

EXPOSIÇÃO DE *Rhinocricus padbergi* (DIPLOPODA) À SERRAPILHEIRA CONTAMINADA POR ATRAZINA E GLIFOSATO

Francisco Almança Trujillo, Viviane Tavares de Paula, Tatiana da Silva Souza.

Universidade Federal do Espírito Santo/Centro de Ciências Exatas, Naturais e da Saúde, Bairro Alto Universitário – 29.500-000 – Alegre/ES, Brasil, francisco454748@gmail.com, vivianedepaula.bio@gmail.com, tatianas.souza@hotmail.com

Resumo

A serrapilheira é uma importante fonte de alimento para a fauna edáfica e desempenha papel essencial na ciclagem de nutrientes, mas a contaminação por herbicidas pode comprometer esses processos. Este estudo avaliou os efeitos da exposição de diplópodos (*Rhinocricus padbergi*) a folhas de serrapilheira contaminadas com atrazina ou glifosato, nas concentrações de 0,5; 1; 2 e 4 mg/kg. Foram analisados mortalidade, crescimento, consumo, produção de fezes, assimilação e eficiência de assimilação. A atrazina provocou mortalidade nas concentrações de 1 e 4 mg/kg, além de inibir o crescimento em todas as doses e reduzir o consumo em algumas delas. O glifosato causou mortalidade apenas em 4 mg/kg e reduziu o crescimento a partir de 1 mg/kg, sem afetar os demais parâmetros. Os resultados indicam que a atrazina apresenta maior toxicidade que o glifosato, com impacto direto sobre a sobrevivência, crescimento e consumo alimentar, podendo alterar a dinâmica da serrapilheira e a ciclagem de nutrientes no solo.

Palavras-chave: Ecotoxicologia. Mortalidade. Crescimento. Consumo. Assimilação.

Área do Conhecimento: Ciências Biológicas - Biologia Geral

Introdução

Os agrotóxicos são utilizados para controlar o aparecimento de espécies - microrganismos, animais e vegetais – indesejadas. Porém, esses agentes químicos não têm ação exclusiva sobre os organismos-alvo, mas também sobre outros organismos eventualmente expostos (Ambrósio, 2012). O glifosato e atrazina são ambos herbicidas que atuam no controle de ervas daninhas que surgem fazendo competitividade com as culturas plantadas. A depender da cultura, como o milho por exemplo, a mistura de glifosato mais atrazina proporciona para o agricultor um melhor custo/benefício no controle das ervas daninhas, diminuindo a seleção de resistência da espécie alvo a um dos agrotóxicos (Soltani et al., 2010). Os agrotóxicos acabam indo para o solo onde se encontra a serrapilheira, que é o material vegetal presente no solo, e podendo afetar espécies não-alvo. Dessa forma, bioensaios são importantes para prever o real impacto dos agrotóxicos sobre a biota. Diplópodos, também conhecidos como milípedes, são invertebrados terrestres que desempenham importantes funções ecológicas, sendo expostos continuamente a contaminantes presentes no solo (Souza et al., 2014).

Os diplópodos podem responder prontamente a mudanças nas condições ambientais resultantes de distúrbios antropogênicos (Souza et al., 2014). Desse modo, são utilizados como organismos-testes em ensaios ecotoxicológicos, tendo um bom aproveitamento como indicador terrestre (Kozak et al., 2020). A interação com xenobióticos pode ocorrer por meio da ingestão de alimento contaminado (serrapilheira contaminada). Para lidar com esses xenobióticos ingeridos, os diplópodos podem manejar seu consumo de alimentos o que resulta em uma mudança na produção de biomassa e fezes (Hopkin et al., 1985; Zhulidov e Dubova 1988; Hopkins e Read, 1992; Köhler et al., 1992; Brygadyrenko e Ivanyshyn, 2015). Além do mais, estas espécies usam de mecanismos de detoxificação, que é um processo natural do organismo para reduzir impactos negativos.

Este trabalho teve como objetivo geral analisar o potencial tóxico do glifosato e atrazina isolados em diplópodos. O objetivo específico foi analisar se os agrotóxicos afetam a ingestão de alimento (material vegetal) por meio das análises da biomassa corpórea, da taxa de consumo, assimilação e eficiência de assimilação e produção de fezes.

Metodologia

Exemplares de *Rhinocricus padbergi* foram coletados manualmente na Área Experimental do Centro de Ciências Agrárias e Engenharias (CCAEE) da Universidade Federal do Espírito Santo, sendo selecionados animais com comprimento entre 3 e 5 centímetros para o experimento. Os diplópodos foram acondicionados em caixas plásticas contendo solo e serrapilheira oriundos da área de captura e aclimatados no Laboratório de Morfologia Animal da UFES por um período de 14 dias. Vinte e quatro horas antes do início do experimento, os animais foram medidos e pesados, sendo posteriormente realocados em potes plásticos forrados com papel filtro umedecido por 24 horas para limpeza do tubo digestório.

Foram utilizadas duas formulações comerciais de herbicidas: (1) Herbitrin 500 BR, da empresa Adama, contendo 500 g/L (50,0% m/v) de atrazina (6-cloro-N₂-etil-N₄-isopropil-1,3,5-triazina-2,4-diamina) e 598,80 g/L (59,8% m/v) de outros ingredientes; e (2) Sumo, da empresa Pilarquim, contendo 480 g/L (48% m/v) de sal de di-amônio de N-(fosfonometil)glicina, 360 g/L (36% m/v) de equivalente ácido de N-(fosfonometil)glicina e 690 g/L (69% m/v) de outros ingredientes. Os herbicidas foram testados individualmente nas concentrações de 0,5; 1; 2 e 4 mg de ingrediente ativo por quilograma de serrapilheira.

A serrapilheira foi coletada na mesma área de captura dos diplópodos, disposta sob bandejas e seca à temperatura ambiente. Em seguida, foram separadas três amostras contendo 3 g de folhas, acondicionadas em sacos de papel e levadas à estufa a 60 °C por 24 horas para determinação da massa seca, seguindo metodologias descritas por Bianchi e Correa (2007), Hoeffner et al. (2018) e Antunes et al. (2019). A capacidade de retenção de água (CRA) foi determinada a partir da diferença entre o peso úmido das folhas, após imersão em água por 24 horas, e o peso seco obtido após secagem em estufa, sendo o valor ajustado para 60%, conforme Bugini et al. (2020).

O bioensaio foi conduzido com base nos métodos descritos por Hoeffner et al. (2018) e Kozak et al. (2020), com adaptações. As unidades experimentais consistiram em recipientes plásticos de 500 ml, nos quais foram colocadas 3 g de folhas secas à temperatura ambiente, umedecidas com 7,6 ml das soluções de herbicidas preparadas conforme a CRA. Em cada unidade experimental foi alocado um animal, e foram preparadas 10 réplicas por tratamento. A umidade das folhas foi ajustada a cada três dias.

A taxa de mortalidade dos diplópodos foi monitorada ao longo de 14 dias, considerando-se mortos os indivíduos que não respondiam ao toque mecânico. Após esse período, todos os animais sobreviventes foram retirados, pesados novamente e submetidos à avaliação da interferência dos agrotóxicos na atividade alimentar. O material vegetal restante foi recolhido, seco a 60 °C por 24 horas e pesado, assim como as fezes produzidas. Para a análise dos efeitos dos herbicidas na biomassa corpórea, na produção de fezes, no consumo de material vegetal, na assimilação e na eficiência de assimilação, foram considerados os dados de quatro animais por tratamento de acordo com Ashwini e Sridhar (2005) e Tourinho et al. (2016).

A normalidade dos dados e a homogeneidade das variâncias foram verificadas pelos testes de Shapiro-Wilk e Levene, respectivamente. Quando os pressupostos para a utilização de testes paramétricos foram atendidos, os dados foram analisados por ANOVA de sentido único, seguida pelo teste de Dunnett ($p < 0,05$). Nos casos em que os pressupostos não foram atendidos, aplicou-se o teste de Kruskal-Wallis seguido pelo teste de Dunn ($p < 0,05$).

Resultados

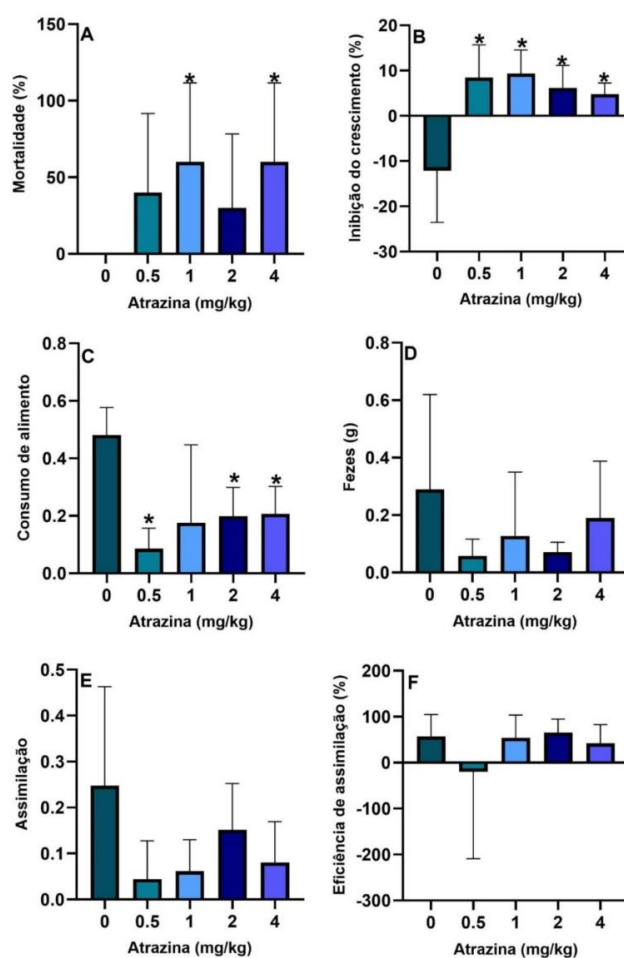
Os resultados obtidos para a atrazina são apresentados na Figura 1. Duas concentrações desse herbicida causaram a morte significativa dos diplópodos em relação ao controle, a concentração de 1,0 mg/kg e de 4,0 mg/kg (Figura 1A). Todas as concentrações inibiram o crescimento dos diplópodos em relação ao controle (Figura 1B). Os diplópodos expostos a atrazina à 0,5, 2 e 4 mg/kg consumiram menor quantidade de alimento do que os diplópodos do grupo controle (Figura 1C). Contudo, não houve diferença estatística significativa entre os diplópodos expostos à atrazina e os animais do grupo controle quanto a produção de fezes (Figura 1D), taxa de assimilação (Figura 1E) e eficiência de assimilação (Figura 1F).

Já os resultados para o glifosato mostraram mortalidade significativa apenas na maior concentração

A Ciência do NANO e seu impacto transformador no MACRO

(Figura 2A). As concentrações de 1,0, 2,0 e 4,0 mg/kg inibiram o crescimento dos diplópodos em relação ao controle (Figura 2B). Não foi verificada significância estatística para o consumo de alimentos (Figura 2C) e produção de fezes (Figura 2D) dos diplópodos expostos as concentrações do glifosato em relação ao controle. Também não houve significância na assimilação (Figura 2E) e eficiência de assimilação (Figura 2F) em relação ao controle.

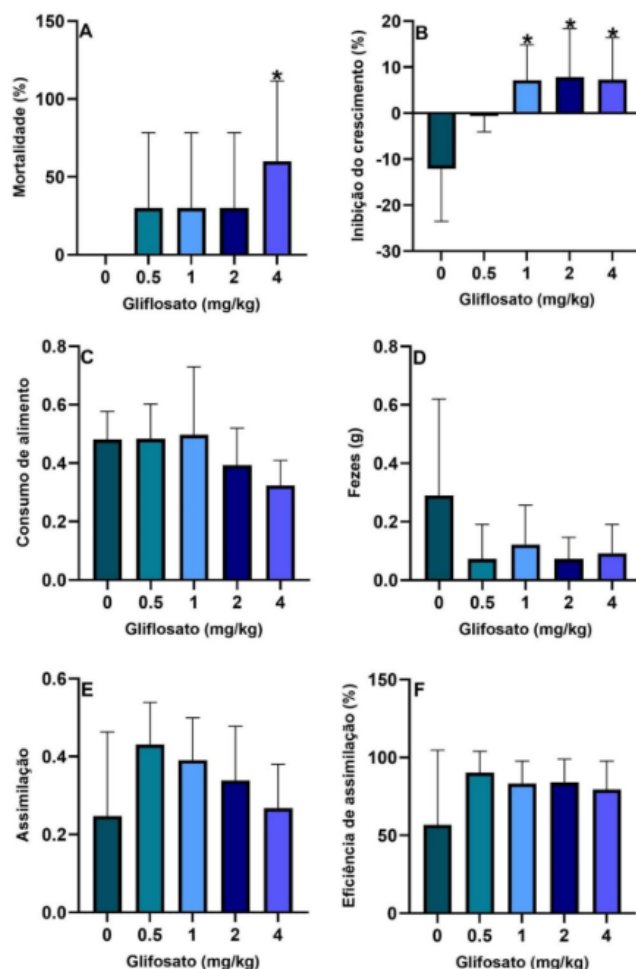
Figura 1 – Efeitos do herbicida atrazina na mortalidade (A) de *R. padbergi* bem como na biomassa corpórea (B), no consumo de alimento (C), na produção de fezes (D), na assimilação (E) e na eficiência de assimilação de alimento (F). *Denota significância estatística em relação ao controle ($p < 0,05$).



Fonte: Autor (2025)

Figura 2 – Efeitos do herbicida atrazina na mortalidade (A) de *R. padbergi* bem como na biomassa corpórea (B), no consumo de alimento (C), na produção de fezes (D), na assimilação (E) e na eficiência de assimilação de alimento (F). *Denota significância estatística em relação ao controle ($p < 0,05$)

A Ciência do NANO e seu impacto transformador no MACRO



Fonte: Autor (2025)

Discussão

Para lidar com xenobióticos presentes no ambiente, os diplópodos podem manejar o consumo de alimentos e as taxas de assimilação (diminuindo ou aumentando), resultando em mudanças na produção de biomassa e fezes (Hopkin et al., 1985; Zhulidov e Dubova, 1988; Hopkins e Read, 1992; Köhler et al., 1992; Brygadyrenko e Ivanyshyn, 2015).

Nesse trabalho, os efeitos da exposição de diplópodos (*Rhinocricus padbergi*) a folhas da serrapilheira contaminada com atrazina ou glifosato foram investigados. Foram analisados os parâmetros de mortalidade, crescimento, consumo alimentar, produção de fezes, taxa de assimilação e eficiência de assimilação.

A inibição do crescimento para os animais do grupo controle foi negativa, significando aumento de biomassa durante o experimento (Shi et al., 2007), ao contrário para o reportado para os animais expostos a ambos os herbicidas. A diminuição do consumo de alimento contaminado é uma das estratégias de sobrevivência de diplópodos (Souza et al., 2014), o que pode explicar a perda de peso dos diplópodos expostos à atrazina. Para o glifosato, os resultados são particularmente interessantes, pois indicam que a inibição do crescimento não resultou da diminuição do consumo de alimento. Ainda, não houve alteração dos demais parâmetros após a exposição aos dois herbicidas.

A Ciência do NANO e seu impacto transformador no MACRO

Uma possível explicação para os resultados obtidos é o elevado gasto energético necessário para a manutenção do metabolismo dos organismos expostos. Embora os nutrientes ingeridos tenham sido absorvidos com eficiência semelhante à dos organismos controle, a menor ingestão total e a redistribuição do uso energético podem ter comprometido o acúmulo de massa corporal (Köhler et al. 1992). Tal cenário é compatível com um estado de estresse fisiológico, no qual os nutrientes disponíveis são priorizados para funções vitais, como detoxificação, manutenção homeostática ou resposta celular ao dano, em vez de serem direcionados para crescimento e armazenamento. Assim, os dados reforçam a hipótese de interferência sistêmica no metabolismo energético, mesmo sem comprometimento direto dos processos digestivos ou absorptivos. Em resumo, a redução de peso observada decorre da percepção dos contaminantes, redução do consumo e/ou esforço metabólico dos organismos para processar o alimento contaminado, o que resulta em um alto consumo de energia.

De forma similar, Kozak et al. (2020) também avaliaram os efeitos de diferentes pesticidas, incluindo herbicidas, inseticidas e fungicidas, sobre *Rossius kessleri*, demonstrando que alterações no consumo de alimento, na produção de fezes e na variação de massa corporal podem ocorrer mesmo na ausência de mortalidade. Os autores observaram, por exemplo, que a serrapilheira tratada com glifosato (2.8×10^{-10} a 2.8×10^{-1} mg/g de serrapilheira) foi ingerida em maior quantidade, mas não efetivamente digerida, resultando em aumento da excreção de fezes sem ganho de biomassa. Em contrapartida, inseticidas organofosforados e misturas contendo piretroides levaram a altas taxas de mortalidade, enquanto diversos fungicidas reduziram o consumo e a produção de fezes, evidenciando impactos subletais sobre o metabolismo digestivo. Esses achados reforçam que biomarcadores relacionados à ingestão, digestibilidade e trânsito intestinal são sensíveis para diplópodos e permitem identificar efeitos precoces de toxicidade, os quais podem preceder respostas mais drásticas como perda de biomassa ou morte.

Conclusão

Os resultados obtidos indicam que a atrazina apresentou efeitos mais pronunciados sobre *Rhinocricus padbergi*, causando mortalidade significativa em concentrações de 1,0 e 4,0 mg/kg, além de inibir o crescimento e reduzir o consumo alimentar. O glifosato, por sua vez, provocou mortalidade significativa apenas na maior concentração, mas também inibiu o crescimento em concentrações intermediárias e altas, mesmo sem alterar significativamente o consumo e a assimilação de alimento, sugerindo um possível aumento no gasto energético para manutenção metabólica. Esses achados reforçam que ambos os herbicidas, isoladamente, podem impactar negativamente a fisiologia e o comportamento alimentar de diplópodos, sendo necessários estudos complementares para elucidar os mecanismos envolvidos.

Referências

- AMBRÓSIO, J. B. Avaliação dos efeitos citotóxicos, genotóxicos e mutagênicos de 2 classes de agrotóxicos utilizados em cultura de cana-de-açúcar no estado de São Paulo-Brasil. 2012. Tese (Doutorado em Ciências Biológicas – Biologia Celular e Molecular) – Universidade Estadual Paulista, **Rio Claro**, 2012.
- BRYGADYRENKO, V.; IVANYSHYN, V. Changes in the body mass of *Megaphyllum kievense* (Diplopoda, Julidae) and in the particle size composition of litter subjected to different concentrations of copper. **Journal of Forest Science**, v. 61, n. 9, p. 369-376, 2015. DOI: 10.17221/36/2015-JFS.
- HOPKIN, S. P.; READ, H. J. *The biology of millipedes*. Oxford: Oxford University Press, 1992.
- HOPKIN, S. P.; WATSON, K.; MARTIN, M. H. The assimilation of heavy metals by *Lithobius variegatus* and *Glomeris marginata* (Chilopoda; Diplopoda). **Bijdragen tot de Dierkunde**, v. 55, p. 88-94, 1985.

A Ciência do **NANO** e seu impacto transformador no **MACRO**

KOHLER, H. R.; STORCH, V.; ALBERTI, G. The impact of lead on the assimilation efficiency of Diplopoda (Arthropoda) maintained in the laboratory preconditioned in different environmental situations. **Ecology**, v. 90, p. 113-119, 1992.

KOZAK, V. M.; BRYGADYRENKO, V. V.; ROMANENKO, E. R. Influence of herbicides, insecticides and fungicides on food intake and body weight of *Rossiulus kessleri* (Diplopoda, Julidae). **Diversity of Biosystems**, v. 28, n. 3, p. 272-280, 2020.

SHI, Y. et al. Comparative effects of lindane and deltamethrin on mortality, growth, and cellulase activity in earthworms (*Eisenia fetida*). **Pesticide Biochemistry and Physiology**, v. 89, n. 1, p. 31-38, 2007.

SOLTANI, N. et al. Weed control, environmental impact, and profitability with tank mixtures of glyphosate in glyphosate-tolerant corn. **Canadian Journal of Plant Science**, v. 90, n. 1, p. 125-132, 2010.

SOUZA, T. S.; BARETTA, D.; BROWN, G. G.; KLAUBERG FILHO, O. The use of diplopods in soil ecotoxicology – A review. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 103, p. 68-73, 2014.

ZHULIDOV, A. V.; DUBOVA, L. Accumulation of mercury and cadmium by *Rossiulus kessleri* (Diplopoda) at various levels of metals in food. **Ecology (Sverdlovsk)**, v. 86-88, p. 143-147, 1988.

Agradecimentos

Ao Programa Institucional de Bolsas de Iniciação Científica da Universidade Federal do Espírito Santo (PIBIC/UFES) pela bolsa concedida. À Fundação de Amparo à Pesquisa e Inovação do Espírito Santo- FAPES pelo apoio financeiro.