

Mutagenicidade da Flumioxazina, S-metolaclo-ro e da sua mistura (Apresa®) em *Eisenia fetida*.

Matheus dos Santos Lima, Mestrando, RENAC - UEG/CET, mtslima011@gmail.com

Susy Ricardo Lemes Pontes, Doutora, Centro Universitário Goyazes, susynzr@gmail.com

Myllena Tolentino Firmino, Doutoranda, RENAC - UEG/CET, myllenatolentino@gmail.com

Junilson Augusto de Paula Silva, Doutorando, RENAC - UEG/CET, junilsomaugusto@gmail.com

Marcelino Benvindo de Souza, Doutorando, RENAC - UEG/CET, marcelinobenvindo@gmail.com

Luciane Madureira Almeida, Doutora, RENAC - UEG/CET, luciane.almeida@ueg.br

Resumo: O uso intensivo de herbicidas na agricultura gera preocupações quanto aos seus impactos sobre organismos não-alvo e à integridade dos ecossistemas terrestres. Entre os herbicidas frequentemente usados nas culturas brasileiras estão flumioxazina e o S-metolaclo-ro. Agricultores costumam combinar estes dois herbicidas, contudo não há estudos do impacto ambiental desta mistura. O presente estudo avaliou a mutagenicidade isolada e combinada desses herbicidas no organismo-teste *Eisenia fetida*. Os indivíduos foram expostos, por períodos de 7 e 14 dias, a diferentes concentrações de S-metolaclo-ro (3,2; 6,4 e 12,8 mg/L), flumioxazina (0,25; 0,5 e 1,0 mg/L) e da formulação comercial que os associa, Apresa® (3,45; 6,9 e 13,8 mg/L). Após a exposição, os celomócitos foram extraídos, e as lâminas foram preparadas e coradas utilizando-se o kit panóptico. Através do teste de micronúcleo, detectou-se mutagenicidade em todas as doses e períodos, evidenciando riscos ambientais mesmo em exposições agudas e sub-crônicas e concentrações recomendadas.

Palavras-chave: Anelídeos; Toxicidade; Herbicidas; Apresa®; Cerrado.

INTRODUÇÃO

Diariamente, milhares de metros cúbicos de pesticidas são aplicados nos solos do Cerrado brasileiro, impulsionados por sua reconhecida eficácia e relação custo-benefício no controle de pragas (DAMALAS et al., 2011). No entanto, apenas uma fração desses compostos atinge efetivamente os organismos-alvo, enquanto o restante dispersa-se no ambiente, contaminando o ar, o solo e os recursos hídricos, com potenciais efeitos deletérios aos ecossistemas (NAWAZ et al., 2011). A elevada complexidade molecular dos agrotóxicos amplia os riscos bióticos, incluindo toxicidade e bioacumulação ao longo das cadeias alimentares (STOPPELLI, 2005).

A crescente diversidade e resistência das pragas agrícolas tem estimulado o uso de misturas de pesticidas, prática que intensifica os efeitos ecotoxicológicos (OLIVEIRA; CONSTANTIN; INOUE, 2011). Em 2015, 97% dos agricultores brasileiros já utilizavam de duas a cinco substâncias simultaneamente (AGOSTINETTO, 2015), tendência reforçada pela introdução de formulações comerciais compostas, como o herbicida Apresa® — combinação de flumioxazina e S-metolaclo-ro — autorizado para uso em 2023.

Na avaliação dos impactos ambientais no contexto da ecotoxicologia terrestre, destacam-se os organismos bioindicadores, sendo *Eisenia fetida* uma das espécies mais amplamente utilizadas. Esses anelídeos exercem papel fundamental na manutenção da fertilidade dos solos, contribuindo significativamente para a saúde e o equilíbrio dos ecossistemas edáficos (MERCEDEZ DE ANDRÉA, 2010). Além disso, apresentam notável sensibilidade a agentes contaminantes, elevada capacidade de adaptação a diferentes condições ambientais e facilidade de manejo em ambientes laboratoriais, características que os tornam modelos experimentais ideais para estudos ecotoxicológicos (LABRE, 2008). Diante disso, o presente estudo tem como objetivo investigar os efeitos mutagênicos dos herbicidas S-metolaclo-ro, flumioxazina e de sua formulação comercial combinada, por meio do teste de micronúcleo em *Eisenia fetida*, visando avaliar os potenciais riscos genotóxicos dessas substâncias a organismos não-alvo no solo.

MATERIAIS E MÉTODOS

O estudo utilizou um Latossolo Ácrico Vermelho do Cerrado, preparado conforme protocolo da OECD (1984). Minhocas adultas de *Eisenia fetida* (com clitelo visível) foram aclimatadas a 26°C e fotoperíodo de 12h por 24 horas. Após lavagem e eliminação de resíduos intestinais, 400 indivíduos foram distribuídos em grupos experimentais (10 minhocas por triplicata) expostos ao herbicida Apresa® (84% S-metolacoloro, 4,2% Flumioxazina) e seus compostos comerciais (Dual Gold e Flumyzin 500 SC respectivamente). As concentrações testadas para os ativos isolados foram metade da dose (MD=113,4 µL), campo (DC=226,8 µL) e dobro (DD=453,6 µL), enquanto para o Apresa® foram MD=170,1 µL, DC=340,2 µL e DD=680,4 µL para 250g de solo.

Após 7 e 14 dias de exposição, celomócitos foram coletados dos indivíduos de forma não invasiva, tratados com tampão de extrusão (etanol 5%, NaCl 95%, EDTA 2,5 mg/L) e centrifugados a 8.000 rpm por 3 min. Para avaliar mutagenicidade foi utilizado o ensaio de micronúcleo. Após a obtenção dos celomócitos, aproximadamente 10 µL, foram colocados em lâminas (duas por minhoca) para realização do teste de micronúcleo (SILVA et al., 2023). Após secagem natural, as lâminas foram fixadas com metanol absoluto por 10 minutos e coradas com Kit Panótico Rápido. Um total de 1.000 células foram analisadas por réplica (500 por lâmina) sob microscópio óptico com ampliação de 100x por um único observador. O teste para dados não paramétricos de Kruskal-Wallis seguido do pós-teste de Dunn, bem como ANOVA seguido por seguido de Tukey para dados paramétricos foi executado dependendo da homogeneidade e distribuição dos dados. Todas as análises foram realizadas no software Statistica 7, com nível de significância de $p < 0,05$.

RESULTADOS

Para avaliar mutagenicidade foi avaliado isoladamente cada herbicida e a mistura (Apresa®) para o teste de micronúcleo (Fig. 1 A-C). Uma diferença foi observada na metade da dose para todas as concentrações de Flumioxazina em 7 dias de exposição em relação ao controle (Fig. 1 A). Já em 14 dias houve diferença somente na dose de campo (Fig. 1 A). O mesmo para S-Metolacoloro também em 7 dias houve diferença para todas as concentrações em relação ao controle (Fig. 1 B). Enquanto, em 14 dias ocorreu diferença apenas nas concentrações de metade e dose de campo (Fig. 1 B). Finalmente, na avaliação do Apresa® foi detectado diferença entre todas concentrações do herbicida em 7 dias (Fig. 1 C), enquanto em 14 dias houve diferença somente na metade e dobro da dose em comparação ao controle (Fig. 1 C).

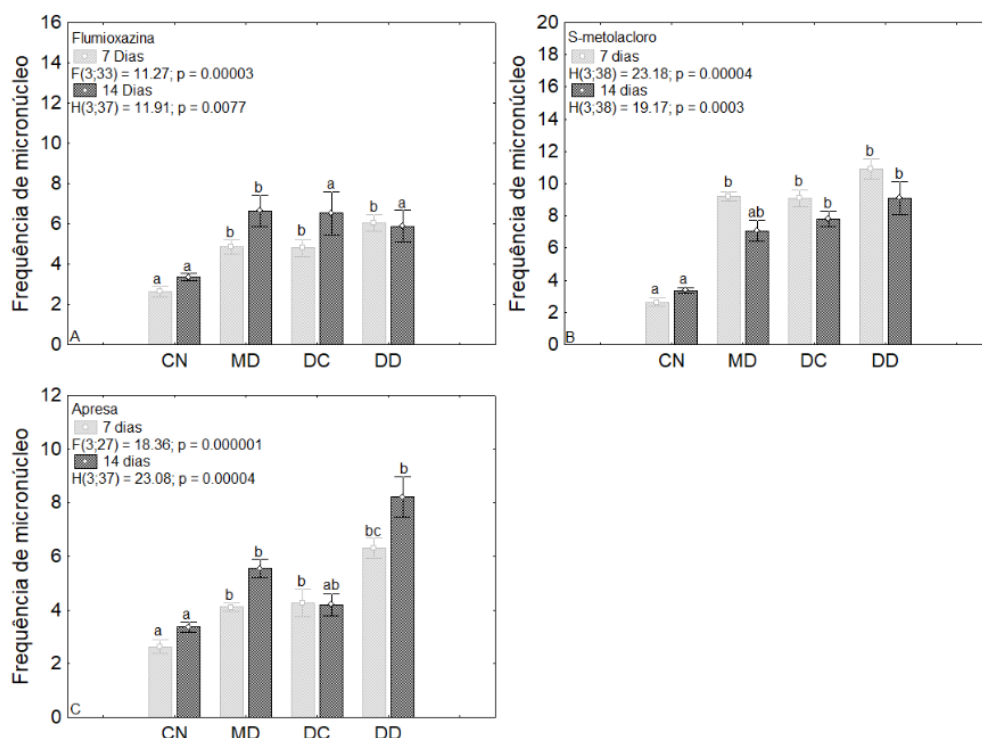


Fig. 1 Frequência de dano mutagênico (micronúcleo) em anelídeos de *Eisenia fetida* expostos aos herbicidas Flumioxazina S-metolaclo e sua mistura Apresa®. CN) controle negativo (Água destilada - 60 mL). Para Flumioxazina e S-metolaclo foram utilizadas as mesmas concentrações, sendo elas: Metade da dose (MD) - 113,4 uL; Dose de campo (DC) - 226,8 uL; Dobro da dose (DD) - 453,6 uL. Para Apresa®: MD - 170,1 uL; DC - 340,2 uL e DD - 680,4 uL. Ausência de diferença quando há letras semelhantes. ANOVA seguido de Tukey, $p < 0,05$.

DISCUSSÃO

Este estudo avaliou a mutagenicidade dos herbicidas S-metolacolor, flumioxazina e a sua mistura comercial Apresa®, em concentrações ambientalmente relevantes, utilizando o teste de micronúcleo em *Eisenia fetida*. Reconhecido por sua sensibilidade e aplicabilidade em diversas áreas da genética toxicológica, o teste de micronúcleo é uma ferramenta eficaz para detectar danos cromossômicos causados por agentes mutagênicos (SAMANTA; DEY, 2012; SOMMER; BURACZEWSKA; KRUSZEWSKI, 2020).

Os resultados evidenciaram um padrão de toxicidade dose-resposta para os herbicidas S-metolaclo e Apresa®, com aumento na frequência de micronúcleos à medida que as concentrações aumentaram. Além disso, observou-se que *Eisenia fetida* apresentou sensibilidade tanto às exposições agudas (7 dias) quanto às subcrônicas (14 dias), reforçando sua eficácia como bioindicador em estudos ecotoxicológicos. Testes realizados com *Allium cepa*, outra espécie indicadora, mostraram que a flumioxazina não causou efeito mutagênico nas doses de campo recomendadas pelo fabricante (Parvan et al. 2020).

Importante destacar que, mesmo em concentrações equivalentes às recomendadas em campo, os herbicidas na exposição aguda (7 dias) induziram efeitos mutagênicos, revelando riscos potenciais à biota edáfica mesmo em condições consideradas seguras pelo uso agrícola convencional. Ainda, a observação de micronúcleos em grupos com menor concentração de herbicidas sugerem que os mecanismos de reparo celular das minhocas, embora ativos, não são suficientemente eficazes para neutralizar completamente os danos genéticos causados por

estas substâncias, o que pode levar à bioacumulação e comprometimento da saúde do solo a longo prazo.

CONCLUSÕES

As avaliações da mutagenicidade dos herbicidas Flumioxazina (Flumyzin 500SC), S-metolacoloro (Dual Gold®) e sua mistura Apresa® (Flumioxazina + S-metolacoloro) apontam dano mutagênico para todos herbicidas em 7 e 14 dias de exposição, evidenciando as complexidades das interações do composto em organismos não-alvo. A mutagenicidade detectada reforça a necessidade dos fabricantes realizarem testes mais robustos com bioindicadores mais sensíveis, não somente pela sensibilidade, mas principalmente o efeito das interações de misturas em organismos não-alvo.

AGRADECIMENTOS

À FAPEG pelo financiamento, à Universidade Estadual de Goiás pela infraestrutura disponibilizada, à prof^a. Dra. Luciane Madureira Almeida pelo carinho e paciência, e aos colegas que participaram.

REFERÊNCIAS

- MERCEDES DE ANDRÉA, M. uso de minhocas como bioindicadores de contaminação de solos. **ACTA ZOOLOGICA MEXICANA (N.S.)**, v. 26, n. 2, 10 ago. 2010.
- AGOSTINETTO, Lenita et al. O uso dos agrotóxicos e a exposição humana e ambiental. **SANIDADE VEGETAL**, p. 180, 2020.
- DAMALAS, C. A.; ELEFTHEROHORINOS, I. G. Pesticide Exposure, Safety Issues, and Risk Assessment Indicators. **International Journal of Environmental Research and Public Health**, v. 8, n. 5, p. 1402–1419, 6 maio 2011.
- LABRE, J. C. C.; SILVA, J. A. M.; MILLIOLI, V. S.; CARVALHO, D. D. Testes Ecotoxicológicos baseados na Exposição de Anelídeos e Sementes de Alfaca através da Adição de Diferentes Concentrações de Surfactantes ao Solo. **Holos Environment**, [S. l.], v. 8, n. 2, 2008.
- NAWAZ, K. et al. Eco-friendly role of biodegradation against agricultural pesticides hazards. **African Journal of Microbiology Research**, [S. l.], v. 5, n. 3, p. 177-183, 2011. DOI: 10.5897/AJMR10.375.
- PARVAN, Lais Gonçalves et al. Bioensaio com Allium cepa revela genotoxicidade de herbicida com flumioxazina. **Rev Pan-Amaz Saude**, Ananindeua, v.11, e202000544, 2020.
- SAMANTA, S.; DEY, P. Micronucleus and its applications. **Diagnostic cytopathology**, v. 40, n. 1, p. 84–90, 2012. doi: <https://doi.org/10.1002/dc.21592>.
- SOMMER, S.; BURACZEWSKA, I.; KRUSZEWSKI, M. Micronucleus Assay: The State of Art, and Future Directions. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 21, n. 4, p. 1534, 24 fev. 2020. Disponível em: < <https://www.mdpi.com/1422-0067/21/4/1534>>.
- STOPPELLI, I. M. DE B. S.; MAGALHÃES, C. P.. Saúde e segurança alimentar: a questão dos agrotóxicos. **Ciência & Saúde Coletiva**, v. 10, p. 91–100, set. 2005.
- OECD. Organization for Economic Co-Operation and Development. Earthworm acute toxicity test. Paris, 1984. 9 p. (OECD. Guideline for testing of chemicals, 207).
- OLIVEIRA, Rubem Silvério Júnior; CONSTANTIN, Jamil; INOUE, Miriam Hiroko. **Biologia e Manejo de Plantas Daninhas**. Curitiba – PR: Ommipax, 2011.

