados nos dias 0, 7 e 14 com farinha de aveia, e a umidade foi corrigida com água destilada, quando necessário. Para cada concentração utilizou-se 5 réplicas e para o controle foram utilizadas 8.

Para a finalização do ensaio adicionou-se álcool etílico 70% e rosa de bengala a 1% em cada recipiente, em seguida os recipientes permaneceram em temperatura ambiente por pelo menos 24 h 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.

Foram realizados teste de Shapiro Wilk, Análise de Variância (ANOVA), teste de Tukey e de Kruskal-Wallis, para o tratamento estatístico dos dados. Todos os testes foram realizados pelo software STATISTICA 10.

RESULTADOS OBTIDOS

A Figura 2 expressa o resultado do ensaio de toxicidade crônica para o organismo *E. crypticus* exposto ao herbicida ZAPP QI 620. O gráfico apresenta o número médio de organismos em cada concentração, juntamente com o desvio padrão (DP).

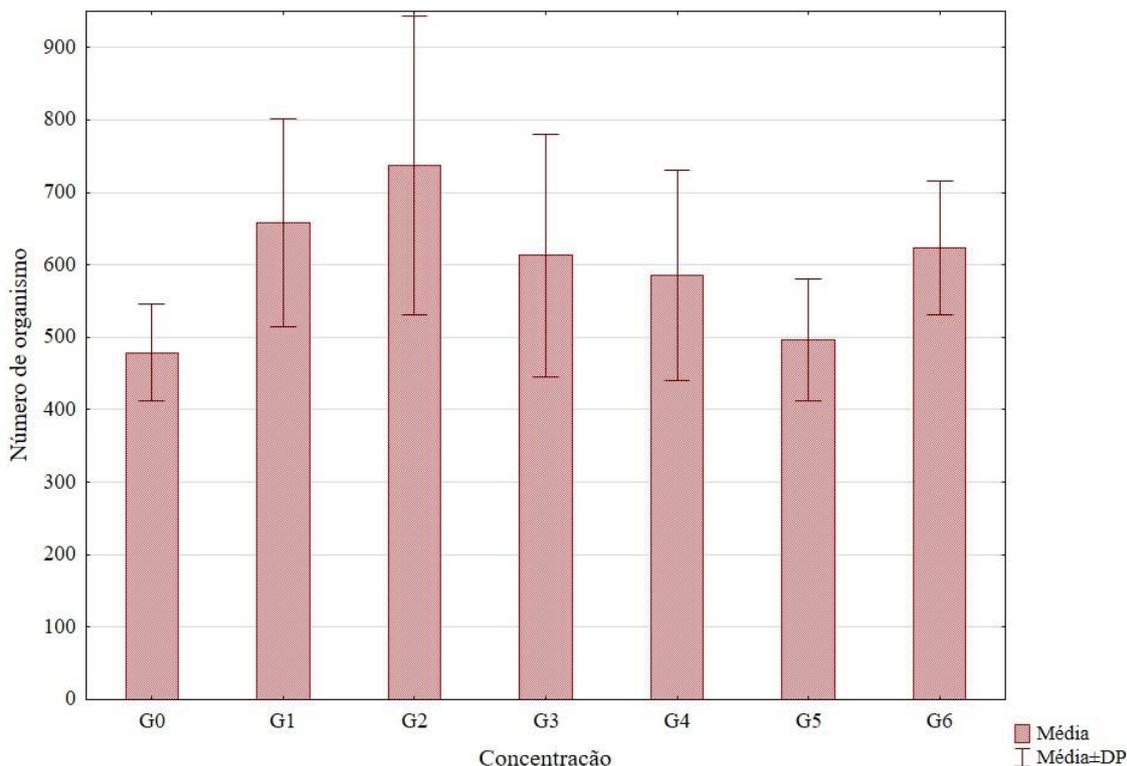


Figura 2: Resultados do ensaio de reprodução com ZAPP QI 620 para o organismo teste *E. crypticus*.

A Figura 3 expressa o resultado do ensaio de toxicidade crônica para o organismo *E. crypticus* exposto ao fungicida Abacus® HC. O gráfico apresenta o número médio de organismo em cada concentração, juntamente com o desvio padrão (DP).

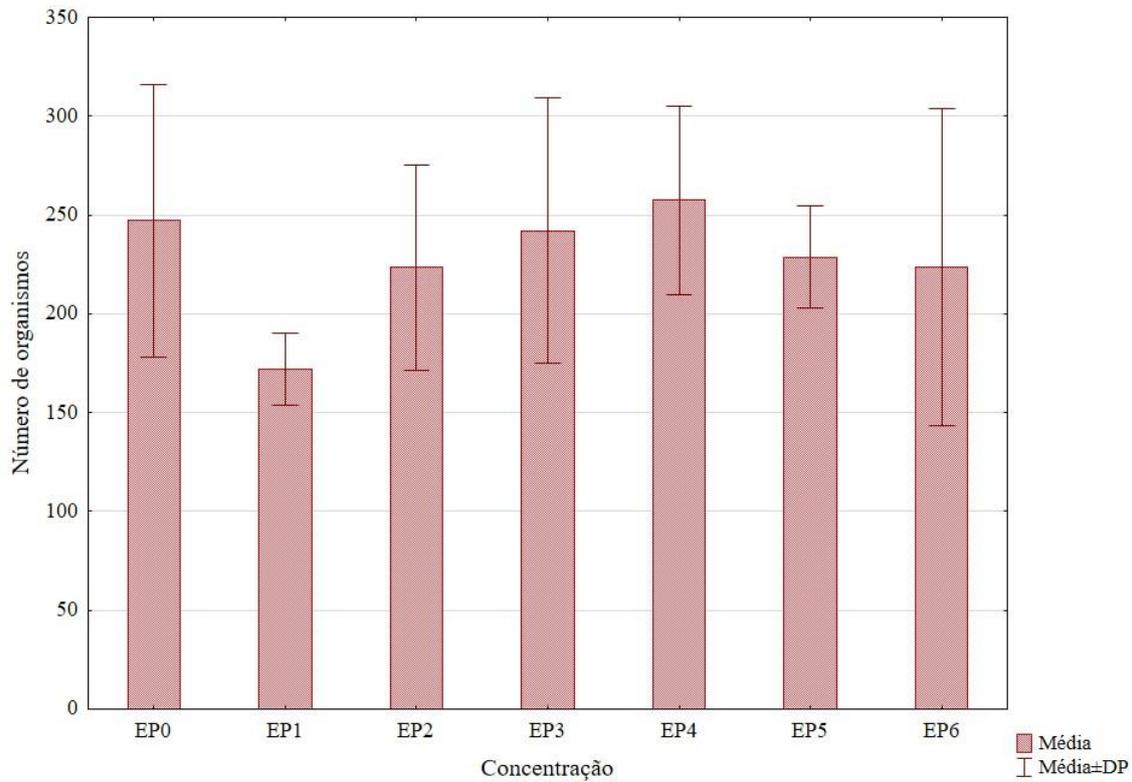


Figura 3: Resultados do ensaio de reprodução com Abacus® HC para o organismo teste *E. crypticus*.

A Figura 4 expressa o resultado do ensaio de toxicidade crônica para o organismo *E. crypticus* exposto a mistura dos dois agrotóxicos. O gráfico apresenta o número médio de organismos em cada concentração, juntamente com o desvio padrão (DP).

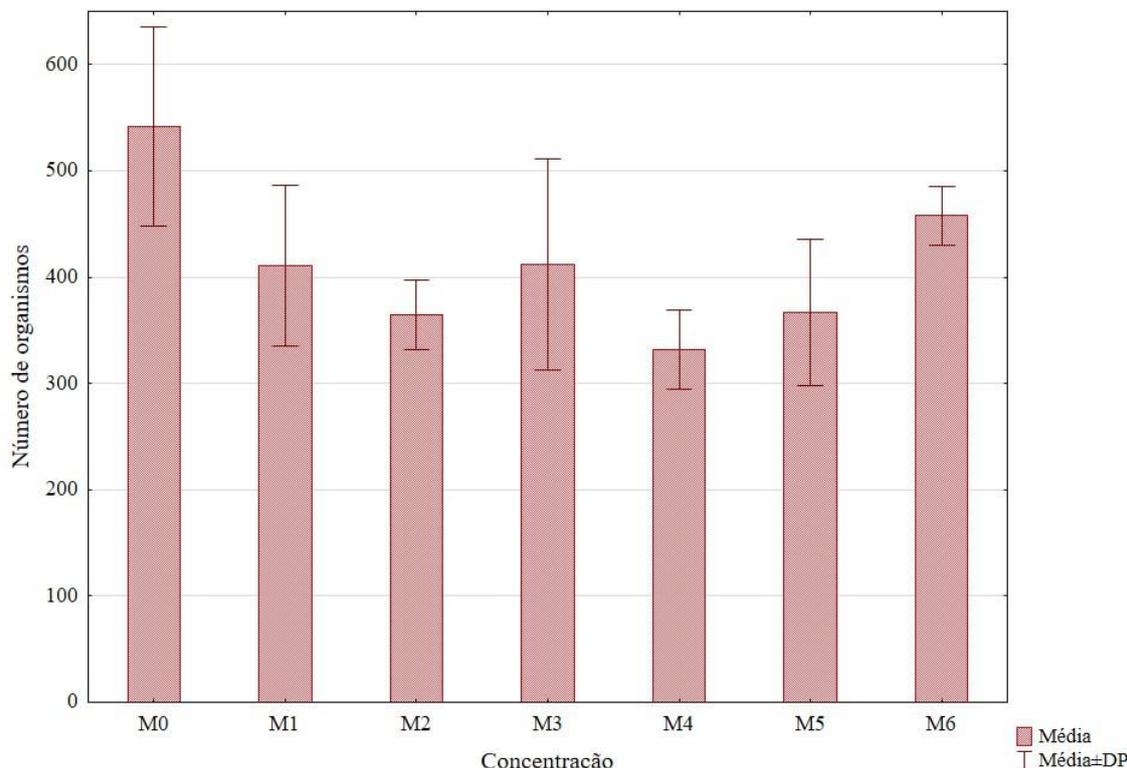


Figura 4: Resultados do ensaio de reprodução com a mistura dos agrotóxicos para o organismo teste *E. crypticus*.

ANÁLISE E DISCUSSÃO DOS RESULTADOS

O teste de Shapiro-Wilk indicou distribuição diferente da normal ($p < 0,05$) para o ensaio com ZAPP QI 620. A partir do teste de Kruskal-Wallis, verificou-se diferença significativa entre G0 (controle) e a concentração G2, que é a concentração que apresentou maior número médio de organismos. Nota-se que todas as concentrações apresentaram número médio de organismos maior do que o controle, resultados semelhantes foram encontrados por Niemeyer, et al (2018) que avaliaram o mesmo produto comercial mediante o organismo *Folsomia candida*.

Para o ensaio com Abacus® HC o teste de Shapiro-Wilk indicou uma distribuição normal ($p > 0,05$), o teste ANOVA e de Tukey não demonstraram diferença significativa entre as amostras. No entanto, pode-se notar que o agrotóxico causou alterações na reprodução do organismo, a menor dose de p.c. (EP1) utilizada causou redução no número médio de organismos em relação ao controle (EP0).

Já o ensaio com a mistura dos agrotóxicos resultou em uma distribuição diferente da normal, segundo o teste de Shapiro-Wilk. O teste de Kruskal-Wallis apresentou diferença significativa entre o controle (M0) e a concentração M4, que foi a concentração que apresentou o menor número de organismos.

Para nenhum dos resultados foi possível calcular o valor da concentração de efeito 50, que representa a concentração que causa redução de 50% da reprodução dos organismos em relação ao controle. Seu cálculo não foi possível porque nenhuma das concentrações utilizadas atingiu esse nível de redução.

As variações na reprodução dos organismos nos ensaios podem estar relacionadas a diferentes questões como biodisponibilidade dos compostos, degradação dos compostos e outros fatores. Entretanto, os resultados indicam que as doses recomendadas para aplicação, recomendadas em bula, podem causar alterações na reprodução destes organismos, sendo necessários mais estudos com diferentes tipos de solo, condições e avaliação dos efeitos adversos nos organismos.



CONCLUSÕES

Diante dos resultados obtidos, pode-se concluir que os agrotóxicos contribuem para ocorrência de alterações na reprodução destes organismos, gerando impactos para todo o ecossistema, visto que os organismos da fauna edáfica são seres importantes para a decomposição de matéria orgânica e ciclagem de nutrientes.

Assim, considerando a tendência de aumento no consumo de agrotóxicos para a produção agrícola são necessários mais estudos que mostrem os efeitos destas substâncias no meio ambiente, em diferentes tipos de solo e condições. Além de avaliações dos efeitos adversos que essas substâncias podem causar nos organismos não alvos.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS – ABNT – ABNT NBR ISO 16387/2012 Qualidade do solo - Efeitos de poluentes em Enchytraeidae (Enchytraeus sp.) - Determinação de efeitos sobre reprodução e sobrevivência. Rio de Janeiro, 2012. 29p.
2. ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS – ABNT – NBR 15537/2014 Ecotoxicologia terrestre - Toxicidade aguda - Método de ensaios com minhocas (Lumbricidae). Rio de Janeiro, 2014. 13p.
3. BULA ABACUS® HC. Registrado no Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento - MAPA sob o nº 9210.
4. BULA ZAPP QI 620. Registrado no Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento - MAPA sob o nº 12908.
5. INSTITUTO BRASILEIRO DO MEIO AMBIENTE E DOS RECURSOS NATURAIS RENOVÁVEIS - IBAMA. **Relatório de comercialização de agrotóxicos**. 15 de dezembro de 2023.
6. KAUR, R. et al. Pesticides: An alarming detrimental to health and environment. *Science of The Total Environment*, p. 170113, 2024.
7. MANJUNATH, R., et al. Pesticides and its toxicity. *Encyclopedia of Toxicity (Fourth Edition)*, v. 7, p. 416-428, 2024.
8. NIEMEYER, J. C. et al. Do recommended doses of glyphosate-based herbicides affect soil invertebrates? Field and laboratory screening tests to risk assessment. *Chemosphere*, v. 198, p. 154-160, 2018.
9. NIVA, C. C. et al. Ecotoxicologia terrestre: métodos e aplicações dos ensaios com oligoquetas. EMBRAPA. 258 p. 2019.
10. OECD Organization for Economic Co-Operation and Development, 1984. Guidelines for the Testing of Chemicals, section 2: effects on biotic systems. Test No. 207: Earthworm, Acute Toxicity Tests.
11. SANTOS, J. da C. et al. Consequences of the use of pesticides in agriculture: A literature review. *Research, Society and Development*, [S. l.], v. 12, n. 10, p. e111121043556, 2023.