

A era digital e suas implicações sociais: Desafios e contribuições

AVALIAÇÃO DO EFEITO DA MATÉRIA ORGÂNICA HUMIFICADA NA TOXICIDADE DO 2,4-D PARA *Eisenia andrei*

Letícia Pacheco Ribeiro, Filipe Antônio da Silva, Daniel Macêdo de Assis,
Tatiana da Silva Souza.

Universidade Federal do Espírito Santo/Departamento de Biologia, Alegre-ES, Brasil,
leticiapachecobio@hotmail.com, leticia.p.ribeiro@edu.ufes.br.

Resumo

O herbicida 2,4-diclorofenoxiacético (2,4-D) é altamente tóxico e amplamente utilizado, causando transtornos ao ambiente e aos organismos vivos. Faz-se importante medidas atenuantes de seus efeitos tóxicos para organismos não-alvo. Entre as medidas existentes, pode-se citar o uso da matéria orgânica humificada (MO), que, devido à sua propriedade adsorviva, tem-se destacado no condicionamento de águas e solos contaminados por diversas substâncias. Autores argumentam que a adsorção diminui a biodisponibilidade e consequente toxicidade de contaminantes. Com o objetivo de avaliar o efeito da matéria orgânica na toxicidade do 2,4-D em minhocas, foram realizados testes de mortalidade e de fuga. Os tratamentos consistiram em diferentes proporções de húmus de minhoca e solo argiloso contaminados com 500 e 1000 mg i.a kg/solo de 2,4-D para o teste de mortalidade e 100 mg i.a kg/solo para o teste de fuga. A adição de matéria orgânica mostrou-se eficaz na redução da mortalidade e fuga dos indivíduos expostos ao agrotóxico, demonstrando sua capacidade de atenuar os efeitos adversos do herbicida.

Palavras-chave: Agrotóxico. Ecotoxicidade. Fauna edáfica. Biodisponibilidade. Adsorção.

Área do Conhecimento: Ciências Biológicas – Ecologia.

Introdução

O herbicida 2,4-D, um dos agrotóxicos mais utilizados globalmente, é reconhecido por sua alta toxicidade para organismos não-alvo (CORREIA; MOREIRA, 2010; MACEDO; FROEHNER; MACHADO, 2012). Medidas para reduzir sua presença no ambiente são cruciais. O solo, principal reservatório de agrotóxicos, passa por transformações químicas, e a matéria orgânica (MO) desempenha papel essencial nesse processo, sendo a fração do solo que confere a maior capacidade de troca catiônica (CTC) e capacidade de retenção de água dos solos (BRADY; WEIL, 2009; LUCHINI; PERES; ANDRÉA, 2000).

Quando em estágio avançado de decomposição, processo denominado de humificação, a MO é transformada em substâncias complexas, como os ácidos húmicos e ácidos fúlvicos, sendo o primeiro o mais relacionado com a CTC. Os ácidos húmicos representam a porção mais ativa da MO humificada, pois possuem cadeias carbônicas ramificadas extensas com alta presença de grupos funcionais, as quais permitem a interação com íons e moléculas presentes no meio, tornando-os menos disponíveis no ambiente (BRADY; WEIL, 2009).

Informações sobre os efeitos dos contaminantes no ambiente devem considerar sua toxicidade para invertebrados não-alvo, como minhocas, importantes membros da fauna do solo e frequentemente afetadas pelo uso de agrotóxicos (CORREIA; MOREIRA, 2010; OPIYO, 2003). Devido às suas características biológicas e comportamentais, são utilizadas em testes ecotoxicológicos, nos quais é possível a avaliação de diversos parâmetros, como a reprodução, mortalidade, fisiologia, morfologia e o comportamento (SPURGEON; WEEKS; VAN GESTEL, 2003).

O presente estudo objetivou avaliar o efeito da matéria orgânica humificada na toxicidade do 2,4-D em minhocas por meio dos testes de mortalidade e de fuga. Os resultados obtidos neste estudo contribuem para a compreensão do papel da matéria orgânica na toxicidade de agrotóxicos sobre a fauna edáfica.

A era digital e suas implicações sociais: Desafios e contribuições

Metodologia

Os substratos utilizados foram solo argiloso, obtido no “Horto Botânico Antônio Teles Zimerer”, na UFES, campus de Alegre, e húmus de minhoca, obtido por vermicompostagem em substrato à base de esterco bovino. O solo argiloso foi homogeneizado, seco naturalmente e peneirado. Foram realizadas análises físico-química para ambos os substratos (Tabela 2). A capacidade de retenção de água (CRA) dos solos foi calculada (ISO², 1993) e a umidade foi ajustada para 50% da CRA (ABNT, 2014).

O herbicida 2,4-diclorofenoxiacético (2,4-D) foi obtido comercialmente, cuja formulação continha 806 g/L (m/v) de sal de dimetilamina do ácido, 670g/L (m/v) de equivalente ácido de 2,4-D e 526,6 g/L (m/v) de outros componentes. A partir da diluição da formulação comercial em água destilada, as soluções-teste foram preparadas. Os cálculos de contaminação dos substratos foram realizados de acordo com Carniel e Segat (2018) e os resultados foram expressos em mg de i.a. kg⁻¹ de solo, considerando o equivalente ácido.

O preparo dos substratos para os testes de mortalidade e de fuga foi realizado de acordo com a Tabela 1. Para o teste de mortalidade foram utilizadas as concentrações de 500 e 1000 mg de i.a. kg⁻¹ de solo, por serem concentrações agrícolas altamente tóxicas recomendadas com o produto comercial (CORREIA; MOREIRA, 2010). Em relação ao ensaio de fuga, a concentração foi de 100 mg de i.a. kg⁻¹, pois apresentou alta porcentagem de fuga em testes prévios. Ambos os testes tiveram seus resultados expressos em porcentagem (Figura 1) e a comparação dos resultados foi realizada mediante o teste Exato de Fisher ($p \leq 0,05$).

Tabela 1 - Tratamentos estabelecidos para os ensaios.

Tratamento	% de solo	% de húmus	Concentração 2,4-D (mg i.a. kg ⁻¹)	
			Teste de Mortalidade	Teste de Fuga
Controle CNT1	100	0	0	0
Controle CNT2	0	100	0	0
T1	100	0	500 e 1000	100
T2	75	25	500 e 1000	100
T3	50	50	500 e 1000	100
T4	25	75	500 e 1000	100
T5	0	100	500 e 1000	100

Fonte: Autor (2023).

Exemplares adultos de *E. andrei* (Oligochaeta: Lumbricidae) com clitelo bem desenvolvido e pesando entre 300 e 600 mg (ISO¹, 1993) foram obtidos de cultura sincronizada mantida no Laboratório de Ecotoxicologia da UFES, onde as minhocas são mantidas em caixas plásticas (40 cm x 50 cm x 10 cm) contendo esterco bovino (80% de umidade) (SCHIEDECK *et al.*, 2019). Os ensaios foram realizados conforme as normas ABNT. NBR ISO-17512/2011 e ABNT. NBR ISO-11268/2012.

No teste de mortalidade, cada tratamento teve 4 réplicas, cada uma com 200 g de substrato e 10 animais. Os recipientes-teste foram tampados com tampas furadas. As minhocas foram expostas por 14 dias ao solo contaminado com as referidas concentrações de 2,4-D, com reposição semanal da umidade. Os recipientes foram acondicionados em BOD a 22°C e fotoperíodo 12 h claro/escuro (OECD, 1984). Passados 14 dias da contaminação dos solos, foi verificada a taxa de mortalidade das minhocas. Os organismos que não responderam ao toque mecânico foram considerados mortos.

Para o teste de fuga, foram realizadas 5 réplicas para cada tratamento e, em cada um deles, 10 minhocas foram adicionadas. Para o teste, foram necessários recipientes retangulares preenchidos com 500 g de substrato, sendo 250 g do solo controle em uma metade do recipiente-teste e 250 g de cada tratamento com contaminante na outra metade. O tratamento controle continha solo controle em ambos os compartimentos do recipiente. Para realizar a divisão, foi inserida uma partição transversal no meio de cada recipiente teste. Após a adição dos solos, a partição foi removida e as minhocas

A era digital e suas implicações sociais: Desafios e contribuições

foram adicionadas no centro, entre os dois substratos. As réplicas foram acondicionadas a 22°C em BOD com fotoperíodo noturno por 48 horas. No fim do teste foram contabilizadas as minhocas em cada substrato. Quanto aos indivíduos encontrados no meio da partição, foi considerado o solo no qual estava localizada a parte anterior do seu corpo, indicando a direção do seu movimento.

Resultados

Tabela 2 - Resultados das análises físico-químicas do solo argiloso e do húmus de minhoca.

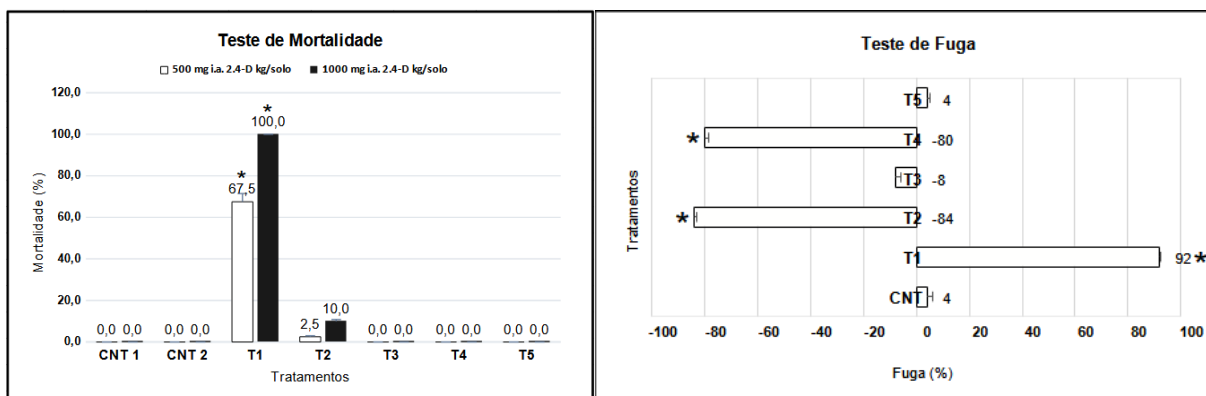
Substrato	pH	P	K	Na	Ca	Mg	Al	H + Al	SB	t	T	V	MO
	H ₂ O		mg/dm ³					cmolc/dm ³				%	g/kg
Solo argiloso	6,92	41,80	60,00	2,00	2,12	0,82	0,00	1,81	3,10	3,10	4,92	63,07	21,10
Húmus	7,2	1569,8	1283,1	0,00	7,34	12,40	0,00	0,60	25,0	24,78	23,41	98,03	141,2

Fonte: Adaptado de Laboratório de análises de solos "Raphael M. Bloise" (2023).

Nota: SB: Soma de bases trocáveis; t: capacidade de troca catiônica efetiva; T: Capacidade de troca catiônica a pH 7 (CTC); V: Índice de saturação em bases; pH: relação solo-água 1:2,5; P: extrator Mehlich-1 e determinação por colorimetria; K e Na: extrator Mehlich-1 e determinação por espectrofotometria de chama; Ca e Mg: extrator KCl 1 mol/L e determinação por espectrometria de absorção atômica; Al: extrator KCl 1 mol/L e determinação por titulometria; H + Al: extrator Acetato de Cálcio 0,5 mol/L pH 7,0 e determinação por titulometria; MO: oxidação de carbono via úmida com dicromato de potássio em meio ácido (H₂SO₄).

Figura 1 - Resultados do teste de mortalidade e de fuga.

*Médias diferem significativamente do controle ($p \leq 0,05$).



Fonte: Autor (2023).

O tratamento T1 foi o mais tóxico em ambos testes, além do único a apresentar mortalidade e fuga significativa ($p \leq 0,05$).

Os tratamentos T2 e T4 apresentaram preferência significativa ($p \leq 0,05$) ao solo contaminado em relação ao controle.

Discussão

A concentração de húmus apresentou uma relação inversamente proporcional à toxicidade do 2,4-D. Infere-se que, em T1, tratamento que teve maior taxa de mortalidade e de fuga, o 2,4-D estava menos biodisponível, ao considerar a menor CTC do solo argiloso em comparação ao húmus, conforme evidenciado nas análises físico-químicas. Conforme a mesma lógica, os tratamentos com húmus apresentaram, possivelmente, menor biodisponibilidade do 2,4-D em função da maior presença de colóides orgânicos.

As substâncias húmicas, coloidais ativos da matéria orgânica humificada, possuem alta massa molecular e diversos grupos funcionais com oxigênio, como ácidos carboxílicos, fenólicos e alifáticos (SCHNITZER; KHAN, 1983). Essa alta presença de radicais livres resulta em maior adsorção do solo, fazendo com que íons ou grupos funcionais de substâncias presentes no ambiente sejam

A era digital e suas implicações sociais: Desafios e contribuições

imobilizados e, conseqüentemente, tenham sua biodisponibilidade reduzida (BAILEY; WHITE, 1964; VAN GESTEL, 1992; SONG, 2010; SPADOTTO *et al.*, 2004). Estudos utilizando espectroscopia de fluorescência demonstraram a adsorção do 2,4-D pelas substâncias húmicas, e outras pesquisas também evidenciaram a relação proporcional entre adsorção e quantidade de matéria orgânica (SPARK; SWIFT, 1994; SPARK; SWIFT, 2002).

Minhocas são bioindicadoras eficientes de solos contaminados, devido ao seu contato direto com contaminantes presentes no meio ambiente por meio de sua pele altamente vascularizada e hábitos detritívoros (CASTELLANOS; HERNANDEZ, 2007). Possuem um mecanismo de proteção que lhes permite reconhecer locais contaminados, a partir de quimiorreceptores e tubérculos sensoriais no corpo, e evitá-los (REINECKE *et al.*, 2002). Dito isso, sugere-se que a preferência significativa pelo solo contaminado no T2 e T4 também seja explicada pela redução da biodisponibilidade do 2,4-D, fazendo com que as minhocas não reconhecessem, sensorialmente, o local como contaminado.

Diversos autores relacionaram a menor biodisponibilidade com menor toxicidade em outros contaminantes, reforçando a importância da matéria orgânica na mitigação dos efeitos tóxicos para organismos expostos (CHIOU; PETERS; FREED, 1979; ELLIS; HODSON; WEGE, 2007; KARICKHOFF *et al.*, 1979; PECK *et al.*, 1980; PRATA, 2002; VETROVA; KONOVALOV; GAVRILENKO, 2014; WILSON *et al.*, 1981;).

Conclusão

O estudo mostrou que a matéria orgânica humificada tem potencial para reduzir a ação tóxica do herbicida 2,4-D para as minhocas. O húmus possui propriedades adsorptivas que, ao interagir com o contaminante, pode diminuir sua biodisponibilidade, tornando-o menos prejudicial para a fauna edáfica. Contudo, são imprescindíveis análises mais detalhadas em nível celular, e que permitam a análise de efeitos subletais, proporcionando uma compreensão abrangente da influência da matéria orgânica na toxicidade do 2,4-D. Em suma, os resultados deste estudo contribuem para o conhecimento sobre a relação da matéria orgânica com a toxicidade de agrotóxicos e sua influência na fauna edáfica.

Referências

ABNT. NBR ISO-17512/2011: **Qualidade do solo – Ensaio de fuga para avaliar a qualidade de solos e efeitos de substâncias químicas no comportamento. Parte 1: Ensaio com minhocas (*Eisenia fetida* e *Eisenia andrei*)**. Rio de Janeiro (Brasil): 2011.

ABNT. NBR ISO 11268/2012: **Soil quality — Effects of pollutants on earthworms (*Eisenia fetida*) — Part 1: Determination of acute toxicity using artificial soil substrate**. 2012, 6 p.

ABNT. NBR 15537: **Ecotoxicologia terrestre - Toxicidade aguda - Método de ensaio com minhocas (*Lumbricidae*)**. 2014, 13 p.

BAILEY, G. W.; WHITE, J. L. Soil-pesticide relationships, adsorption and desorption of organic pesticides by soil colloids, with implications concerning pesticide bioactivity. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 12, n. 4, p. 324-332, 1964.

BRADY, N. C.; WEIL, R. R. **Elementos da natureza e propriedades dos solos**. Bookman Editora, 2009.

CARNIEL, L.; SEGAT J. Aplicação da substância teste: agrotóxicos e matrizes orgânicas. In: Oliveira Filho LCI, Segat JC, Baretta D, Klauberg Filho O (eds) **Ecotoxicologia terrestre – métodos e aplicações de ensaios com *Collembola* e *Isoptoda***. UDESC, p. 81–110, 2018.

CASTELLANOS, L. R.; HERNANDEZ, J. C. S. Earthworm biomarkers of pesticide contamination: current status and perspectives. **Journal Of Pesticide Science**, [S.L.], v. 32, n. 4, p. 360-371, 2007. Pesticide Science Society of Japan. <http://dx.doi.org/10.1584/jpestics.r07-14>.

A era digital e suas implicações sociais: Desafios e contribuições

CHIOU, C. T.; PETERS, L. J.; FREED, V. H. A physical concept of soil-water equilibria for nonionic organic compounds. **Science**, v. 206, n. 4420, p. 831-832, 1979. <http://dx.doi.org/10.1126/science.206.4420.831>.

CORREIA, F. V.; MOREIRA, J. C. Effects of Glyphosate and 2,4-D on Earthworms (*Eisenia foetida*) in Laboratory Tests. *Bulletin Of Environmental Contamination and Toxicology*, [S.L.], v. 85, n. 3, p. 264-268, 24 jul. 2010. **Springer Science and Business Media LLC**. <http://dx.doi.org/10.1007/s00128-010-0089-7>.

ELLIS, S. R.; HODSON, M. E.; WEGE, P. The influence of different artificial soil types on the acute toxicity of carbendazim to the earthworm *Eisenia fetida* in laboratory toxicity tests. **European Journal of Soil Biology**, v. 43, p. S239-S245, 2007.

ISO¹. International Organization for standardization. **ISO 11268-1: soil quality: effects of pollutants on earthworms (*Eisenia fetida*)**. Part 1: determination of acute toxicity using soil substrate. Geneve, 1993.

ISO². International Organization for Standardization. **ISO 11465:1993 Qualidade do solo — Determinação da matéria seca e do teor de água em base de massa — Método gravimétrico**. Rio de Janeiro, 1993.

KARICKHOFF, S. W.; BROWN, D. S.; SCOTT, T. A. Sorption of hydrophobic pollutants on natural sediments. **Water research**, v. 13, n. 3, p. 241-248, 1979. [https://doi.org/10.1016/0043-1354\(79\)90201-X](https://doi.org/10.1016/0043-1354(79)90201-X).

LUCHINI, L. C.; PERES, T. B.; ANDRÉA, M. M. de. Monitoring of pesticide residues in a cotton crop soil. **Journal Of Environmental Science and Health**, Part B, [S.L.], v. 35, n. 1, p. 51-59, jan. 2000. Informa UK Limited. <http://dx.doi.org/10.1080/03601230009373253>.

MACEDO, D.; FROEHNER, S.; MACHADO, K. S. Avaliação do transporte do ácido 2,4-diclorofenoxiacético através de um lisímetro. **Química Nova**, [S.L.], v. 35, n. 9, p. 1809-1813, 2012. FapUNIFESP (SciELO). <http://dx.doi.org/10.1590/s0100-40422012000900020>.

OECD (1984) Guideline for testing of chemicals no. 207. Earthworm, acute toxicity test. Adopted April 4, 1984 OPIYO, P. **Guidelines for registration of biopesticides**. In: WABULE, M.N.; NGARUIYA, P.N.;

OPIYO, P. Guidelines for registration of biopesticides. In: WABULE, M.N.; NGARUIYA, P.N.; KIMMINS, F.K.; SILVERSIDE, P.J. (Eds.). Z. Aylesford, UK: **Natural Resources International Ltd**. 2003. p. 87-97.

PECK, D. E.; CORWIN, D. L.; FARMER, W. J. Adsorption-desorption of diuron by freshwater sediments. **American Society of Agronomy, Crop Science Society of America, and Soil Science Society of America**, 1980. <https://doi.org/10.2134/jeq1980.00472425000900010023x>

PRATA, F. **Comportamento do glifosato no solo e deslocamento miscível de atrazina**. 2002. 161 f. Tese (Doutorado em Solo e Nutrição de Plantas) - Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz. Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2002. Disponível em: <https://www.teses.usp.br/teses/disponiveis/11/11140/tde-05022003-111013/publico/fabio.pdf>. Acesso em: 20 jun. 2021.

REINECKE, S. A.; HELLING, B.; REINECKE, A. J. Lysosomal response of earthworm (*Eisenia fetida*) coelomocytes to the fungicide copper oxychloride and relation to life-cycle parameters. **Environmental Toxicology and Chemistry: An International Journal**, v. 21, n. 5, p. 1026-1031, 2002.

A era digital e suas implicações sociais: Desafios e contribuições

SCHIEDECK, G.; PASINI, A.; ALVES, P. R. L.; NIVA, C. C.; CANTELLI, K.; BUCH, A. C.; BROWN, G. G.; MARTIN, J. D. **Criação e manutenção dos organismos**. 2019.

SCHNITZER, M. Organic matter characterization. **Methods of Soil Analysis: Part 2 Chemical and Microbiological Properties**, v. 9, p. 581-594, 1983.

SONG, N. H.; ZHANG, S.; HONG, M.; YANG, H. Impact of dissolved organic matter on bioavailability of chlorotoluron to wheat. **Environmental Pollution**, [S.L.], v. 158, n. 3, p. 906-912, mar. 2010. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.envpol.2009.09.019>.

SPADOTTO, C. A.; GOMES, M. A. F.; LUCHINI, L. C.; ANDRÉA, M. M. **Monitoramento do risco ambiental de agrotóxicos: princípios e recomendações**. 2004.

SPARK, K. M.; SWIFT, R. S. Investigation of the interaction between pesticides and humic substances using fluorescence spectroscopy. **Science of the total environment**, v. 152, n. 1, p. 9-17, 1994.

SPARK, K. M.; SWIFT, R. S. Effect of soil composition and dissolved organic matter on pesticide sorption. **Science of the Total Environment**, v. 298, n. 1-3, p. 147-161, 2002.

SPURGEON, D. J.; WEEKS, J. M.; VAN GESTEL, C. A. M. A summary of eleven years progress in earthworm ecotoxicology. *Pedobiologia*, [S.L.], v. 47, n. 5-6, p. 588-606, jan. 2003. Elsevier BV. <https://doi.org/10.1078/0031-4056-00234>.

VAN GESTEL, C. A. M. The influence of soil characteristics on the toxicity of chemicals for earthworms: a review. **Ecotoxicology of earthworms**, v. 8, p. 44-54, 1992.

VETROVA, O. V.; KONOVALOV, K. B. GAVRILENKO, M. A. Application of humic sorbents for Pb²⁺, Cu²⁺ and Hg²⁺ ions preconcentration from aqueous solutions. **Procedia Chemistry**, v. 10, p. 120-126, 2014. <https://doi.org/10.1016/j.proche.2014.10.022>.

WILSON, J. T.; ENFIELD, C. G.; DUNLAP, W. J.; CORBY, R. L.; FOSTER, D. A.; BASKIN, L. B. Transport and Fate of Selected Organic Pollutants in a Sandy Soil. **Journal Of Environmental Quality**, [S.L.], v. 10, n. 4, p. 501-506, out. 1981. Wiley. <http://dx.doi.org/10.2134/jeq1981.00472425001000040016x.a>

Agradecimentos

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), pelo apoio financeiro à pesquisa científica do Subprojeto.