



# IMPACTO DO GLIFOSATO NA DIVERSIDADE E ABUNDÂNCIA DE PROTISTAS PLANCTÔNICOS: UMA ABORDAGEM EXPERIMENTAL

*Karina Goes Dos Santos Borges<sup>1</sup>, Matheus Henrique de Oliveira de Matos<sup>2</sup>, Melissa Progênio da Silva<sup>3</sup>, Luiz Felipe Machado Velho<sup>4</sup>, Jose Eduardo Gonçalves<sup>5</sup>, Maria de los Angeles Perez Lizama<sup>6</sup>*

<sup>1</sup>Acadêmica do Curso de Ciências Biológicas, UNICESUMAR – Universidade Cesumar, Maringá/PR. Bolsista PIBIC12/ICETIUniCesumar. karinagoesborges@gmail.com.

<sup>2,3</sup>Doutorandos do Programa de Pós-Graduação em Ecologia de Ambientes Aquáticos Continentais, Universidade Estadual de Maringá- UEM. Maringá/PR.

<sup>4</sup> Docente do Programa de Pós-graduação em Ecologia de Ambientes Aquáticos Continentais, Núcleo de Pesquisas em Limnologia Ictiologia e Aquicultura, Universidade Estadual de Maringá – UEM.

<sup>5</sup>Coorientador, Docente do Curso de Biomedicina e do Mestrado em Tecnologias Limpas, UNICESUMAR. Bolsista Produtividade do Instituto Cesumar de Ciência, Tecnologia e Inovação - ICETI. jose.goncalves@unicesumar.edu.br

<sup>6</sup>Orientadora, Docente do Curso de Ciências Biológicas e do Mestrado em Tecnologias Limpas, UNICESUMAR. Bolsista Produtividade do Instituto Cesumar de Ciência, Tecnologia e Inovação - ICETI. maria.lizama@unicesumar.edu.br

## RESUMO

O crescimento da população humana e a urbanização, promove o aumento da demanda global de energia, essa demanda estimula uma maior atividade agrícola, principalmente em países em desenvolvimento, como o Brasil, que utiliza altas doses de pesticidas. O glifosato é um dos herbicidas mais utilizados no mundo, devido à sua ampla utilização como regulador do crescimento de plantas, o glifosato pode se dispersar pelos ecossistemas, incluindo águas superficiais, atingindo, assim, plantas, animais e toda teia alimentar dos ambientes. O uso de pesticidas é um dos responsáveis pela diminuição da qualidade da água em ecossistemas aquáticos, impactando tanto as suas comunidades como seus serviços ecossistêmicos. Nesse sentido, este projeto visa avaliar experimentalmente os efeitos de diferentes concentrações do pesticida glifosato sobre a diversidade e abundância das comunidades de Protistas planctônicos. O experimento está sendo desenvolvido com três concentrações de glifosato, sendo uma concentração abaixo do limite, uma concentração no limite permitido e outra acima do limite permitido pelo CONAMA 357 para ambientes naturais; além disso, utilizamos um tratamento controle, sem glifosato. Espera-se com essa pesquisa que está em andamento, possa ser possível evidenciar os impactos de pesticidas sobre comunidades de Protistas heterotróficos de água doce, os ciliados e as amebas testáceas, bem como identificar espécies potencialmente bioindicadoras de impactos causados por tais compostos tóxicos.

**PALAVRAS-CHAVE:** Agroquímicos; Ecossistemas aquáticos; Microrganismos.

## 1 INTRODUÇÃO

O crescimento da população humana e a urbanização, promove o aumento da demanda global de energia (MOUTINHO et al., 2020) e, conseqüentemente, isso pode gerar uma maior demanda por alimento. Essa demanda estimula uma maior atividade agrícola, principalmente em países em desenvolvimento, como o Brasil, que utiliza altas doses de pesticidas(DEFARGE; VENDÔMOIS; SÉRALINI, 2018; DOMINGUES et al., 2004).

Na década de 70, o Brasil começou a utilizar agrotóxicos em larga escala, sem que houvesse preocupações com a presença e/ou contaminação do solo e da água, tanto superficial quanto subterrânea (GOMES; BARIZON, 2014). Em 2019, o Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA) atingiu o maior patamar de liberação de agrotóxicos com aprovação recorde de 503 registros, finalizadas com os últimos atos publicados no Diário Oficial da União de 26/12/2019 (ADAMS et al., 2020).



A aplicação contínua e muitas vezes descontrolada desses pesticidas sintéticos em culturas agrícolas causou, ao longo dos anos, acúmulo de resíduos tóxicos no ambiente, levando a intoxicação e várias doenças crônicas em organismos não-alvo (BAKARY et al., 2019; EGWU et al., 2019; ESTEVES, 2011). O glifosato é um dos herbicidas mais utilizados no mundo (TARAZONA et al., 2017). O glifosato chegou ao mercado pela primeira vez em 1974 como um herbicida pós-emergência, não seletivo, e sua popularidade cresceu de forma constante por ser altamente eficaz (DUKE; POWLES, 2008). No entanto, devido à sua ampla utilização como regulador do crescimento de plantas na agricultura, silvicultura, em áreas urbanas e na aquicultura, o glifosato pode se dispersar pelos ecossistemas, incluindo águas superficiais, atingindo, assim, plantas, animais e toda teia alimentar dos ambientes (MILAN et al., 2018).

O uso de bioindicadores (plantas e animais) da qualidade da água pode ser uma alternativa para avaliar os impactos causados pelo aporte de pesticidas em ecossistemas de água doce. Segundo ROSENBERG e RESH (1993), um bioindicador ambiental deve possuir características específicas que lhe conferem tal atribuição, como serem organismos de grande distribuição geográfica, abundantes ou de fácil coleta, disporem de características ecológicas conhecidas e terem a possibilidade de uso em estudos em laboratório. Organismos pertencentes ao compartimento planctônico da coluna d'água possuem tais características (RADHAKRISHNAN; JAYAPRAKAS, 2015). Alguns estudos têm utilizado as comunidades planctônicas para ensaios toxicológicos (CASALI-PEREIRA et al., 2015; TWINING; FISHER, 2004; VILAS-BOAS; SENRA; DIAS, 2020), principalmente pelo fato das substâncias tóxicas serem mais facilmente incorporadas em ambientes aquáticos, em comparação aos terrestres (AZEVEDO; CHASIN, 2003).

O uso de pesticidas é um dos responsáveis pela diminuição da qualidade da água em ecossistemas aquáticos, impactando tanto as suas comunidades como seus serviços ecossistêmicos. Nesse sentido, este projeto visa avaliar experimentalmente os efeitos de diferentes concentrações do pesticida glifosato sobre a diversidade e abundância das comunidades de Protistas planctônicos.

## 2 MATERIAIS E MÉTODOS

### Delineamento experimental

Para avaliar os efeitos das diferentes concentrações de glifosato sobre a estrutura das comunidades planctônicas será utilizada uma abordagem experimental, com mesocosmos artificiais (frasco estéreis de 1 L). Para a análise serão utilizadas água coletada na sub-superfície da lagoa do rio Bahia, na planície do alto rio Paraná, localizado no município de Porto Rico, Paraná- Brasil, contendo as comunidades de protozoários planctônicos (protistas ciliados e amebas testáceas). A água coletada será armazenada em 5 (cinco) galões de 20 litros e transportada para o laboratório LIABQ na Unicesumar e adicionadas em um recipiente de 100 L a fim de homogeneizar o plâncton.

Para o desenvolvimento do experimento será preparado uma solução estoque de concentração  $1000 \text{ mg L}^{-1}$  de Glifosato, para obter as concentrações de  $30 \text{ } \mu\text{g L}^{-1}$ ,  $65 \text{ } \mu\text{g L}^{-1}$  e  $500 \text{ } \mu\text{g L}^{-1}$ , no volume final dos frascos de 700 mL contendo as comunidades de protozoários planctônicos. O protocolo será dividido em grupos, sendo o grupo controle contendo somente 700 mL de água com as comunidades de protozoários planctônicos, grupo I contendo 700 mL de água com comunidades metazoários planctônicos em  $30 \text{ } \mu\text{g L}^{-1}$ , grupo II contendo 700 mL de água com comunidades metazoários planctônicos em  $65 \text{ } \mu\text{g L}^{-1}$ .



L<sup>-1</sup> e grupo III contendo 700 mL de água com comunidades metazoários planctônicos em 500 µg L<sup>-1</sup>.

Cada tratamento será replicado cinco vezes, sendo as amostras obtidas nos dias 0 (início do experimento), 1, 3, 5 e 7, resultando em um total de 100 mesocosmos (4 tratamentos x 5 réplicas x 5 tempos).

As variáveis físicas e químicas da água utilizada (temperatura da água, pH, turbidez, condutividade e oxigênio dissolvido) foram mensuradas antes do início do experimento, com auxílio de equipamento multiparâmetros portátil (Horiba U-50).

### Análise de dados

Para análises das comunidades de Protistas, toda água foi concentrada em 100 mL utilizando malha de 5 µm de abertura de poro. A extração do pesticida da amostra de água será realizada através do cartucho de extração em fase sólida. As análises no LC-MS/MS serão realizadas em um cromatógrafo líquido, acoplado a um espectrômetro de massa, com coluna C-18.

Com objetivo de avaliar como as variáveis respostas dos Protistas serão afetadas pelas concentrações de glifosato para cada tempo amostrado, serão utilizadas Análises de Variância Unifatoriais. Para testar o impacto das concentrações de glifosato na composição de espécies em cada tempo amostrado, será realizada uma análise multivariada permutacional de variância (PERMANOVA). Além disso, será calculada, para cada tratamento, uma análise de espécies indicadoras (INDVAL) para identificar possíveis espécies resistentes ao glifosato.

### 3 RESULTADOS ESPERADOS

Espera-se com essa pesquisa que está em andamento, possa ser possível evidenciar os impactos de pesticidas sobre comunidades de Protistas heterotróficos de água doce, os ciliados e as amebas testáceas, bem como identificar espécies potencialmente bioindicadoras de impactos causados por tais compostos tóxicos.

Espera-se, ainda, que os resultados dessas pesquisas sirvam de subsídios para mais um efetivo diagnóstico e monitoramento de recursos hídricos sujeitos ao impacto por agroquímicos. Adicionalmente, esperamos que os resultados obtidos sejam publicados na forma de pelo menos 02 trabalhos científicos, em revistas de elevado impacto (com base na lista de qualis da CAPES). Além disso, pretende-se divulgar os resultados na forma de apresentação de trabalhos em encontros científicos em âmbito nacional e internacional, como congressos e eventos de iniciação científica.

### REFERÊNCIAS

ADAMS, C. et al. Governança ambiental no Brasil: acelerando em direção aos objetivos de desenvolvimento sustentável ou olhando pelo retrovisor? **Cadernos Gestão Pública e Cidadania**, v. 25, n. 81, p. 1–13, 2020.

AZEVEDO, F. A.; CHASIN, A. A. DA M. **As bases toxicológicas da Ecotoxicologia**. São Carlos: Rima, 2003.



- BAKARY, T. et al. Evaluation of heavy metals and pesticides contents in market-gardening products sold in some principal markets of Ouagadougou (Burkina Faso). **Journal of Microbiology, Biotechnology and Food Sciences**, v. 8, n. 4, p. 1026–1034, 2019.
- CASALI-PEREIRA, M. P. et al. Toxicity of Vertimec® 18 EC (active ingredient abamectin) to the neotropical cladoceran *Ceriodaphnia silvestrii*. **Chemosphere**, v. 139, p. 558–564, 2015.
- DEFARGE, N.; VENDÔMOIS, J. S.; SÉRALINI, G. E. Toxicity of formulants and heavy metals in glyphosate-based herbicides and other pesticides. **Toxicology Reports**, v. 5, p. 156–163, 2018.
- DUKE, S. O.; POWLES, S. B. Glyphosate: a once-in-a-century herbicide. **Pest Management Science**, v. 64, n. 4, p. 319–325, abr. 2008.
- EGWU, O. C. et al. Risk Assessment of Heavy Metals Level in soil and Jute Leaves (*Corchorus olitorius*) Treated with Azadirachtin Neem seed Solution and Organochlorine Pesticides. **International Journal of Environment, Agriculture and Biotechnology**, v. 4, n. 3, p. 756–776, 2019.
- GOMES, M. A. F.; BARIZON, R. R. M. Panorama da contaminação ambiental por agrotóxicos e nitrato de origem agrícola no Brasil: cenário 1992/2011. Jaguariúna: **Embrapa Meio Ambiente**, 2014.
- MILAN, M. et al. Ecotoxicological effects of the herbicide glyphosate in non-target aquatic species: Transcriptional responses in the mussel *Mytilus galloprovincialis*. **Environmental Pollution**, v. 237, p. 442–451, jun. 2018.
- MOUTINHO, M. F. et al. Herbicides employed in sugarcane plantations have lethal and sublethal effects to larval *Boana pardalis* (Amphibia, Hylidae). **Ecotoxicology**, n. Fao 2018, 2020.
- RADHAKRISHNAN, R.; JAYAPRAKAS, V. Free living protozoans as bioindicators in Vembanad lake, Kerala, India, an important Ramsar site Ranju. **International Journal of Fisheries and Aquatic Studies**, v. 2, n. 3, p. 192–197, 2015.
- ROSENBERG, D. M.; RESH, V. H. **Freshwater biomonitoring and benthic macroinvertebrates**. New York: Chapman & Hall, 1993.
- TARAZONA, J. V. et al. Glyphosate toxicity and carcinogenicity: a review of the scientific basis of the European Union assessment and its differences with IARC. **Archives of Toxicology**, v. 91, n. 8, p. 2723–2743, 3 ago. 2017.
- TWINING, B. S.; FISHER, N. S. Trophic transfer of trace metals from protozoa to mesozooplankton. **Limnol. Oceanogr**, v. 49, n. 1, p. 28–39, 2004.
- VILAS-BOAS, J. A.; SENRA, M. V. X.; DIAS, R. J. P. Ciliates in ecotoxicological studies: A minireview. **Acta Limnologica Brasiliensia**, v. 32, 2020.