



UNIVERSIDADE ESTADUAL DE GOIÁS  
CÂMPUS ANÁPOLIS DE CIÊNCIAS EXATAS E TECNOLÓGICAS –  
HENRIQUE SANTILLO  
Programa de Pós-Graduação Stricto Sensu em Recursos Naturais  
do Cerrado

JULIANA SOARES DE LIMA

**CUPINS COMO OBJETOS DE INVESTIGAÇÃO DO EFEITO DO  
USO DE AGROTÓXICOS SOBRE O AMBIENTE**

Anápolis

2019

JULIANA SOARES DE LIMA

**CUPINS COMO OBJETOS DE INVESTIGAÇÃO DO EFEITO DO  
USO DE AGROTÓXICOS SOBRE O AMBIENTE**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação Stricto Sensu em Recursos Naturais do Cerrado, da Universidade Estadual de Goiás para obtenção do título de Mestre em Recursos Naturais do Cerrado. Orientadora: Prof<sup>ª</sup>. Dr<sup>ª</sup> Héli da Ferreira da Cunha.

Anápolis

2019

## AGRADECIMENTOS

Reconheço que nada seria possível se não houvessem pessoas que acreditassem em mim e não me deixassem desistir. Agradeço profundamente a cada um que se dispôs a me ajudar com sugestões, análises, ideias e conversas.

Em especial, agradeço à Héliida, minha orientadora, pela paciência, carinho e dedicação comigo e com a pesquisa, muito obrigada por tudo. À professora Andréa Chaves que se dispôs e aceitou o desafio com grande entusiasmo.

Ao Daniel que pacientemente me ensinou tanto, inclusive a manter o bom humor mesmo em situações contrárias, pelas caronas e conversas. Muito obrigada! À Heloá e Lucas pela atenção e grande ajuda. A todos do LaCEM, agradeço.

Agradeço imensamente ao Osvaldo que, mais uma vez me auxiliou na utilização do Laboratório de Microbiologia com grande carinho. Ao professor João Nabout por conceder estrutura para realização dos bioensaios, muito obrigada.

Ao Renato, Carlão e Luza e toda equipe pelo acolhimento e ajuda nas atividades desenvolvidas na Flona. À Dona Meire e família pelas refeições tão gostosas

Ao Termite Research Team (TRT) em nome do Petr Stiblík e Jan Křeček pelas identificações de algumas amostras de cupins.

Ao PELD Conectividade funcional e antropização da paisagem (COFA), pelo apoio técnico e construção do mapa da paisagem (projeto nº 441278/2016-7), programa esse que tornou possível a experiência na Flona.

À CAPES pela concessão da bolsa.

## SUMÁRIO

<b>1</b>	<b>REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....</b>	<b>8</b>
1.1	<i>Histórico de Revoluções Agrícolas.....</i>	8
1.2	<i>Agrotóxicos e uso no Brasil.....</i>	8
1.3	<i>Legislação.....</i>	9
1.4	<i>Agronegócio e Cerrado.....</i>	11
1.5	<i>Aspectos gerais dos cupins.....</i>	13
<b>2</b>	<b>PROBLEMÁTICA E OBJETIVOS.....</b>	<b>15</b>
	<i>Referências .....</i>	16
<b>CAPÍTULO 1: EFEITOS DO GLIFOSATO AO AMBIENTE: UMA ANÁLISE CIENCIOMÉTRICA.....</b>		<b>22</b>
	RESUMO.....	22
	ABSTRACT.....	23
1	INTRODUÇÃO.....	24
2	METODOLOGIA.....	25
3	RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	26
3.1	<i>Tendência temporal.....</i>	26
3.2	<i>Grupos taxonômicos que apresentam mais pesquisas a respeito.....</i>	27
3.3	<i>Efeitos relatados.....</i>	28
3.4	<i>Compostos relatados.....</i>	30
3.5	<i>Efeitos na agricultura.....</i>	32
3.6	<i>Distribuição de publicações por países.....</i>	33
4	CONCLUSÃO.....	33
5	REFERÊNCIAS .....	35
<b>CAPÍTULO 2: UM ESTRANHO NO NINHO: UMA ESTIMATIVA DE GLIFOSATO EM CUPINS EM FRAGMENTOS DE CERRADO .....</b>		<b>38</b>
	RESUMO .....	38
	ABSTRACT.....	39
1	INTRODUÇÃO.....	40
2	METODOLOGIA.....	41
2.1	<i>Amostras ambientais.....</i>	41

2.1.1	<i>Local de coleta das amostras ambientais</i> .....	41
2.1.2	<i>Amostragem dos ninhos e coleta</i> .....	42
2.2	<i>Amostras experimentais</i> .....	43
2.2.1	<i>Coletas para bioensaio</i> .....	43
2.2.2	<i>Procedimentos experimentais para determinação da DL50</i> .....	44
2.3	<i>Análise e Detecção</i> .....	45
2.3.1	<i>Problemas</i> .....	45
2.3.2	<i>Determinação do padrão de glifosato</i> .....	46
2.3.3	<i>Preparo das amostras</i> .....	46
2.3.4	<i>Análise por espectrometria de massas</i> .....	47
3	<b>RESULTADOS E DISCUSSÃO</b> .....	47
3.1	<i>Termitofauna</i> .....	47
3.2	<i>Curva analítica do padrão do glifosato</i> .....	48
3.3	<i>Detecção do glifosato nas amostras ambientais</i> .....	49
3.4	<i>Determinação da DL50 nas amostras experimentais</i> .....	50
4	<b>CONCLUSÃO</b> .....	52
5	<b>REFERÊNCIAS</b> .....	53
3	<b>CONSIDERAÇÕES FINAIS</b> .....	56

## LISTA DE FIGURAS

Figura 1 -	Tendência temporal (1977-2017) sobre efeitos do glifosato a partir de publicações disponíveis no Banco de dados Thomson ISI.....	26
Figura 2 -	Frequência de publicações categorizadas em grupos taxonômicos que são afetados pelo uso do glifosato.....	28
Figura 3 -	Frequência dos 10 compostos mais citados em associação com o glifosato nas publicações entre os anos de 1977-2017 no Banco de dados Thomson ISI.....	31
Figura 4 -	Distribuição em porcentagem de publicações que relatam dos efeitos do glifosato nos organismos e ambiente por países entre os anos de 1977-2017 no Banco de dados Thomson ISI.....	33
Figura 5 -	Localização da Flona (ao centro da imagem) e região de entorno composta por lavouras e pastagens. Círculos em vermelho indicam as coletas realizadas dentro da Flona e círculos em branco indicam as coletas realizadas no entorno .....	42
Figura 6 -	Ilustração dos pontos de coleta no entorno da Flona, com as distâncias entre os ninhos amostrados e as lavouras mais próximas. Fonte: próprio autor.....	43
Figura 7 -	Ilustração do preparo dos bioensaios divididos em experimentos 1 e 2 para determinação da DL50 do glifosato em operários de <i>Cornitermes silvestrii</i> ....	44
Figura 8 -	Ilustração da metodologia utilizada no preparo do produto padrão do glifosato, para construção da curva analítica. Fonte: própria autora .....	46
Figura 9 -	Ilustração da metodologia utilizada no preparo das amostras, para análise de glifosato em operários de <i>Cornitermes</i> . Fonte: Própria autora .....	47
Figura 10 -	Curva analítica do padrão de glifosato com concentrações entre 50 e 650 ppb.....	49
Figura 11 -	Cromatogramas indicando os valores detectados onde (Padrão) indica os picos do glifosato e (A), (B), (C) e (D) indicam as amostras ambientais próximas as lavouras em Silvânia-GO.....	50
Figura 12 -	Mortalidade média de operários de <i>Cornitermes silvestrii</i> submetidos a concentrações permitidas pela legislação .....	51
Figura 13 -	Mortalidade média de operários de <i>Cornitermes silvestrii</i> submetidos a DL50 de acordo com concentrações acima do permitido pela legislação .....	51

## LISTA DE TABELAS

Tabela 1-	Descrição dos efeitos do glifosato aos organismos, relato nas publicações analisadas.....	28
Tabela 2-	Lista de gêneros e espécies amostrados na Flona e entorno. Silvânia-GO.....	48

## **1 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA**

### *1.1 Histórico de Revoluções Agrícolas*

A agricultura é uma prática humana existente há mais de 10.000 anos, que até pouco tempo, consistia numa produção de alimentos de qualidade sem a utilização de insumos sintetizados artificialmente. As primeiras formas de agricultura eram praticadas perto de aluviões das vazantes dos rios, ou seja, em terras já fertilizadas e que não exigiam desmatamento (Bianchini & Medaets, 2013; Mazoyer & Roudart, 2010). Somente no século XVI, houve, na Europa, a Primeira Revolução Agrícola dos tempos modernos, caracterizada pela adoção de técnicas de manejo integrando plantio e pecuária (Bianchini & Medaets, 2013).

No final do século XIX e início do século XX, os problemas de escassez de alimentos na Europa se intensificaram, em decorrência do aumento populacional e da queda da fertilidade do solo. Nesse período, deu-se início a Segunda Revolução Agrícola, caracterizada pela transição de uma agricultura tradicional para uma agricultura dita moderna ou convencional (Borsato, 2015). O desenvolvimento de novos meios de produção agrária, como os primeiros fertilizantes químicos e a utilização de grandes máquinas, como tratores pesados e motores a combustão ou elétricos, são características marcantes desse momento (Mazoyer & Roudart, 2010).

Com os avanços científicos do século XX, difundiu-se a ideia que o aumento da produtividade agrícola estivesse diretamente relacionado à quantidade de substâncias químicas lançadas no solo (Borsato, 2015). A busca por maior produção alimentar aliada aos incentivos de políticas agrícolas norte-americanas e europeias, após a Segunda Guerra Mundial, resultou na expansão da agricultura convencional em todo o mundo. A “Revolução Verde”, como ficou conhecida na década de 1960, foi o período caracterizado pela difusão desse modelo agrário acompanhado do uso intenso de químicos sintéticos (Borsato, 2015; Brum, 1987).

### *1.2 Agrotóxicos e uso no Brasil*



De início, os agrotóxicos, como são conhecidos atualmente, foram compostos sintetizados e utilizados para fins bélicos durante a Primeira (1914-1918) e Segunda Guerra Mundial (1939-1945) (Boziki et al., 2011). Depois dessas grandes guerras, as indústrias alteraram os formulados para, a partir de então, serem aplicados em lavouras a fim de combater de pragas. Assim surge um novo mercado para a venda desses produtos que logo se expandiu (Londres, 2011).

O produtor brasileiro, desde a década de 1940, recebe diversos incentivos fiscais por meio das políticas de subsídios dados pelo governo. No entanto, foi a partir da Revolução Verde que a agricultura brasileira dá início ao processo de “modernização” com a utilização do pacote tecnológico criado nessa época (Balsan, 2006; Souza, 2015). Com a criação do Sistema Nacional de Crédito Rural (SNCR), os produtores obtinham, por meio de empréstimos, novas tecnologias que substituíam os moldes locais de produção e fixavam um percentual gasto obrigatoriamente com agrotóxicos (Ribas & Matsumura, 2009).

A criação do Programa Nacional de Defensivos Agrícolas em 1975, que fomentou o estabelecimento de empresas nacionais e transnacionais de agrotóxicos no país (Londres, 2011) é um importante fator para o aumento do uso de agrotóxicos no Brasil. Além disso, isenções fiscais e tributárias, além de regulação e fiscalização pouco rigorosas dos produtos comercializados, facilitou o registro de muitos ingredientes ativos nocivos e proibidos em países desenvolvidos (Antunes, 2013).

Atualmente o Brasil apresenta cerca de 370 ingredientes ativos registrados e com uso autorizado. Esses ingredientes ativos pertencem a 200 grupos químicos diferentes e originam cerca de 1.460 formulações comerciais (Londres, 2011). Ainda assim, a demanda por novos produtos é crescente no mercado em função da seleção de organismos resistentes aos atuais compostos que se tornam menos efetivos no combate às pragas, porém não menos nocivos ao ambiente (Braibante & Zappe, 2012).

### 1.3 *Legislação*

A legislação brasileira quanto ao uso de agrotóxicos teve início em 1989, com a aprovação no Congresso Nacional da Lei 7.802, conhecida como a Lei dos Agrotóxicos que define como “os produtos e os agentes de processos físicos, químicos ou biológicos, destinados ao uso nos setores de produção, no armazenamento e beneficiamento de produtos agrícolas, nas pastagens, na proteção de florestas, nativas ou implantadas, e de outros ecossistemas e também de ambientes urbanos, hídricos e industriais, cuja finalidade seja alterar a composição da flora ou da fauna, a fim de preservá-las da ação danosa de seres vivos considerados nocivos.” (BRASIL, 1989).

Esta mesma lei, nos artigos 3º e 9º, dispõe a responsabilidade de gerir “a pesquisa, a experimentação, a produção, a embalagem e rotulagem, o transporte, o armazenamento, a comercialização, a propaganda comercial, a utilização, a importação, a exportação, o destino final dos resíduos e embalagens, o registro, a classificação, o controle, a inspeção e a fiscalização dos agrotóxicos, seus componentes e afins” (BRASIL, 1989).

Os Ministérios da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA), da Saúde por meio da Agência Nacional de Vigilância Sanitária (Anvisa) e do Meio Ambiente (IBAMA) passaram a atuar junto a legislação para o registro dos agrotóxicos. Neste sentido, o MAPA assumiu a responsabilidade de avaliar o desempenho agrônomo do produto, a Anvisa assumiu o compromisso de execução da avaliação e classificação toxicológica e o IBAMA admitiu a competência de avaliar e classificar o potencial de periculosidade ambiental (Peres & Moreira, 2003).

O Ministério da Saúde estabeleceu uma classificação toxicológica dos agrotóxicos em função dos efeitos à saúde humana. Nesta classificação os produtos recebem uma faixa colorida no rótulo, que caracteriza as classes toxicológicas que variam de I a IV: extremamente tóxico (Classe I, faixa vermelha), altamente tóxico (Classe II, faixa amarela), mediamente tóxico (Classe III, faixa azul) e pouco tóxico (Classe IV, faixa verde) como é exposto por Ribas e Matsumura (2009).

No entanto, existe uma outra classificação, que remete ao potencial de periculosidade ambiental, levando em consideração estudos físico-químicos, toxicológicos e ecotoxicológicos. Essa classificação foi estabelecida pelo IBAMA seguindo as classes que também variam de I a IV e englobam: produtos altamente

perigosos ao meio ambiente (Classe I), produtos muito perigosos ao meio ambiente (Classe II), produtos perigosos ao meio ambiente (Classe III) e produtos pouco perigosos ao meio ambiente (Classe IV) (Ribas & Matsumura, 2009).

Apesar da legislação que controla a utilização de agrotóxicos estar em vigência, o Brasil tem aumentado a cada ano o consumo desses compostos. Segundo Porto e Soares (2012), o país alcançou o título de maior consumidor de agrotóxicos do mundo em 2008, consumindo mais de US\$ 6 bilhões naquele ano. Entre 2012 e 2014, o país teve uma média de uso de agrotóxicos na ordem de 8,33 kg por hectare, desconsiderando diferenças regionais. Nos casos dos estados de Mato Grosso, Mato Grosso do Sul, Goiás e São Paulo essa média pode chegar a 16 kg por hectare (Bombardi, 2017).

Atualmente, o Projeto de Lei (PL) 6.299/2002 originário do Senado Federal e cujo autor foi o Senador Blairo Maggi, propõe alterações nos artigos 3º e 9º da Lei nº 7.802/1989, conferindo exclusivamente ao MAPA a responsabilidade de registrar, avaliar e aprovar a comercialização de novos compostos. Além disso, o projeto em discussão propõe a substituição da terminologia de agrotóxicos para defensivos agrícolas. O PL, já aprovado em uma Comissão Especial da Câmara dos Deputados, logo será votado em Plenário (Costa et al., 2018).

#### *1.4 Agronegócio e Cerrado*

O agronegócio é o eixo econômico mais forte do país, constituindo o maior setor exportador responsável por 42% das exportações brasileiras (Peres & Moreira, 2007). Dados do IBAMA mostram que as exportações para o ano de 2016 chegaram a 7.000 toneladas e o consumo de agrotóxicos ultrapassou 500.000 toneladas. Dentre os agrotóxicos mais comercializados no Brasil destacam-se os herbicidas (48%), inseticidas (25%) e fungicidas (22%). Os estados brasileiros que mais consomem esses produtos são Mato Grosso, São Paulo, Rio Grande do Sul, Paraná, Goiás, Minas Gerais, Bahia, Mato Grosso do Sul, Santa Catarina e Maranhão (Tavella et al., 2011).

O intenso processo modernizador da agricultura brasileira acarretou impactos ambientais e transformações sociais em magnitudes muito amplas. O Cerrado é a região que mais tem sofrido esses impactos por meio de constantes modificações na paisagem e em seu uso (Caporal & Costabeber, 2014). Atualmente é considerado uma grande fronteira agrícola devido ao rápido desenvolvimento socioeconômico da região (Klink & Moreira, 2002; Cavalcanti & Joly, 2002; Lapola et al., 2013). Cerca de 55% da área original do Cerrado foi desmatada e convertida em pastagens plantadas e regiões de agricultura, principalmente para o plantio de soja e cana-de-açúcar (Machado et al., 2004; Klink & Machado, 2005; Lapola et al., 2013).

A prática agrícola no Cerrado inclui o uso extensivo de agrotóxicos que podem causar intoxicações nos trabalhadores do campo e nos consumidores (Müller, 2003; Soares & Porto, 2009). Nesse contexto, o Sistema Nacional de Informações Tóxico-farmacológicas registrou, entre 2007 e 2014, 25.000 casos de intoxicações por agrotóxicos. De acordo com a FIOCRUZ, esses dados são subnotificados em uma ordem de 1:50, ou seja, para cada notificação de intoxicação existem outros 50 casos não notificados (Bombardi, 2017).

Esses compostos químicos também trazem danos ao meio ambiente, entrando em contato com cursos d'água, pelo escoamento da chuva, com a atmosfera, por meio da dispersão no momento da aplicação e através da volatilização, e com o solo por meio da lixiviação (Kurz et al., 2013). Os agrotóxicos são, desse modo, importantes fatores na alteração de habitats naturais e provocam severas consequências sobre a biodiversidade, como, por exemplo, interferências na taxa de crescimento populacional, diminuição do comprimento e diversidade da cadeia trófica e modificação das interações entre as espécies (Forero-Medina & Vieira, 2007).

Sabe-se que muitas espécies são ameaçadas com o uso desses contaminantes. Nos últimos anos, tem-se observado o declínio da população de abelhas graças ao uso de inseticidas, o que gera morte e alterações comportamentais que comprometem o funcionamento da colônia (Lambin et al., 2001; El Hassani et al., 2008). Além de intoxicar as abelhas forrageiras, os agrotóxicos presentes no pólen e néctar são indicativos que todos os indivíduos da colônia estão expostos a estes compostos e podem se contaminar (Teeters et al., 2012).

A maior concentração dos agrotóxicos lançados nas lavouras atinge o solo em sua forma original, contaminando essa região. Os organismos que habitam no solo como artrópodes, anelídeos e diplópodes e que estão constantemente expostos aos agrotóxicos apresentam alterações morfológicas, podendo ser utilizados como biomarcadores de componentes químicos (Fontanetti et al., 2011; Souza et al., 2014).

A disponibilidade e, conseqüentemente, o transporte de agrotóxicos no solo dependem dos processos de sorção, transformação e absorção radicular das moléculas, aliados às condições ambientais, tais como pluviosidade e temperatura. Assim, as propriedades físico-químicas das moléculas e os atributos físicos, químicos e biológicos do solo, refletem diretamente na movimentação das moléculas no perfil do solo (Bouchard et al., 1989).

### 1.5 Aspectos gerais dos cupins

Um dos grupos dominantes na fauna do solo no Cerrado é o de cupins (Eggleton & Bignell, 1995; Redford, 1984). Esses insetos pertencem a ordem Blattaria e infraordem Isoptera (Donovan et al., 2000; Krishna et al., 2013; Nalepa, 2015), mas são popularmente conhecidos como aleluias, siriris ou formigas brancas. No globo, as 3000 espécies conhecidas ocorrem em locais de clima tropical e subtropical (Constantino, 1999; Krishna et al., 2013).

Os cupins são eussociais, isto é, se agrupam e vivem juntos no ninho, onde cada uma das três castas existentes exerce uma tarefa específica em prol dos demais (Eggleton, 2001). Os indivíduos alados (rei e rainha) são responsáveis pela reprodução, enquanto os soldados fazem a defesa e os operários realizam a construção e manutenção do ninho, além de alimentar toda a colônia e cuidar dos irmãos mais jovens (Abe, 1987; Lee & Wood, 1971).

Os operários exploram o ambiente ao redor do ninho em busca de materiais que sirvam de alimento e também matéria prima de suas moradias. Esses insetos se alimentam de diversas substâncias celulósicas, principalmente madeira, mas sabe-se que os recursos explorados são variados e incluem húmus, serapilheira, gramíneas, fungos,

líquens e até carcaças de animais (Sleaford et al., 1996; Donovan et al., 2001; Lee & Wood, 1971; Noirot, 1992, Barbosa-Silva, 2011; Lima & Costa-Leonardo, 2007).

Os cupins forrageam por longas distâncias, podendo atingir uma área de forrageamento de até 1.250 m<sup>2</sup> e 1 metro de profundidade, no caso de cupins subterrâneos (Almeida et al.,1999). Com essas atividades de forrageamento e construção de ninhos e galerias, os cupins são capazes de alterar parcialmente o meio onde vivem e exercem papéis consideráveis no processo de ciclagem de nutrientes, decomposição, mineralização da matéria orgânica e de formação do solo (Eggleton & Bignell 1995; Eggleton et al., 1996; Davies et al., 1999).

Representam cerca de 10% da biomassa animal nos trópicos, apresentando elevada densidade de ninhos nos ambientes (Eggleton & Bignell, 1995; Overall, 2001) além de serem base da cadeia alimentar, sendo fonte de energia para um grande número de organismos (Wood & Sands, 1978), tais como anfíbios, répteis, aves, mamíferos, aranhas, formigas (Bignell & Eggleton, 2000; Gibbons & Lindenmayer, 2002; Constantino, 2005; Lima & Costa-Leonardo, 2007).

Os cupinzeiros podem se distribuir de forma aleatória quando não há competição inter e intra-específica (Cunha, 2011); uniforme, quando há interações combinadas (Oliveira, 2009); e agregados, em decorrência da heterogeneidade de habitats (Dias et al., 2012). Atributos físicos e químicos do ambiente, tais como variações na concentração de nutrientes do solo, variações climáticas, tipo e profundidade do solo e desmatamento também influenciam a ordenação das colônias (Holt & Lepage, 2000).

O papel desempenhado pelos cupins aliado à densidade, abundância e estrutura dos cupinzeiros tornam algumas espécies espécies-chave no ecossistema, como é o caso de *Cornitermes cumulans* (Kollar, 1932) (Redford, 1984). Essa espécie constrói ninhos conspícuos sobre o solo e bastante resistentes que servem de abrigo para uma grande quantidade de organismos. Os ninhos são ambientes que apresentam temperatura e umidade constantes independente do período do dia e da época do ano (Canello, 1989).

## 2. PROBLEMÁTICA E OBJETIVOS

Pouco sabemos sobre os impactos dos agrotóxicos no ambiente a longo prazo (Soares & Porto, 2009). Neste caso, os cupins configuram como bons indicadores da qualidade dos ambientes, pois apresentam importâncias funcionais nos ecossistemas, ocorrem independente de sazonalidade, são sensíveis às modificações do ambiente e possuem facilidade de colonizar ambientes em estágios iniciais de sucessão (Brown, 1997; Cunha, 2011).

Diante do exposto, este trabalho possui o objetivo de investigar os efeitos antrópicos, provenientes do uso de agrotóxicos, sobre os cupins, bem como ao ambiente.

Para isso, especificamente, este trabalho objetiva:

- Analisar e relatar o que a literatura científica diz a respeito dos efeitos que o glifosato provoca ao ambiente e organismos;
- Estimar a termitofauna em fragmentos de Cerrado de uma Unidade de Conservação;
- Avaliar a presença de glifosato em cupins do gênero *Cornitermes*, verificando se os cupins próximos a áreas de plantios são contaminados por agrotóxicos;
- Determinar a DL50 de glifosato sobre cupins em condições experimentais.

## 1.6 Referências

Abe, T. 1987. Evolution of life types in térmites. In: Evolution and coadaptation in biotic communities (S. Kawano, J. H. Connell and T. Hidaka, Eds.), pp. 125-148, University of Tokyo Press, Tokyo.

Almeida JEM, Alves SB & Walder JMM, 1999. Tamanho da área de forrageamento do cupim subterrâneos *Heterotermes tenuis* (Isoptera; Rhinotermitidae) em cana-de-açúcar, *Sci. agric.* [online], 56:313-316.

Antunes, AM. 2013. Avaliação da exposição aguda e sub-letal ao Glifosato (N-fosfometil-glicina) e ao AMPA (ácido amino-metil-fosfônico) em brânquias e fígado de *Poecilia reticulata* com o emprego de biomarcadores moleculares e morfológicos/ Adriana Maria Antunes. Dissertação (Mestrado) Universidade Federal de Goiás. 68 p.

Balsan, R. 2006. Impactos decorrentes da modernização da agricultura brasileira CAMPO-TERRITÓRIO: revista de geografia agrária, v. 1, n. 2, p. 123-151.

Barbosa-Silva, AM., 2011. Fungos associados a ninhos de cupins em uma Região Semiárida, NE do Brasil; Campina Grande, 2011. 33pg. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Biologia) – Universidade Estadual da Paraíba, Centro de Ciências Biológicas e da Saúde.

Bianchini, V., Medaets, JPP. 2013. Da revolução Verde à agroecologia: Plano Brasil groecológico. Brasília: MDA, 2013

Bignell, DE., Eggleton, P. 2000. Termites in ecosystems. In: Abe, T., Bignell DE., Higashi, M. Termites: evolution, sociality, symbiosis and ecology, pp. 363–387. Dordrecht, The Netherlands: Kluwer Academic Publishers.

Bombardi, LM. 2017. Geografia do uso de agrotóxicos no Brasil e conexões com a União Europeia. São Paulo: Laboratório de Geografia Agrária FFLCH -USP (Ebook).

Borsato, A. V. Sistema de Produção Agrícola de Base Ecológica. In: Ramom Rachide Nunes; Maria Olímpia de Oliveira Rezende. (Org.). Recurso Solo - propriedades e uso. 1ed.São Carlos: Cubo, 2015, v. 1, p. 499-523.

Bouchard DC, Enfield CG & Piwoni MD. 1989. Transport processes involving organic



chemicals. In Sawhney BL & Brown BL (ed.). Reactions and movement of organic chemicals in soils. Madison: Soil Science Society of America. P. 349-372.

Boziki, D., Beroldt, L., Printes, PC., 2011. Situação atual da utilização de agrotóxicos e destinação de embalagens na área de proteção ambiental estadual rota sol, rio grande do sul. Revista Vitas, n. 01.

Braibante, MEF., Zappe, JA., 2012. A química dos agrotóxicos. Revista Química Nova na Escola, v. 34, p. 10-15.

Brasil. Lei 7802, de 11 de julho de 1989. Diário Oficial da União, República Federativa do Brasil, Brasília, 12/07/1989.

Brasil. Decreto nº 98.816, de 11 de Janeiro de 1990. Diário Oficial da União, República Federativa do Brasil, Brasília 12/01/1990.

Brasil. Ministério da Saúde. FIOCRUZ. SINITIOX. <https://sinitox.icict.fiocruz.br/dados-nacionais>. Acesso em 16 de Junho de 2018.

Brasil. Projeto de Lei nº 6.299, de 2002. Disponível em: [https://www.camara.gov.br/proposicoesWeb/prop\\_mostrarintegra?codteor=1654426&filename=Tramitacao-PL+6299/2002](https://www.camara.gov.br/proposicoesWeb/prop_mostrarintegra?codteor=1654426&filename=Tramitacao-PL+6299/2002). Acessado em 30/08/2018

Brown Jr KS, 1997. Diversity, disturbance, and sustainable use of Neotropical forests: insects as indicators for conservation monitoring. Journal of Insect Conservation, 1:25-42.

Brum, AJA 1987 Modernização da Agricultura: trigo e soja. Petrópolis: Vozes.;Ijuí: FIDENE, p. 31- 89.

Cancello, EM. 1989. Revisão de *Cornitermes* Wasmann (Isoptera, Termitidae, Nasutitermitinae). 151f. Tese (Doutorado em Zoologia) - Instituto de Biociências, Universidade de São Paulo, SP.

Caporal FR, Costabeber JA, 2004. Agroecologia e extensão rural: contribuições para a promoção do desenvolvimento rural sustentável. Embrapa, Brasília, DF. 166 p.

Cavalcanti RB, Joly CA, 2002. Biodiversity and conservation priorities in the cerrado region. In: Oliveira PS, Marquis RJ (eds.). The cerrados of Brazil: ecology and natural history of a Neotropical savanna. New York: Columbia University Press. p. 351–367.

- Constantino, R. 1999. Chave ilustrada para identificação dos gêneros de cupins (Insecta: Isoptera) que ocorrem no Brasil. *Papéis Avulsos Zoologia*. 40 (25): 387-448.
- Constantino, R. 2005. Padrões de diversidade e endemismo de térmitas no bioma cerrado. In: Scariot, A.O., Silva, J.C.S.; Felfili, J.M. (eds.) *Biodiversidade, Ecologia e Conservação do Cerrado*. Ministério do Meio Ambiente, p. 319- 333.
- Costa AM, Rizzotto MLF, Lobato LVC. 2018. A questão dos agrotóxicos rompe os limites da ética da preservação da saúde e da vida. *Saúde Debate*. Rio de Janeiro, v. 42, n. 117, p. 346-353.
- Cunha HF, 2011. Distribuição especial de cupinzeiros epígeos de pastagem no município de Iporá-GO, Brasil. *Entomobrasilis*, 4(2):45-48.
- Davies RG et al., 1999. Successional response of a tropical forest termite assemblage to experimental habitat perturbation. *Journal of Applied Ecology*, 36:946-962.
- Dias NP et al., 2012. Distribuição espacial de *Procornitermes* sp. (Isoptera, termitidae) em função das propriedades físicas do solo em área de pastagem no município de São Borja, Rio Grande do Sul. *Revista Brasileira de Agroecologia*, 7(2):104-111.
- Donovan SE et al., 2000. The spatial pattern of soil - dwelling termites in primary and logged forest in Sabah, Malaysia. *Ecological Entomology*, 32:1-10.
- Donovan, SE., Eggleton, P., Bignell, DE. 2001. Gut content analysis and a new feeding group classification of termites (Isoptera). *Ecological Entomology* 26: 356–366.
- Eggleton P & Bignell DE, 1995. Monitoring the response of tropical insects to changes in the environment: troubles with termites. In Harrington R & Stork N (eds.). *Insects in a changing environment*. London: Academic Press. p. 473-497.
- Eggleton P et al., 1996. The diversity, abundance and biomass of termites under differing levels of disturbance in the Mbalmayo Forest Reserve, Southern Cameroon. *Philosophical Transactions of the Royal Society of London*, 351:51-68.
- Eggleton, P., Tayasu, I. 2001. Feeding groups, lifestypes and the global ecology of termites. *Ecol Res* 16:941–960.
- El Hassani, AK., Dacher, M., Gary, M., Lambin, M., Gauthier, M., Armengaud, C., 2008. Effects of sublethal doses of acetamiprid and thiamethoxam on the behavior of

the honeybee (*Apis mellifera*). *Archives of Environmental Contamination and Toxicology*, vol. 54, no. 4, pp. 653-661.

Fontanetti CS et al., 2011. Bioindicators and biomarkers in the assessment of soil toxicity. In Pascucci S (Ed.). *Soil Contamination*. Croácia: InTech. p. 143-168.

Forero-Medina G & Vieira MV, 2007. Conectividade funcional e a importância da interação organismo-paisagem. *Oecologia Brasiliensis*, 11:493-502.

Gibbons P., Lindenmayer D. 2002. *Tree Hollows and Wildlife Conservation in Australia*. Csiro Publishing, p.240.

Holt JA., Lepage M, 2000. Termites and soil properties. In Abe T, Bignell DE & Higashi M (ed.). *Termites: Evolution, Sociality, Symbioses, Ecology*. Kluwer Academic Publishers. p. 466.

IBAMA - Produtos agrotóxicos e afins comercializados em 2009 no Brasil. 2009.

Klink CA & Moreira AG, 2002. Past and current human occupation and land-use. In Oliveira PS & Marquis RJ (eds.). *The Cerrado of Brazil. Ecology and natural history of a neotropical savanna*. New York: Columbia University Press. p. 69-88.

Klink CA & Machado RB, 2005. Conservation of the Brazilian Cerrado. *Conservation Biology*, 19:707-713.

Krishna, K., Grimaldi, DA., Krishna, V., Engel, MS. 2013. *Treatise on the Isoptera of the world*. Vol.1; Copyright American Museum of Natural History.

Kurz MH et al., 2013. Development of a Fast Method for the Determination of the Insecticide Fipronil and its Metabolites in Environmental Waters by SPE and GCECD. *Journal of the Brazilian Chemical Society*, 00:1-8.

Lambin, M., Armengaud, C., Raymond, S., Gauthier, M., 2001. Imidacloprid- Induced Facilitation of the Proboscis Extension Reflex Habituation in the Honeybee. *Archives of Insect Biochemistry and Physiology*, vol. 48, pp.129-134.

Lapola DM et al., 2013. Pervasive transition of the Brazilian land-use system. *Nature climate change*, 04:27-35.

Lee, KE., Wood, TG. 1971. *Termites and Soils*. London (Academic Press). 251 p.

- Lima, JT., Costa-Leonardo, AM. 2007. Recursos alimentares explorados pelos cupins (Insecta: Isoptera) Biota Neotropica, v.7, n.2, 243 - 250p.
- Londres, F. Agrotóxicos no Brasil – Um guia para ação em defesa da vida. Rio de Janeiro: AS-PTA – Assessoria e Serviços a Projetos em Agricultura Alternativa, 2011.
- Machado RB et al., 2004. Estimativas de perda da área do Cerrado brasileiro. Relatório técnico não publicado. Conservação Internacional, Brasília, DF.
- Mazoyer, M.; Roudart, L. História das agriculturas no mundo: Do neolítico à crise contemporânea. São Paulo: Editora UNESP, 2010.
- Müller C, 2003. Expansion and modernization of agriculture in the Cerrado – the case of soybeans in Brazil's center-West. Department of Economics Working Paper 306, Universidade de Brasília, Brasília.
- Nalepa, CA. 2015. Origin of termite eusociality: Trophallaxis integrates the social, nutritional, and microbial environments. Ecol. Entomol. In press. doi: 10.1111/een.12197.
- Noirot, C. 1992. From wood to humus-feeding: an important trend in termite evolution. In: BILLEN, J. Biology and Evolution of Social Insects. P. 107-119. Leuven: Leuven University Press.
- Oliveira DE, 2009. Estrutura espacial da assembleia de cupins (Isoptera) em cerrado sensu stricto do Parque Estadual da Serra de Caldas Novas, Goiás. Goiânia-GO. p. 62.
- Overall WL, 2001. O peso dos invertebrados na balança de conservação biológica da Amazônia. In Capobianco JPR (coord.). Biodiversidade na Amazônia Brasileira: Avaliação e Ações Prioritárias para a Conservação, Uso Sustentável e Repartição de Benefícios, Instituto SócioAmbiental/ Estação Liberdade. p. 50-58.
- Peres, F., Moreira, JC., 2003. É veneno ou é remédio? Agrotóxicos, saúde e ambiente. Rio de Janeiro: Fiocruz.
- Peres F, Moreira JC & Claudio L, 2007. Os impactos dos agrotóxicos sobre a saúde e o ambiente. Ciência e Saúde Coletiva, 12:4.

Porto MF & Soares WL, 2012. Development model, pesticides, and health: a panorama of the Brazilian agricultural reality and proposals for an innovative research agenda. *Rev. Bras. Saúde Ocup.*, 37:17–50.

Redford K, 1984. The termitaria of *Cornitermes cumulans* (Isoptera, Termitidae) and their role in determining a potential keystone species. *Biotropica*, 16:112-119.

Ribas, PP., Matsumura, ATS., 2009. A química dos agrotóxicos: impacto sobre a saúde e meio ambiente. *Revista Liberato, Novo Hamburgo*, v.10, n.14, p. 149-158.

Sleaford F, Bignell DE & Eggleton P, 1996. A pilot analysis of gut contents in termites from the Mbalmayo Forest Reserve, Cameroon. *Ecological Entomology*, 21:279–288.

Soares WL & Porto MFS, 2009. Estimating the social cost of pesticide use: an assessment from acute poisoning in Brazil. *Ecological Economics*, 68:2721-2728.

Souza, MMO. 2015. A indústria dos agrotóxicos e a resistência agroecológica no cerrado goiano. In: Lunas, DAL., Xavier, GL., Luz, JS. (Org.). *Cerrado, projetos políticos, atores sociais e dinâmicas dos territórios*. 1ed. Anápolis: Editora da UEG, 2015, v. 1, p. 75-104.

Souza TS et al., 2014. The use of diplopods in soil ecotoxicology – A review. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 103:68-73.

Tavella, LB., Silva, IN., Fontes, LO., Dias, JRM., Silva, MIL., 2011. O uso de agrotóxicos na agricultura e suas consequências toxicológicas e ambientais. *ACSA - Agropecuária Científica no Semi-Árido*, v.07, n.02.

Teeters, BS., Johnson, RM., Ellis, MD., Siegrifid, BD., 2012. Using video-tracking to assess sublethal effects of pesticides on honey bees (*Apis mellifera* L.). *Environmental Toxicology and Chemistry*, vol. 31, no. 6, pp. 1349-1354.

Wood TG & Sands WA, 1978. The role of termites in ecosystem. In Brian MV (eds.). *Production ecology of ants and termites*. Cambridge: Cambridge University Press. p. 245-292.

## **CAPÍTULO 1. EFEITOS DO GLIFOSATO AO AMBIENTE: UMA ANÁLISE CIENCIOMÉTRICA**

### **RESUMO**

Neste estudo, nós buscamos determinar a tendência temporal de trabalhos publicados sobre os efeitos tóxicos do glifosato ao ambiente e organismos, bem como os grupos taxonômicos relatados, os efeitos específicos a cada grupo, os compostos que são estudados em conjunto, se há relatos de efeitos positivos ou negativos para a agricultura e a distribuição de publicações por países. Usamos o banco de dados Thompson-ISI (Web of Science) com os termos (“glyphosate\*”) AND (“toxicity\*”) para realizar a seleção das publicações. 114 trabalhos foram analisados, sendo que o grupo de organismos mais relatado compreende os peixes; os efeitos colaterais apresentam-se diversos expondo impactos desde a morte do organismo à problemas comportamentais, reprodutivos e populacionais; os demais compostos relatados nesse estudo compreendem outros 25 produtos, sendo 38% não pertencentes ao grupo de herbicidas; o país que apresentou o maior número de publicações foram os Estados Unidos com 27% das publicações totais. O recorte realizado neste estudo nos mostra a pouca preocupação em relatar os efeitos que o glifosato causa no ambiente e nos organismos, sendo assim futuros estudos devem investigar os impactos causados pelo glifosato, visto que esse herbicida é um dos mais utilizados no mundo.

Palavras-chave: Herbicida, Efeitos colaterais, Cienciometria,

## **CHAPTER 1. EFFECTS OF GLYPHOSATE TO THE ENVIRONMENT: A SCIENTOMETRIC ANALYSIS**

### **ABSTRACT**

In this study, we sought to determine the temporal trend of published work on the toxic effects of glyphosate on the environment and organisms, as well as the taxonomic groups reported, the specific effects on each group, the compounds that are studied together, if there are reports of effects positive or negative effects on agriculture and the distribution of publications by country. We used the Thompson-ISI (Web of Science) database with the terms ("glyphosate \*") AND ("toxicity \*") to select the publications. 114 studies were analyzed, with the most reported group of organisms comprising fish; the side effects are diverse exposing impacts from the death of the organism to the behavioral, reproductive and population problems; the other compounds reported in this study comprise 25 other products, 38% of which are not part of the herbicide group; the country with the highest number of publications was the United States with 27% of the total publications. This study shows that there is little concern about the effects of glyphosate on the environment and organisms, and future studies should investigate the impacts caused by glyphosate, since this herbicide is one of the most used in the world

**Key-words:** Herbicide, Side effects, Scientometric

## 1 INTRODUÇÃO

O glifosato [N-(fosfonometil)glicina] é um herbicida que se destaca por apresentar alta eficiência no combate às ervas daninhas (Amarante Jr. et al. 2002a). O maior emprego ao glifosato se dá no plantio de soja e cana-de-açúcar, no entanto é utilizado em mais de 30 culturas, tais como milho, trigo, arroz, citrus, cacau, café, seringueira, banana, eucalipto, pinho e frutíferas, sendo também empregado na renovação e manutenção de pastagens (Larini, 1999).

Este herbicida é classificado como sistêmico, não seletivo de pós emergência que atua na inibição da enzima 5-enolpiruvilchiquimato-fosfato sintase (EPSPS), que está envolvida na produção de ácidos aminoaromáticos essenciais como fenilalanina, tirosina e triptofano (Monsanto, 2004; Moura, 2009). É comum que, para aumentar a eficiência do glifosato, muitos agricultores o utilizem em conjunto com outros herbicidas, tais como formulados à base de 2,4-D, terbutilazina, atrazina, simazina, alaclor e diuron (Amarante Júnior et al., 2002a).

As principais formulações comerciais disponíveis do glifosato são o Roundup® da empresa Monsanto, Trop® da empresa Milenia, Glifosato® da empresa Fersol S.A., AKB 480® do grupo Kelldrin, GLI-UP 480 SL® da empresa CropChem Ltda., entre outros. Esses produtos recebem a classificação IV pela Anvisa, sendo considerados como pouco tóxicos (Souza, 2006; Antunes, 2013).

Embora sejam abundantes as pesquisas sobre culturas tolerantes, controle de ervas daninhas e propriedades do glifosato, pouco se sabe sobre os efeitos tóxicos diretos desse composto nos ecossistemas. Portanto, a compreensão acerca dos impactos que o glifosato provoca ao ambiente e aos organismos é necessária, e uma das formas de compreender tais impactos é mediante revisões sistemáticas.

Nesse sentido, a avaliação da produção científica possibilita destacar tendências e lacunas sobre determinado assunto, além de orientar estudos futuros, como afirmam Nabout et al. (2012). A respeito de agroquímicos, destacam-se avaliações sobre nanopesticidas (Konur, 2017) e DDT (Yi & Xi, 2008). Além desses trabalhos, Kopp et al., (2007) realizaram uma análise sobre os efeitos descritos de pesticidas em anfíbios.

A cienciometria consiste em uma forma presumivelmente objetiva de avaliar o avanço do conhecimento (Yi & Xi, 2008). Sendo assim, objetivamos com esse estudo



realizar uma análise e relatar o que a literatura científica diz a respeito dos efeitos que o glifosato provoca no ambiente e nos organismos.

Buscamos identificar: (i) a tendência temporal no número de trabalhos publicados; (ii) quais grupos taxonômicos apresentam pesquisas a respeito; (iii) quais os efeitos relatados; (iv) quais compostos são estudados além do glifosato; (v) se esses efeitos são considerados positivos ou negativos para a agricultura e (vi) distribuição de publicações por países.

## 2 METODOLOGIA

A busca foi realizada por meio da seleção de publicações no banco de dados Thompson-ISI (Web of Science) com os termos (“glyphosate\*”) AND (“toxicity\*”). Foram pesquisados os trabalhos que continham essas palavras no título de 1945 (primeiro ano que a base de dados oferece resultados) até 2017.

As seguintes informações foram obtidas: a) ano de publicação, b) agrotóxicos citados (além do glifosato), c) organismos estudados, d) efeitos relatados aos organismos e e) número de publicações por países onde o estudo foi realizado. Além disso, foram colhidas informações se os efeitos do glifosato descritos foram categorizados como positivos ou negativos para a agricultura.

Para avaliação da tendência temporal do efeito do glifosato, foi calculada uma correlação de Pearson ( $P < 0,05$ ) entre ano e número de publicações. A quantidade de publicações por ano foi ponderada pelo número total de publicações para cada ano disponível na base de dados. As demais variáveis foram analisadas de forma qualitativa por meio da leitura de informações disponíveis, como palavras-chave e resumos.

## 3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

### *3.1 Tendência temporal*

Nós encontramos 151 trabalhos publicados com os termos pesquisados entre 1977 (primeiro ano de aparição dos resultados) e 2017. Desse total, 114 publicações foram consideradas, pois as demais (37), embora apresentassem todos os termos

pesquisados no título, não ofereciam informações necessárias para afirmações a respeito de possíveis efeitos do glifosato.

Um aumento significativo no número de publicações foi observado neste período ( $r=0.42$ ;  $p=0.00823$ ). O maior número de trabalhos publicados sobre o tema foi observado no ano de 2013, com 13 publicações a respeito (Figura 1).

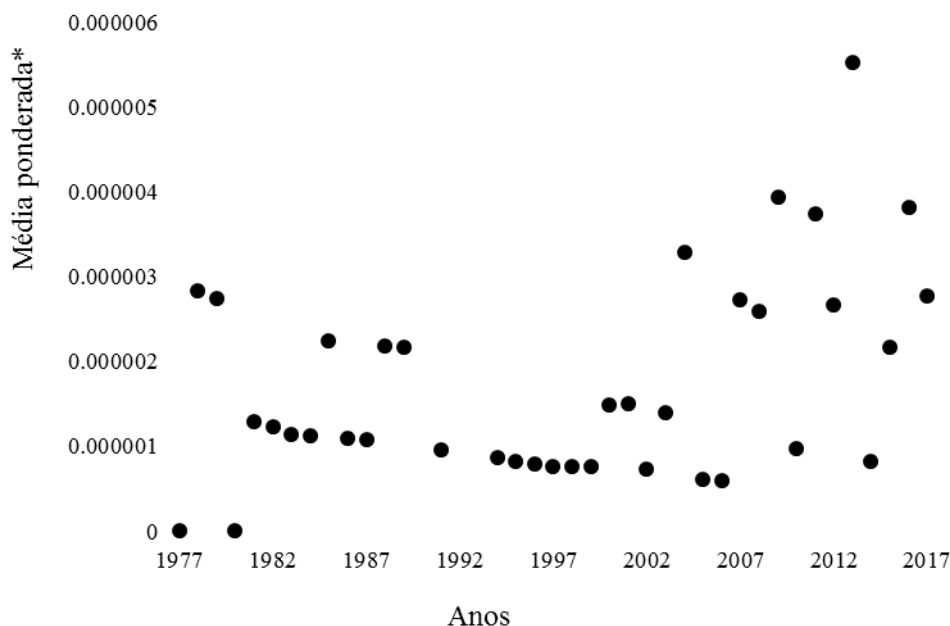


Figura 1. Tendência temporal (1977-2017) sobre efeitos do glifosato a partir de publicações disponíveis no Banco de dados Thomson ISI. \*média ponderada foi calculada entre o número de publicações (a respeito do glifosato) em relação ao número total de publicações na plataforma para cada ano.

A produção científica a respeito dos efeitos do glifosato ao ambiente apresentou um aumento evidente a partir do ano de 2004 ( $n=5$ ). A Monsanto, empresa que patenteou a molécula em 1974, deteve até os anos 2000 a patente do herbicida que, a partir de então, é formulada e comercializada por diversas empresas no mundo (Brito, 2009; Londres 2011).

O fato de uma única empresa ter sido detentora da patente do glifosato por 26 anos induz que pesquisas a respeito fiquem restritas a ela. No entanto, uma vez que o desenvolvimento de formulados e a comercialização do herbicida é ampliado, o número de pesquisas para compreensão dos possíveis danos também aumenta (Brito, 2009; Londres 2011). A nível nacional, o Ministério da Agricultura divulgou em 2010 a

existência de 21 empresas registradas que comercializam 58 produtos à base de glifosato.

O surgimento do plantio de transgênicos, principalmente no Brasil, é um dos fatores que colaboraram para a maior utilização do composto (Londres, 2011). De acordo com Brito (2009), os produtos transgênicos são aqueles que recebem novas sequências gênicas através de técnicas de engenharia genética e com isso passam a expressar características novas. Logo, lavouras que apresentam resistência ao glifosato estão propensas a receberem maiores quantidades do herbicida.

Embora seja possível observar um aumento no número de artigos, este tema ainda é pouco investigado, visto que a quantidade de publicações analisadas é muito baixa em relação ao total de trabalhos publicados no banco de dados para cada ano.

### *3.2 Grupos taxonômicos que apresentam mais pesquisas a respeito*

Nos trabalhos analisados, relata-se efeitos do glifosato em peixes (16%); anfíbios (14%); organismos aquáticos como algas, protozoários, mexilhões, crustáceos e cianobactérias (13%); plantas não alvos (11%); plantas alvos (ervas daninhas, 10%); humanos (10%); invertebrados como hemípteros, minhocas, ácaros (9%); mamíferos não humanos como cães, gatos, ratos e camundongos (8%); bactérias (3%). Além disso, também houveram relatos desse composto como contaminante da água (2%) e do solo (1%) (Figura 2).

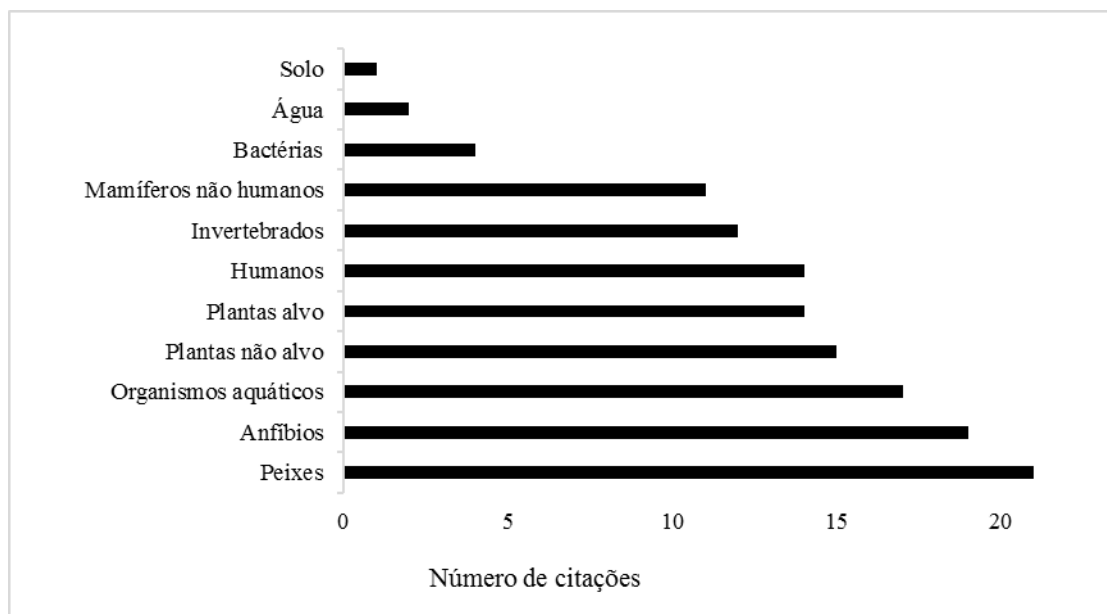


Figura 2. Frequência de publicações categorizadas em grupos taxonômicos que são afetados pelo uso do glifosato.

De toda pesquisa realizada, não encontramos algum trabalho que sintetize os efeitos do glifosato em grupos de organismos. Este fato pode ser decorrente de uma percepção por meio da análise dos resultados, em que o foco geral das pesquisas se concentra mais em avaliar a eficiência do composto do que em verificar os impactos que o herbicida provoca em diferentes formas de vida, bem como discutir seus efeitos aos ecossistemas.

### *3.3 Efeitos relatados*

Os organismos expostos ao glifosato apresentaram diferentes reações devido ao efeito tóxico do composto, seguido por manifestações fisiológicas. Os efeitos estão descritos na tabela 1.

Tabela 1. Descrição dos efeitos do glifosato aos organismos, relato nas publicações analisadas.

Organismos	Toxicidade	Mortalidade	Efeitos
Peixes	aguda	sim	Estresse oxidativo, alteração enzimática, alterações comportamentais, diminuição de peso;
Anfíbios	Aguda	sim	Teratogênicos, alterações enzimáticas, hematológicos;
Organismos aquáticos	Aguda	sim	Inibição de crescimento, diminuição da absorbância de clorofila;
Plantas não alvo	Aguda	sim	Fitotoxicidade;
Plantas alvo	Aguda	sim	Fitotoxicidade;
Humanos	aguda e crônica	sim	Desregulação endócrina, distúrbio hormonal, apoptose, lesão renal, necrose epidérmica, deterioração mental, insuficiência respiratória, arritmia, sintomas oculares e tonteiras;
Invertebrados	Aguda	não	Perda de peso, acúmulo de metal, alteração comportamental, diminuição da reprodução;
Mamíferos não humanos	Aguda	sim	Problemas respiratórios e gastrointestinais, diminuição da reprodução, problemas neurológicos;
Bactérias	Aguda	sim	Inibição de crescimento, alteração enzimática;
Água	-	-	Contaminação;
Solo	-	-	Contaminação.

A toxicidade aguda é decorrente de um único contato (dose única- potência da droga) ou múltiplos contatos (efeitos cumulativos) com o agente tóxico, num período de tempo aproximado de 24 horas, enquanto a toxicidade crônica resulta efeito tóxico após exposição prolongada a doses cumulativas do agente tóxico, num período prolongado, geralmente maior de 3 meses a anos (Anvisa, 2013).

Em seres humanos, a intoxicação aguda foi relatada em pessoas que ingeriram o herbicida na tentativa de suicídio, acidentalmente ou tiveram contato superficial, bem como em trabalhadores rurais. Neste último grupo, houveram relatos de intoxicação crônica, devido a exposição constante dos indivíduos ao glifosato (Seok et al., 2011; Amerio et al., 2004). Dentre os efeitos que mais acometem o trabalhador rural, incluem asma, alergias, sintomas oculares, tonteiras e sintomas dermatológicos (Faria et al., 2009).

Os efeitos de fitotoxicidade relatados nas plantas alvos e não alvos incluem a redução da absorção foliar, do crescimento, da translocação de nutrientes, da resistência à chuva, da taxa fotossintética causando, posteriormente, a morte da planta. Isso ocorre porque o composto é absorvido pelas folhas e translocado por toda a planta, prejudicando a síntese de clorofila, carotenoides, hormônios e vitaminas. Com isso, a planta inicia um processo de amarelamento e necrose foliar que, em dias ou semanas, causa morte. (Rodrigues & Almeida, 1995).

Segundo Paganella & Claro (2003), o glifosato apresenta efeito mutagênico e carcinogênico em células animais e vegetais devido a presença de N-nitrosoglifosato (NNG) que é um composto altamente tóxico derivado do processo de síntese do glifosato. Além disso, esses mesmos autores relatam efeitos na reprodução, com redução na contagem de espermatozoides; diminuição do peso corporal e aumento na divisão celular nos rins e na bexiga de ratos.

A contaminação da água pode ocasionar a eutrofização do ambiente hídrico, como exposto por González-García et al., (2009), enquanto para o solo há o potencial risco de lixiviação, bem como o aumento da concentração de fósforo e nitrato nessa matriz (Gaupp-Berghausen et al., 2015).

### *3.4 Compostos relatados*

Além do glifosato, outros 25 compostos foram descritos como componentes que causam algum efeito ao ecossistema, sendo 15 compostos citados apenas uma vez. Paraquat (n=5), Atrazina e surfactantes (n=4) cada, 2,4-D e cobre (n=3) cada e AMPA, Cipermetrina, Glufosinato, Quinclorac e Triclopir (n=2) cada, foram os compostos que apresentaram a maior quantidade de menções (Figura 3).

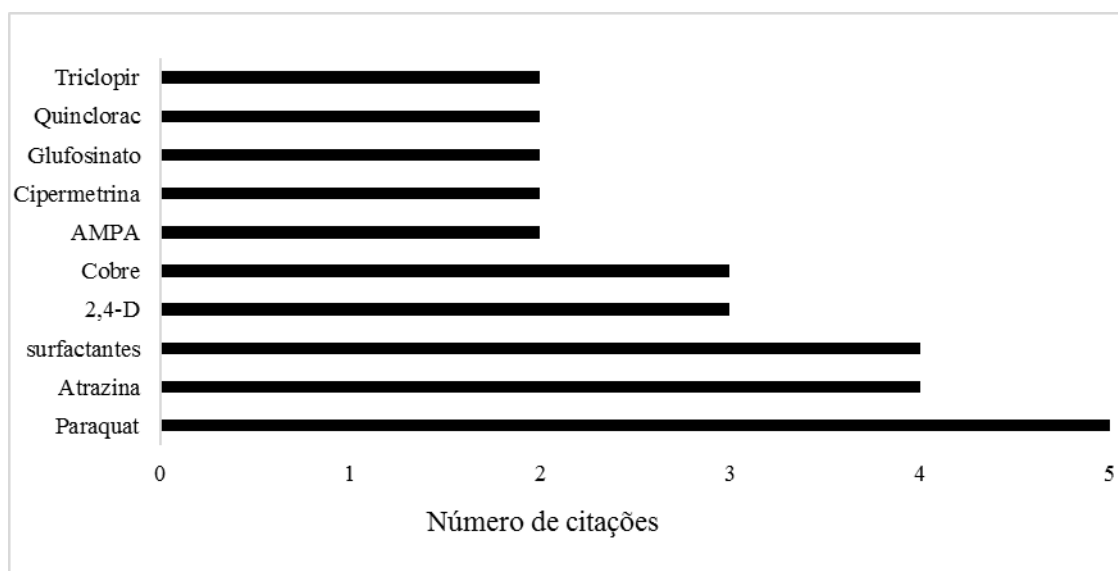


Figura 3. Frequência dos 10 compostos mais citados em associação com o glifosato nas publicações entre os anos de 1977-2017 no Banco de dados Thomson ISI.

No que diz respeito à classificação de todos os compostos, 62% são herbicidas, 11% inseticidas, 8% compreende produtos surfactantes e 19% são elementos químicos, como cobre e arsênio. Os herbicidas são os mais utilizados dentre os agrotóxicos uma vez que o manejo de plantas daninhas é uma prática de grande importância para diminuir as perdas por competição e na colheita e para obtenção de altos rendimentos em qualquer exploração agrícola (Tavella et al., 2011).

Os inseticidas (11% dos resultados analisados) são substâncias químicas utilizadas para matar, atrair e repelir insetos. A descoberta, isolamento, síntese, avaliação toxicológica e de impacto ambiental destes pesticidas, configura um vasto tópico de pesquisas no mundo. Os inseticidas são representados por três grupos: organoclorados, inibidores da colinesterase (fosforados orgânicos e carbamatos) e piretróides naturais e sintéticos (Mariconi, 1963).

Os surfactantes (8% dos resultados analisados) são substâncias adicionadas aos produtos comerciais que aumentam a dispersão/emulsificação, absorção, distribuição,

adesão e/ou penetração de pesticidas no ambiente (Souza et al., 2006). A formulação de maior comercialização do glifosato, Roundup®, é composta por polioxietileno-amina (POEA), um surfactante com ação irritativa dermatológica que confere a esse produto toxicidade maior que o glifosato puro. (Hardell, 1999).

Elementos químicos como o arsênio e metais pesados (19% dos resultados analisados) são comumente utilizados na agricultura em meio às formulações de herbicidas, inseticidas e desfolhantes (Burguera & Burguera, 1993). O cobre também é um elemento químico que se acumula no solo em decorrência do uso a longo prazo de pesticidas fosfatados, como é o caso do glifosato (Zhou et al., 2012).

### 3.5 Efeitos na agricultura

Na busca realizada, identificamos 6 trabalhos que relatam se os efeitos que o glifosato induz nos organismos são benéficos ou não à prática agrícola. Efeitos de caráter negativo são descritos por Gomes et al. (2016), relatando que a adição de fosfato recorrente no solo induz a maior absorção do glifosato pelo cultivar de salgueiro (*Salix miyabeana* SX64), causando toxicidade nos indivíduos. As espécies de *Salix* são plantas pioneiras comuns em margens de rios ou locais encharcados em terras baixas (Tamura & Kudo, 2000).

Da mesma forma, Singh et al. (2017) descrevem que a adição de óxido nítrico em ervilhas verdes (*Pisum sativum* L.), tratadas com o herbicida, protege essas plantas do estresse oxidativo induzido pelo glifosato. Sendo assim, a utilização desse herbicida é prejudicial para ervilhas se não houver o acréscimo desse composto químico pertencente uma família de poluentes ambientais indesejáveis e carcinógenos potenciais (Dusse et al., 2003).

Um efeito de caráter positivo para agricultura, além dos relatados para organismos alvo, é descrito por Saraiva et al. (2016). Neste trabalho, os autores investigaram os efeitos do glifosato em duas espécies de ácaros (*Polyphagotarsonemus latus* e *Tetranychus bastosi*) e relataram efeitos comprometedores na reprodução de ambas as espécies. Esses artrópodes são considerados pragas em plantações de pinhão-mansão e são expostos ao herbicida por residirem e se alimentarem da cultura e também



de plantas invasora. Este efeito foi considerado positivo para agricultura em decorrência do controle indireto de uma espécie praga não alvo do herbicida.

### 3.6 Distribuição de publicações por países

Vinte e quatro países apresentam pesquisas sobre dos efeitos do glifosato, sendo os Estados Unidos o maior produtor científico a respeito (27,8%), seguido pelo Brasil (7,9%), Canadá (7,2%), Argentina, França e China (6,6%) cada (Figura 4).

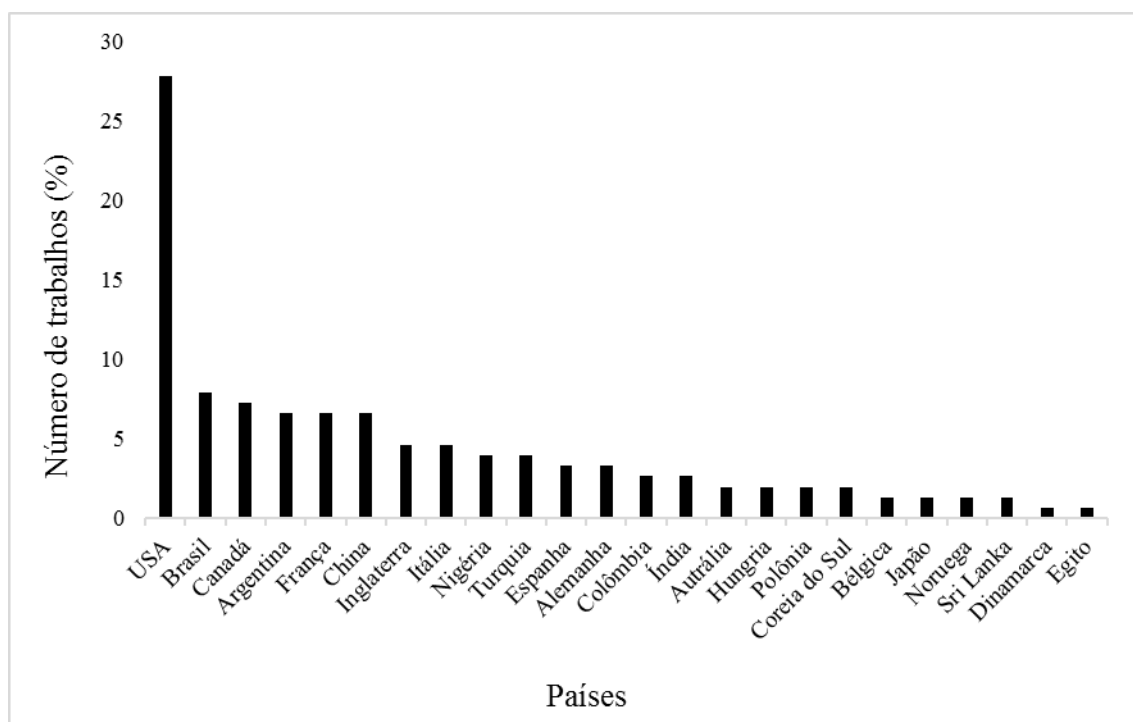


Figura 4. Distribuição em porcentagem de publicações que relatam dos efeitos do glifosato nos organismos e ambiente por países entre os anos de 1977-2017 no Banco de dados Thomson ISI.

## 4 CONCLUSÃO

O recorte realizado neste estudo nos mostra a pouca preocupação em relatar os efeitos que o glifosato causa no ambiente e nos organismos, uma vez que as informações obtidas estão restritas às publicações disponíveis no banco de dados e, assim, assume-se que podem existir outras publicações que abordem os efeitos do glifosato e que não foram analisadas devido o recorte amostral desse trabalho.

O grupo de organismos mais relatados neste trabalho compreende os peixes. No entanto, não há uma frequência discrepante entre peixes e os demais grupos também expostos nos resultados. Logo, esse estudo apresenta uma variedade de grupos taxonômicos, não cabendo generalizações ou inferências.

Quanto aos efeitos colaterais, há uma ampla variedade de impactos expostos desde a morte do organismo à problemas comportamentais, reprodutivos e populacionais. O glifosato, apresenta efeitos colaterais em organismos não-alvos que são timidamente pesquisados e relatados. A preocupação das pesquisas sobre o efeito do glifosato tende-se mais na compreensão da eficácia do composto e não na preocupação dos impactos que esse herbicida pode causar.

A respeito dos demais compostos relatados nesse estudo, outros 25 são relatados em associação com o glifosato, sendo que 38% dos pesticidas citados não pertencem ao grupo de herbicidas. A junção de glifosato a outros compostos comumente lançados em culturas, como fertilizantes, ocasiona efeitos negativos em plantas não-alvo, bem como em ácaros.

Assim, a emprego do glifosato deve ser melhor discutido, uma vez que seu uso isolado demonstra efeitos pouco eficazes aos organismos alvo justificando a utilização em conjunto com outros pesticidas. Ao mesmo tempo, o uso combinado ocasiona efeitos prejudiciais à organismos não-alvo.

Conclui-se que futuros estudos devem investigar os impactos causados pelo glifosato, visto que esse herbicida é um dos mais utilizados no mundo. Associado a isso, destaca-se a importância do aumento de estudos sobre os efeitos dos pesticidas aos ecossistemas, concentrando esforços nas consequências diretas aos organismos não alvos, incentivando assim, a compreensão sobre os mecanismos de ação dos diferentes compostos.

## 5 REFERÊNCIAS

- Amarante Junior, OP.; Santos, TCR. Glifosato: Propriedades, Toxicidade, Usos e Legislação. *Química Nova*, v. 25, no 4, p.589-593, 2002a.
- Amerio, P., Motta, A., Toto, P., Pour, SM., Pajand, R., Feliciani, C., & Tulli, A. 2004. Skin Toxicity from Glyphosate-Surfactant Formulation. *Journal of Toxicology: Clinical Toxicology*, 42(3), 317–319. doi:10.1081/clt-120038769
- Antunes, AM. 2013. Avaliação da exposição aguda e sub-letal ao Glifosato (N-fosfometil-glicina) e ao AMPA (ácido amino-metil-fosfônico) em brânquias e fígado de *Poecilia reticulata* com o emprego de biomarcadores moleculares e morfológicos/ Adriana Maria Antunes. Dissertação (Mestrado) Universidade Federal de Goiás. 68 p.
- ANVISA - Agência Nacional de Vigilância Sanitária Guia para a condução de estudos não clínicos de toxicologia e segurança farmacológica necessários ao desenvolvimento de medicamentos. Gerência de Avaliação de Segurança e Eficácia – GESEF/ANVISA. 48 p., 2013.
- Brito FEM. 2009 O admirável mundo sombrio anunciado pela Monsanto. O Olho da História, Salvador (BA).
- Burguera, M.; Burguera, JL. 1993 Flow injection–electrothermal atomic absorption spectrometry for arsenic speciation using the Fleitmann reaction. *J. Anal. At. Spectrom.* 8, 229.
- Dusse, LMS.; Vieira, LM.; Carvalho, MG. 2003. Revisão sobre óxido Nítrico *Rio de Janeiro*, v. 39, n. 4, p. 343-350.
- Faria, NMX., Rosa, JAR., Facchini, LA. 2009. Intoxicações por agrotóxicos entre trabalhadores rurais de fruticultura, Bento Gonçalves, RS *Rev Saúde Pública* 2009;43(2):335-44
- Gaupp-Berghausen, M., Hofer, M., Rewald, B., & Zaller, J. G. 2015. Glyphosate-based herbicides reduce the activity and reproduction of earthworms and lead to increased soil nutrient concentrations. *Scientific Reports*, 5(1). doi:10.1038/srep12886

- Gomes, MP., Le Manac'h, SG., Smedbol MME., Paquet S., Labrecque, M., Lucotte, M., Juneau, P. 2016 Impact of phosphate on glyphosate uptake and toxicity in willow, *Journal of Hazardous Materials* <http://dx.doi.org/10.1016/j.jhazmat.2015.10.043>
- González-García, S., Berg, S., Moreira, MT., Feijoo, G. 2009. Evaluation of forest operations in Spanish eucalypt plantations under a life cycle assessment perspective. *Scandinavian Journal of Forest Research*, 24(2), 160–172. doi:10.1080/02827580902773462
- Hardell, L., Eriksson, M. 1999. A case-control study of non-Hodgkin lymphoma and exposure to pesticides. *Cancer, Lund*, Vol. 85, 1353-1360.
- Konur, O. 2017. Scientometric overview in nanopesticides. *New Pesticides and Soil Sensors*, 719–744. doi:10.1016/b978-0-12-804299-1.00020-5
- Kopp, K., Filho, NRA., Alves, MIR., Bastos, RP. 2007. Publicações Sobre Efeitos de Pesticidas em Anfíbios no Período de 1980 a 2007. *Revista Multiciência*. Edição no. 8. Campinas
- Larini, L. *Toxicologia dos praguicidas*. São Paulo: Manole, 1999. 230p.
- Londres, F. *Agrotóxicos no Brasil – Um guia para ação em defesa da vida*. Rio de Janeiro: AS-PTA – Assessoria e Serviços a Projetos em Agricultura Alternativa, 2011.
- Mariconi, FA. 1963. *Inseticidas e seu Emprego no Combate às Pragas*, 2a. ed., Agron. Ceres Ltda.: São Paulo.
- Monsanto Company, Pledge Report, p. 22- 47, 2004.
- Moura, EES. 2009 Determinação da toxicidade aguda e caracterização do risco ambiental do herbicida Roundup (glifosato) sobre três espécies de peixes. Natal-RN: Universidade Federal do Rio Grande do Norte. 45f.
- Nabout, J.C.; Carvalho, P.; Prado, M.U.; Borges, P.P.; Machado, K.B.; Haddad, K.B.; Michelin, T.S.; Cunha, H.F.; Soares, T.N. 2012. Trends and Biases in Global Climate Change Literature. *Natureza & Conservação*, 10(1):45-51
- Paganella, F.; Claro, JA. 2003. *Agrotóxicos que afetam a vida*. Sobradinho, PR [disponível em <http://www.acquacontato.hpg.ig.com.br/agrotoxicos.htm>].

- Rodrigues, BN.; Almeida, FS. Guia de herbicidas. 3<sup>o</sup> Edição. Londrina: IAPAR, 1995.
- Saraiva, AS., Sarmiento, RA., Pedro-Neto, M., Teodoro, AV., Erasmo, EAL., Belchior, DCV., de Azevedo, EB. 2016. Glyphosate sub-lethal toxicity to non-target organisms occurring in *Jatropha curcas* plantations in Brazil. *Experimental and Applied Acarology*, 70(2), 179–187. doi:10.1007/s10493-016-0078-6
- Seok, SJ., Park, JS., Hong, JR., Gil, HW., Yang, JO., Lee, EY., Hong, SY. 2011. Surfactant volume is an essential element in human toxicity in acute glyphosate herbicide intoxication. *Clinical Toxicology*, 49(10), 892–899. doi:10.3109/15563650.2011.626422
- Singh, S., Singh, S., Srivastava, PK., Singh, VP., Singh, S., Chauhan, DK. 2017. Nitric oxide alleviates silver nanoparticles (AgNps)-induced phytotoxicity in *Pisum sativum* seedlings. *Plant Physiology and Biochemistry*, 110, 167–177. doi:10.1016/j.plaphy.2016.06.015
- Souza, TA.; Matta, MHR., Montagner, E., Abreu, ABG. 2006. Estudo de recuperação de glifosato e AMPA derivados em solo utilizando-se resinas nacionais. *Química Nova*, v. 29, n.6, p. 1372-1376.
- Tamura, S. & Kudo, G. 2000. Wind pollination and insect pollination of two temperate willow species, *Salix miyabeana* and *Salix sachalinensis*. *Plant Ecology* 147: 185. <https://doi.org/10.1023/A:1009870521175>
- Tavella, LB., Silva, IN., Fontes, LO., Dias, JRM., Silva, MIL. 2011. O uso de agrotóxicos na agricultura e suas consequências toxicológicas e ambientais. *ACSA - Agropecuária Científica no Semi-Árido*, v.07, n.02.
- Yi, H., Xi, Z. 2008 Trends of DDT research during the period of 1991 to 2005 *Scientometrics*, Vol. 75, No. 1 (2008) 111–122.
- Zhou CF., Wang YJ., Yu YC. 2012 Does glyphosate impact on Cu uptake by, and toxicity to, the earthworm *Eisenia fetida*? *Ecotoxicology* 21:2297–2305. doi: 10.1007/s10646-012-0986-0

## **Capítulo 2: UM ESTRANHO NO NINHO: UMA ESTIMATIVA DE GLIFOSATO EM CUPINS EM FRAGMENTOS DE CERRADO**

### RESUMO

Os cupins compreendem um dos grupos dominantes na fauna do solo e prestam importantes serviços ecossistêmicos. Com as atividades de forrageamento, esses insetos podem ingerir materiais contaminados com agrotóxicos lançado em lavouras. Neste trabalho, nós buscamos estimar a termitofauna da Floresta Nacional de Silvânia e averiguar a toxicidade do herbicida glifosato em operários de *Cornitermes*. Especificamente, procuramos determinar a Dose Letal média (DL50) em 24 horas e verificar a presença do glifosato em operários coletados próximo a lavouras que utilizam o glifosato. Foram amostrados 31 gêneros de cupins pertencentes a 4 famílias. Para detecção foi construída uma curva analítica do glifosato entre 50 e 650 ppb, no entanto as amostras ambientais não apresentaram vestígios desse composto. Os dados de mortalidade coletados durante o teste de Dose Letal média (DL50) permitiram determinar o valor de 16 ppm como DL50 do Glifosato em operários de *Cornitermes silvestrii*.

Palavras-chave: Herbicida, Térmitas, Espectrometria de massas

## CHAPTER 2: A STRANGER IN THE NEST: AN ESTIMATE OF GLYPHOSATE IN TERMITES IN SAVANNA FRAGMENTS

### ABSTRACT

Termites comprise one of the dominant groups in soil fauna and provide important ecosystem services. With foraging activities, these insects can ingest contaminated materials with pesticides released into crops. In this work, we sought to estimate the termitofauna in the National Forest of Silvânia and to investigate the toxicity of the glyphosate herbicide in *Cornitermes* workers. Specifically, we sought to determine the mean Lethal Dose (LD50) in 24 hours and to verify the presence of glyphosate in workers collected near crops that use glyphosate. 31 genera of termites belonging to 4 families were sampled. For detection, an analytical curve of glyphosate was constructed between 50 and 650 ppb, however the environmental samples did not show traces of this compound. Mortality data collected during the Mean Lethal Dose (LD50) test allowed the determination of the value of 16 ppm as LD50 of Glyphosate in workers of *Cornitermes silvestrii*.

Key-words: Herbicide, Termite, Mass Spectrometry

## 1 INTRODUÇÃO

Os cupins compõem um dos grupos dominantes de invertebrados do solo nos ecossistemas tropicais (Wilson, 1971; Wood & Sands, 1978; Eggleton et al., 1996). Pertencem à infraordem Isoptera com pouco mais de 3000 espécies no mundo sendo que aproximadamente 550 encontram-se na região Neotropical. Embora esses insetos sejam considerados praga, dentre todas as espécies de cupins, 12% são relatadas na literatura como destrutivas e apenas 3,5% são consideradas ameaças sérias (Krishna et al., 2013).

É comum a utilização de inseticidas como o Fipronil, Imidaclopride, Deltametrina e Clorpirifós no combate à proliferação de ninhos, principalmente em pastagens (Fadini et al., 2001; Valério et al., 1998). Esses produtos, portanto, possuem ação específica contra insetos, no entanto, a utilização de pesticidas em lavouras é ampla e constituem o uso de diferentes formulações de fungicidas e herbicidas (Bombardi, 2017). A ampla utilização desses compostos pode interferir na saúde de organismos não alvo, bem como aumentar a persistência desses compostos no ambiente (Antunes, 2013; Bombardi, 2017).

Para o glifosato, Newton et al. (1994) por meio de estudos conduzidos, acharam vestígios em amostras de solo com até 409 dias após a contaminação. Nomura e Hilton (1977) relatam que a mineralização completa do glifosato pode atingir valores da ordem de até 22,7 anos. Esse herbicida ao atingir o solo entra em contato com a grande diversidade de organismos que o habitam, afetando na qualidade do substrato (Valarini et al., 2007).

A literatura fornece relatos de efeitos colaterais sobre a fauna e organismos do solo, que incluem mudanças comportamentais em minhocas, interferindo na atividade de formação do solo (Van Hoesel et al., 2017; Gaupp-Berghausen et al., 2015), alterações nos processos de micorrização (Zaller et al., 2014). Para cupins esses relatos são inexistentes.

Os cupins possuem hábitos alimentares diversos (Lima & Costa-Leonardo, 2007) e os indivíduos do gênero *Cornitermes* são bem conhecidos devido à abundância no Cerrado, principalmente em pastagens e plantações onde são considerados praga (Fernandes et al., 1998). Isso se deve por esses insetos ingerirem, além do solo para a



construção de seus ninhos, materiais na superfície como gramas e folhas verdes (Mathews, 1977).

O forrageio é um comportamento coletivo, sem controle central e que envolve tanto a exploração do ambiente quanto a comunicação entre os ninhos. O padrão de comunicação sobre a localização de alimentos entre os cupins foca em trilhas de feromônios (Traniello e Leuthold, 2000). As colônias de *Cornitermes cumulans* exploram o ambiente aleatoriamente em todas as direções, retrabalham estruturas densas e reagregam as partículas do solo para construção de galerias (Oliveira et al., 2012).

Partimos da premissa que, com a atividade de forrageamento em busca de alimento, esses insetos ingerem os recursos contaminados pelo glifosato, agregam esse composto em seus corpos, ninhos e, conseqüentemente, em outros organismos que se relacionam e são influenciados pelas atividades dos cupins no ambiente.

Dessa forma, sabendo a importância do papel ecológico desses insetos e a falta de informações sobre os efeitos do glifosato em cupins, nosso objetivo é estimar a termitofauna em fragmentos de Cerrado e averiguar a toxicidade do glifosato em operários de *Cornitermes*. Para tanto, especificamente, procuramos determinar a Dose Letal média (DL50) em ensaios de laboratório para *Cornitermes silvestrii* e verificar a presença do glifosato em operários de *Cornitermes cumulans* presentes próximo a plantações em ambientes naturais. Hipotetizamos que ninhos próximos aos plantios apresentam contaminação.

## 2 METODOLOGIA

### 2.1 Amostras ambientais

#### 2.1.1 Local de coleta das amostras ambientais

A coleta das amostras ambientais foi realizada em fragmentos de cerrado *stricto sensu*, dentro da Floresta Nacional de Silvânia (Flona), em Silvânia, Goiás e em fragmentos no entorno próximo à extensas lavouras de soja e milho (Figura 5). A Flona, sob administração do Instituto Chico Mendes de Conservação da Biodiversidade (ICMBio) desde 2007, está localizada na região leste do estado de Goiás (16°38'30.0" S e 48°39'02.5" W) integrando o grupo de Unidades de Conservação (UCs) de Uso

Sustentável, com uma área de 486,607 ha e um perímetro de 8.657,89m (ICMBio, 2015).

A área do entorno é composta por diversas propriedades particulares com enfoque agropecuário de grande influência na economia da região, sendo a paisagem composta por pastagens, lavouras de soja, milho, sorgo e eucalipto e alguns fragmentos de cerrado, matas de galeria e floresta estacional. O clima da região, segundo a classificação de Köppen é do tipo Aw-Tropical Úmido com inverno seco e verão chuvoso, com precipitação pluvial variando entre 1200 a 1800 mm (SEPLAN, 2005).

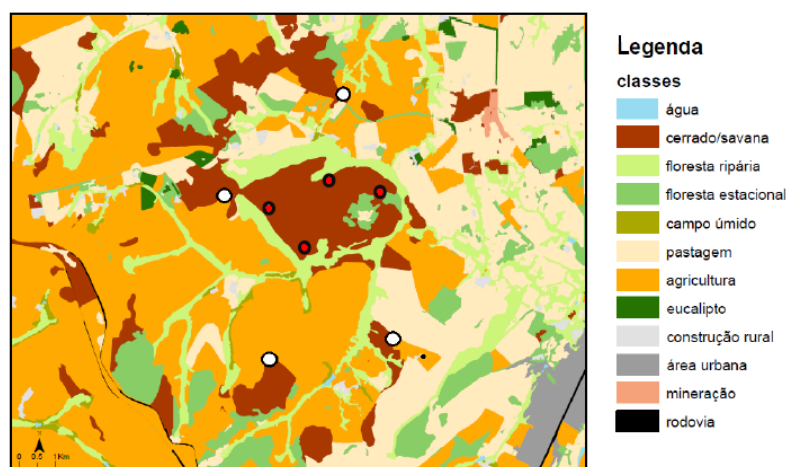


Figura 5. Localização da Flona (ao centro da imagem) e região de entorno composta por lavouras e pastagens. Círculos em vermelho indicam as coletas realizadas dentro da Flona e círculos em branco indicam as coletas realizadas no entorno. Fonte: PELD COFA

### 2.1.2 Amostragem dos ninhos e coleta

As coletas foram realizadas em duas etapas, a primeira no início do período chuvoso (novembro de 2017) dentro da Flona, a segunda no auge da chuva (janeiro de 2018) na região do entorno. Esse período foi condizente com o calendário de lançamento de pesticidas nas lavouras da região. No entorno, as coletas foram realizadas na borda de quatro parcelas representativas de cerrado *stricto sensu* próximas a lavouras de milho e, predominantemente, soja (Figura 6).

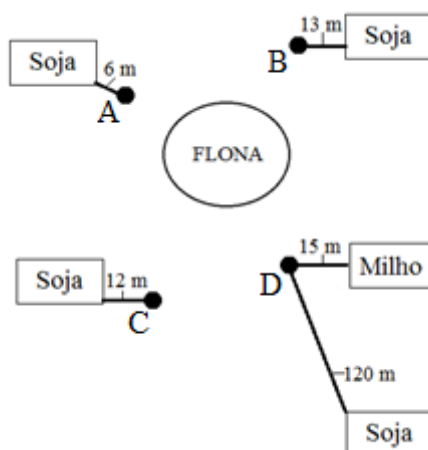


Figura 6. Ilustração dos pontos de coleta no entorno da Flona, com as distâncias entre os ninhos amostrados e as lavouras mais próximas. Fonte: próprio autor.

Durante as coletas, dois tipos de amostras para cada ninho foram realizados: um dos cupins para inserção na coleção de Isoptera do Laboratório de Pesquisa Ecológica e Educação Científica (Lab-PEEC) da Universidade Estadual de Goiás, e outro para análises de detecção de glifosato. Para o primeiro, os indivíduos foram coletados com pinças entomológicas e armazenados em frascos de vidro com batoque contendo álcool 80%. Em laboratório, foram identificados com o auxílio de chaves de identificações para cupins e adicionados na coleção de Isoptera do Lab-PEEC.

Na coleta das amostras para análises de detecção, os operários de *C. cumulans* foram condicionados em frascos de vidro sem álcool, vedados com batoques e armazenados em congelador a fim de evitarmos grandes perdas do composto investigado por degradação e para preservarmos os organismos.

## 2.2 Amostras experimentais

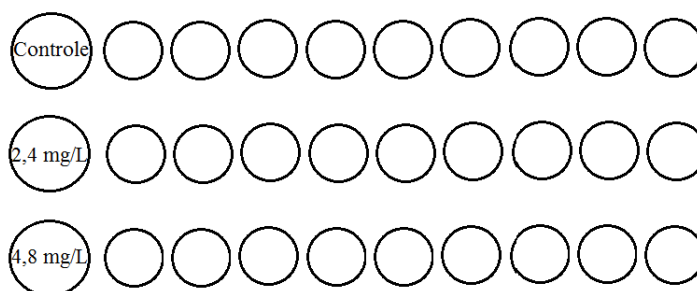
### 2.2.1 Coleta para bioensaios

Os bioensaios foram conduzidos na Universidade Estadual de Goiás, Campus Henrique Santillo, localizado na BR 153 (16°22'34'' S e 48°56'51'' W), Anápolis - Goiás. Para cada dia de experimento realizado, foram coletados porções de um ninho de *Cornitermes silvestrii* presente na Unidade de conservação da universidade, próximo ao Lab-PEEC. Apenas os operários foram selecionados com o auxílio de pinças entomológicas e utilizados nos testes para determinação DL50.

### 2.2.2 Procedimentos experimentais para determinação da DL50

Foram realizados dois experimentos. O primeiro com doses nos valores de 2,4 e 4,8 mg/L e o segundo com concentrações de 16 e 48 mg/L do produto comercial AKB Glifosato 480 da Kelldrin® (Figura 7). As concentrações do produto comercial utilizadas nos tratamentos do primeiro experimento partiram dos valores utilizado nas lavouras e permitidas pela Anvisa.

Experimento 1: Concentrações permitidas pela legislação para uso em lavouras



Experimento 2: Concentrações acima das permitidas pela legislação

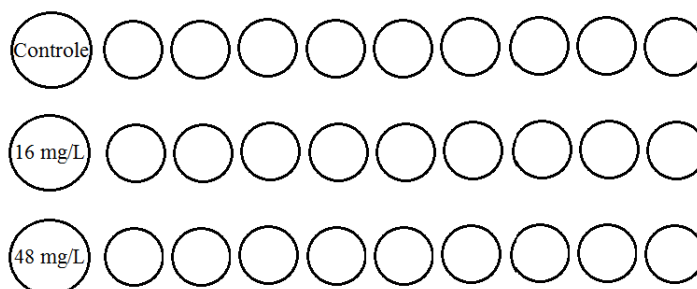


Figura 7. Ilustração do preparo dos bioensaios divididos em experimentos 1 e 2 para determinação da DL50 do glifosato em operários de *Cornitermes silvestrii*.

Cada experimento continha 30 arenas, sendo 10 para cada tratamento (Controle, T1 e T2). Foram realizadas duas e quatro repetições para o experimento 1 e 2, respectivamente. Os operários selecionados foram divididos em grupos de 10 indivíduos e colocados em placas de Petri de 100mm (arenas) forradas com papel filtro. Todos os operários pertenciam ao mesmo ninho e foram confinados seguindo a densidade de 0.146 pela área da placa, que garante a máxima sobrevivência dos indivíduos (DeSouza & Miramontes, 2004; Miramontes & DeSouza, 1996).

Após 30 minutos de ambientação dos operários nas arenas, os indivíduos receberam um volume de 240  $\mu\text{L}$  (por arena) do contaminante de acordo com as concentrações descritas na figura 7. As arenas foram vedadas com plástico filme perfurado com agulha para oxigenação dos indivíduos e, logo após, incubadas em uma estufa incubadora BOD com temperatura constante ( $25^{\circ}\text{C} \pm 0.5$ ) e escuro.

Após 24 horas os operários foram contabilizados em vivos e mortos. Os dados coletados após esse período foram analisados com o teste de análise de variância com comparações múltiplas de dados não paramétricos (Kruskal-Wallis) adotando-se nível de significância igual a 5% ( $P < 0,05$ ).

### *2.3 Análise e detecção de glifosato*

#### *2.3.1 Problemas*

Inicialmente tínhamos como meta a realização de técnicas cromatográficas para detecção do glifosato e AMPA (principal produto da degradação do glifosato) nas amostras ambientais. No entanto, devido à impedimentos técnicos que incluíram (i) a universidade possuir um cromatógrafo inoperante e (ii) empresas que poderiam realizar as análises de detecção não trabalharem com as matrizes deste estudo (cupim e solo) e/ou com o glifosato devido à complexidade do composto, novas alternativas foram buscadas.

Com o apoio e parceria da professora Andréa Chaves no Laboratório de Cromatografia e Espectrometria de Massas (LaCEM), no Instituto de Química da Universidade Federal de Goiás, partimos na tentativa de detectarmos o glifosato e AMPA com a técnica de espectrometria de massas, sem etapas de derivatização, visto a ausência de derivatizantes. Essa técnica demanda tempo na fase de construção de um método e de estabelecimento das condições do espectrômetro. A determinação das condições do equipamento para o AMPA ainda não foi possível devido a dificuldades de ionização da molécula e, com isso, após algumas tentativas para o AMPA, concentramos o foco e esforços apenas no glifosato. **Espectrometria de massas**

### 2.3.2 Determinação do padrão do glifosato

Para detectarmos o glifosato nas amostras ambientais, foi necessária a construção de uma curva analítica desse composto. Para tanto, foram preparadas concentrações entre 50 e 800 partes por bilhão (ppb) do produto padrão a partir de uma solução estoque de 1mg/mL (Figura 8). A melhor linearidade obtida compreendeu até 650 ppb.

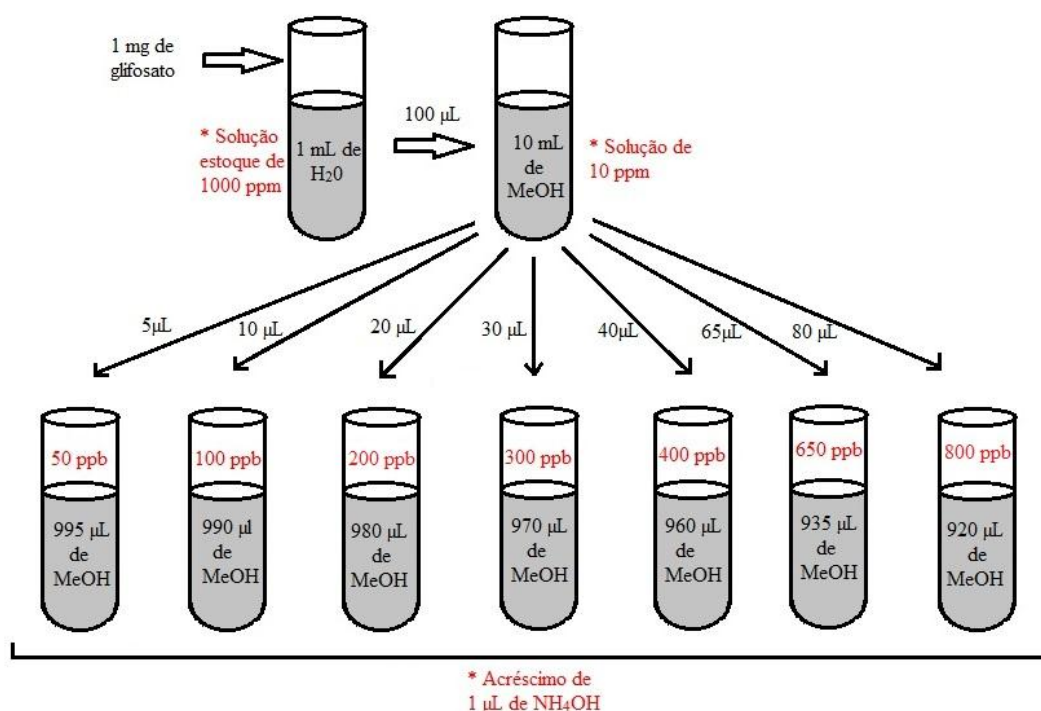


Figura 8. Ilustração da metodologia utilizada no preparo do produto padrão do glifosato para construção da curva analítica. Fonte: própria autora

### 2.3.3 Preparo das amostras

O preparo da amostra dos operários de *Cornitermes* para análise de glifosato consistiu na metodologia de modificada de Azevedo et al. (2006). Neste trabalho 10 indivíduos foram mergulhados em 1ml de água deionizada, macerados e centrifugados por 5 minutos. Após essa etapa o sobrenadante foi filtrado com filtro seringa e diluído em metanol. Foi acrescentado 20 µL de hidróxido de amônio a fim de melhorar a ionização do glifosato, caso este esteja presente nas amostras (Figura 9).

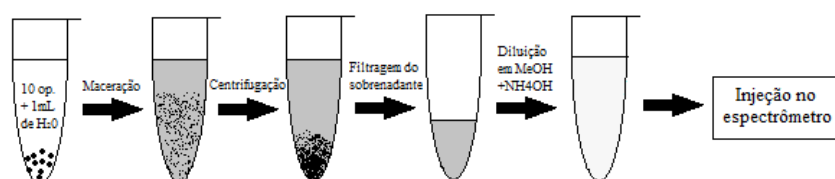


Figura 9. Ilustração da metodologia utilizada no preparo das amostras, para análise de glifosato em operários de *Cornitermes*. Fonte: Própria autora

### 2.3.4 Análise por Espectrometria de massa

Para investigar a presença do glifosato nos operários, utilizamos o método de espectrometria de massas por meio de injeção direta com o espectrômetro Microtof-q iii da marca Bruker equipado com uma fonte de ionização por eletrospray (ESI). O equipamento foi operado no modo negativo de ionização e no software do gerenciador OtofControl. O nitrogênio de alta pureza (99,999%) foi usado como gás de secagem (4,0 L/min); a temperatura do gás e vaporizador era de 200 °C; e a voltagem do capilar foi 5000 V.

O glifosato foi identificado com base na medição da carga/massa do íon, que para o analito deste trabalho é 168.00, uma vez que operamos o equipamento no modo negativo e comparado com os valores obtidos com a curva do padrão de referência.

## 3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 3.1 Termitofauna

De todo material coletado e conservado foram registrados 31 gêneros de cupins, distribuídos em quatro famílias e sete subfamílias: Kalotermitidae (2), Heterotermitinae (1), Serritermitinae (1), Apicotermitinae (3), Nasutitermitinae (5), Termitinae (8) e Syntermitinae (11) (Tabela 2). Esses insetos são distribuídos em nove famílias no mundo, sendo que no Brasil ocorrem quatro famílias com cerca de 300 espécies (Constantino, 2015). No presente trabalho, foram amostrados e identificados representantes de todas as famílias encontradas no país: Kalotermitidae, Rhinotermitidae, Serritermitidae e Termitidae.

Tabela 2. Lista de gêneros e espécies amostrados na Flona e entorno. Silvânia-GO.

<b>Família Kalotermitidae</b>	<b>Subfamília Termitinae</b>
<i>Eucryptotermes wheeleri</i>	<i>Cavitermes tuberosus</i>
<i>Neotermes</i> sp. 1	<i>Cylindrotermes</i> cf. <i>brevipilosus</i>
<i>Neotermes</i> sp. 2	<i>Dentispicotermes cupiporanga</i>
<b>Família Rhinotermitidae</b>	<i>Microcerotermes</i> sp.
<b>Subfamília Heterotermitinae</b>	<i>Neocapritermes taracua</i>
<i>Heterotermes longiceps</i>	<i>Orthognathotermes aduncus</i>
<i>Heterotermes tenuis</i>	<i>Orthognathotermes humilis</i>
<b>Família Serritermitidae</b>	<i>Spinitermes trispinosus</i>
<b>Subfamília Serritermitinae</b>	<i>Termes</i> sp.
<i>Serritermes serrifer</i>	<b>Subfamília Syntermitinae</b>
<b>Família Termitidae</b>	<i>Armitermes</i> sp.
<b>Subfamília Apicotermitinae</b>	<i>Cornitermes cumulans</i>
<i>Anoplotermes</i> sp1	<i>Curvitermes minor</i>
<i>Anoplotermes</i> sp2	<i>Curvitermes odontognathus</i>
<i>Anoplotermes</i> sp3	<i>Cyrelliotermes strictinasus</i>
<i>Aparatermes</i> sp.	<i>Embiratermes</i> sp1
<i>Ruptitermes atyra</i>	<i>Embiratermes robustus</i>
<b>Subfamília Nasutitermitinae</b>	<i>Labiotermes brevilabius</i>
<i>Agnathotermes</i> cf. <i>crassianus</i>	<i>Mapinguaritermes</i> sp.
<i>Cyranotermes timuassu</i>	<i>Procornitermes triacifer</i>
<i>Nasutitermes pilosus</i>	<i>Rhynchotermes</i> sp.
<i>Nasutitermes</i> sp.	<i>Silvestritermes euamignathus</i>
<i>Subulitermes</i> sp.	<i>Silvestritermes holmgreni</i>
<i>Subulitermes</i> cf. <i>microsoma</i>	<i>Syntermes</i> sp. 1
<i>Velocitermes</i> sp.	<i>Syntermes</i> sp. 2
	<i>Syntermes</i> sp. 3

### 3.2 Curva analítica do padrão do glifosato

A curva analítica que apresentou o melhor ajuste exibiu os valores de 50 a 650 ppb (Figura 10). Estes valores se encontram dentro do permitido pela Anvisa para a saúde humana, que compreende 500 ppb (Brasil, 2005). Além disso, outros órgãos que regulamentam os níveis permitidos de glifosato, consideram aceitável até 280 e 700 ppb em água potável no Canadá e Estados Unidos respectivamente (Health Canadá, 2017; Barceló, 1993).



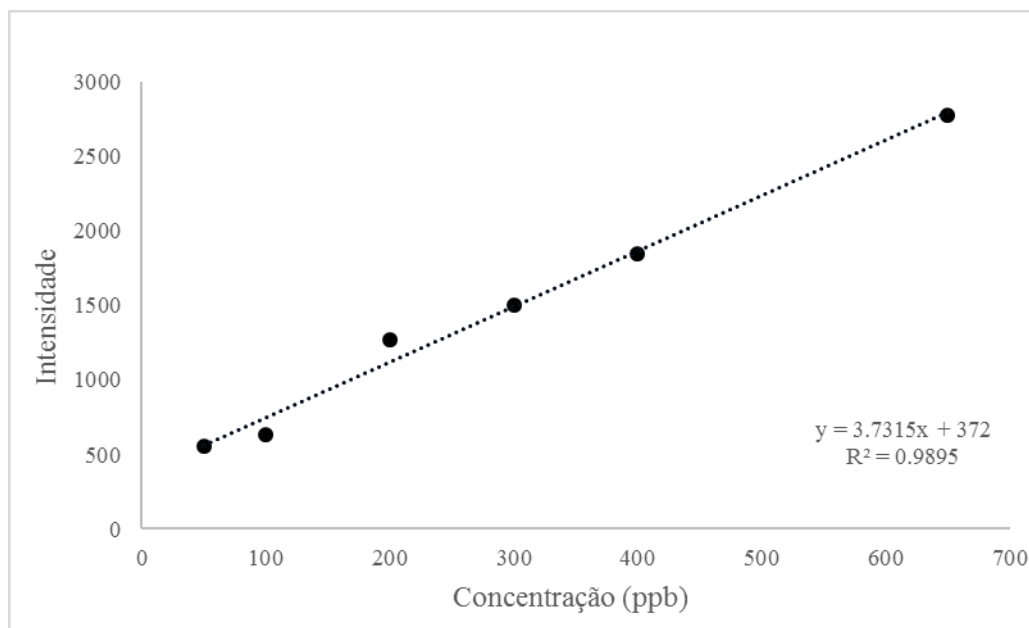


Figura 10. Curva analítica do padrão de glifosato com concentrações entre 50 e 650 ppb.

### 3.3 Detecção do Glifosato nas amostras ambientais

Nas condições analisadas não foi possível a visualização do íon de 168, m/z, que compreende o glifosato. (Figura 11). Este fato pode estar relacionado ao tempo de amostra, visto que as análises foram realizadas um ano após as coletas, assim como, caso haja o composto ele tenha sido degradado em AMPA. Outro fator provável nas amostras ambientais está relacionado a presença de outros íons mais intensos que podem estar suprimindo a possível carga do glifosato.

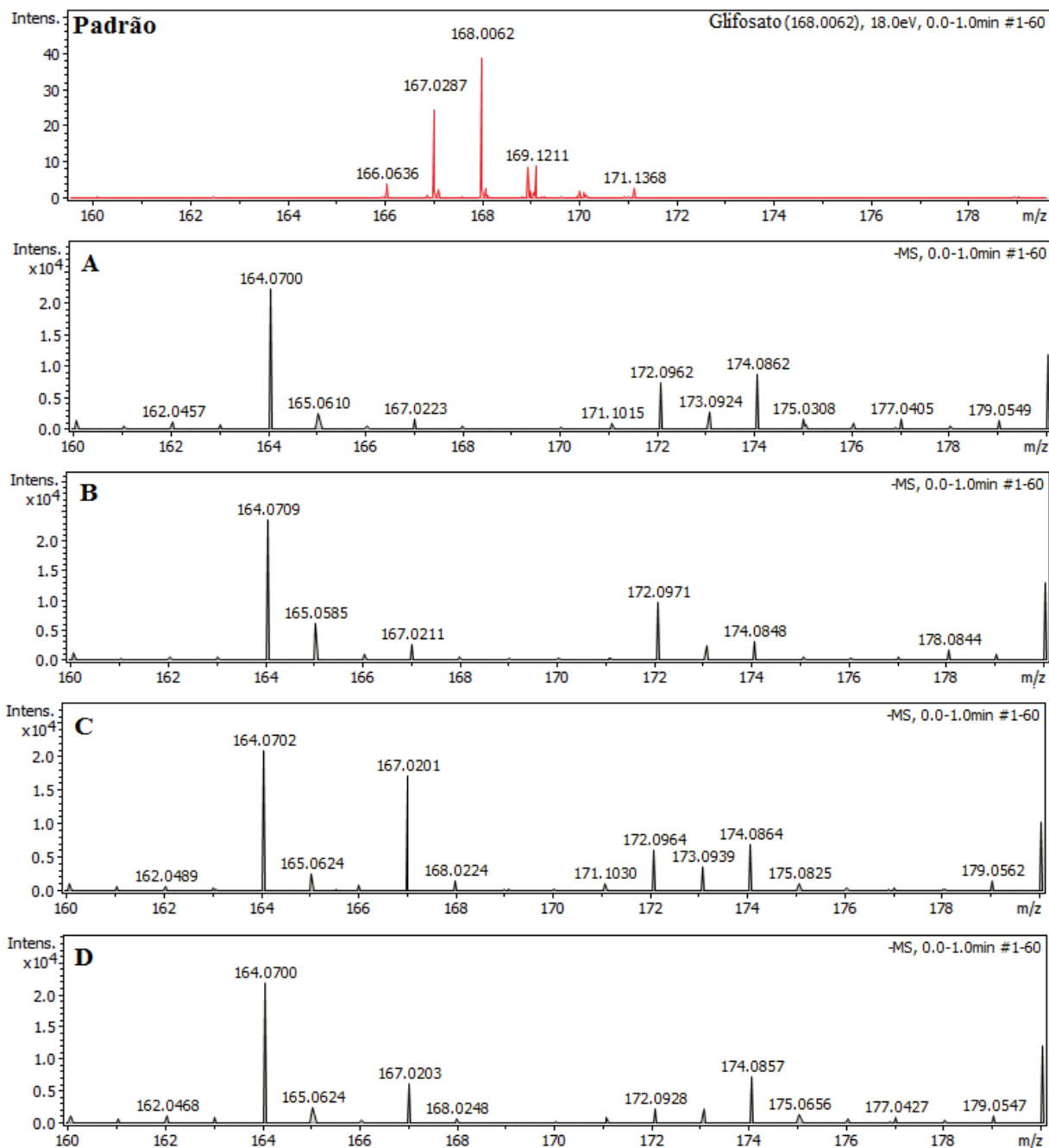


Figura 11. Espectros indicando os valores detectados onde (Padrão) indica os picos do glifosato e (A), (B), (C) e (D) indicam as amostras ambientais próximas as lavouras em Silvânia-GO. Fonte: DataAnalysis.

### 3.4 Determinação da DL50 sob condições experimentais

Não houve diferença significativa na mortalidade dos indivíduos do experimento 1 (Qui-quadrado=3.0000;  $p=0.2231$ ) (Figura 12). A análise da mortalidade de

*Cornitermes silvestrii* após 24 horas de exposição ao Glifosato determinou o valor de 16 ppm (mg/L) como DL50 do Glifosato. Esse valor foi determinado no experimento 2 (Qui-Quadrado=10.1785;  $p=0.0062$ ) (Figura 13).

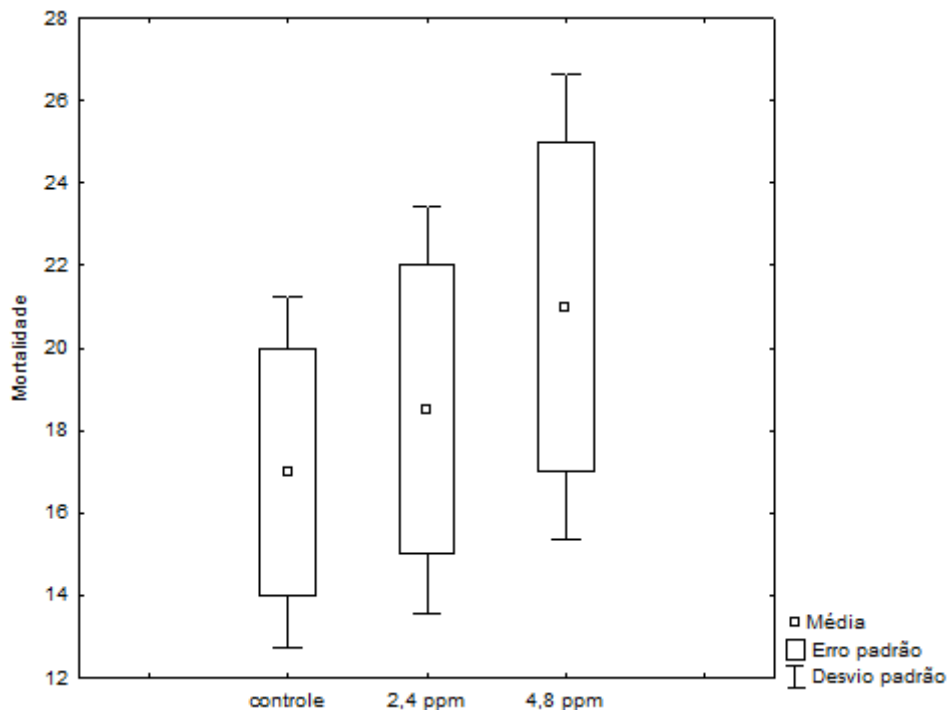


Figura 12. Mortalidade média de operários de *Cornitermes silvestrii* submetidos a concentrações permitidas pela legislação

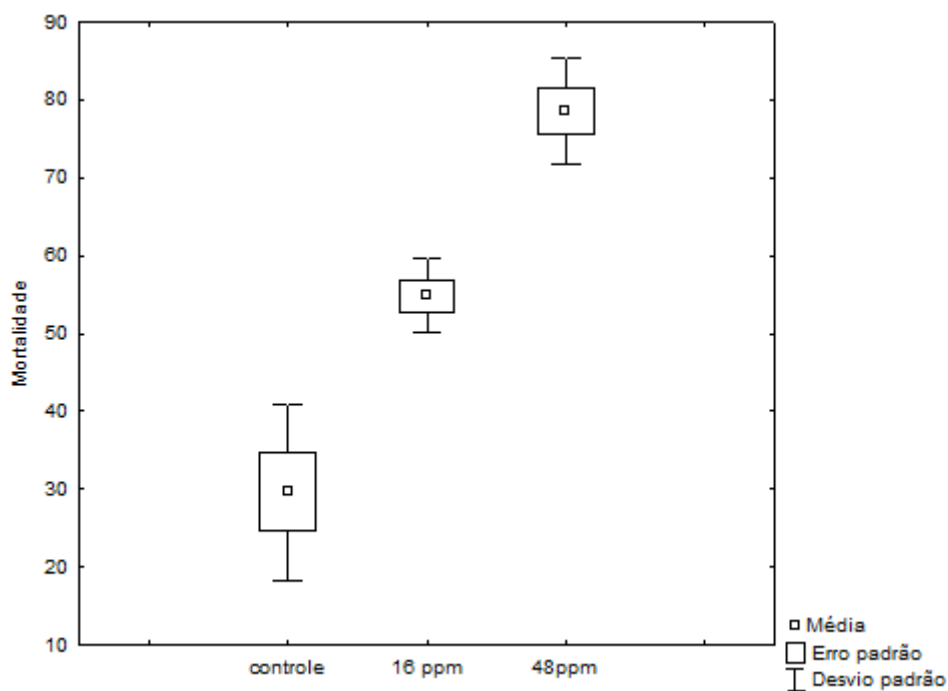


Figura 13. Mortalidade média de operários de *Cornitermes silvestrii* submetidos a DL50 de acordo com concentrações acima do permitido pela legislação.

#### 4. CONCLUSÃO

O presente estudo demonstrou a presença de gêneros representantes das quatro famílias de cupins que podem ser encontradas no Brasil, sendo a subfamília Syntermitinae a que apresentou o maior número de gêneros amostrados (11). É necessária a continuidade de levantamentos da termitofauna da Flona de Silvânia, visto que o número de espécies pode ser maior.

Foi possível a construção de uma curva analítica do glifosato sem etapa de derivatização da molécula e nos limites permitidos por lei em água, segundo órgãos regulamentadores do Brasil, Canadá e Estados Unidos. No entanto, as amostras ambientais não apresentaram vestígios desse composto. Tais resultados podem se apresentar diferentes a partir de análises com amostras mais recentes, bem como do AMPA devido a degradação do glifosato.

A presente pesquisa permitiu determinar o valor de 16 ppm (mg/L) como DL50 24 horas do Glifosato para operários de *Cornitermes silvestrii*, valores que caracterizam estes produtos como praticamente não tóxico aos cupins em testes de toxicidade aguda, visto que esse valor se encontra acima do utilizado na agricultura.

## 5. REFERÊNCIAS

Antunes, AM. 2013. Avaliação da exposição aguda e sub-letal ao Glifosato (N-fosfometil-glicina) e ao AMPA (ácido amino-metil-fosfônico) em brânquias e fígado de *Poecilia reticulata* com o emprego de biomarcadores moleculares e morfológicos/ Adriana Maria Antunes. Dissertação (Mestrado) Universidade Federal de Goiás. 68 p.

Azevedo, NR., Ferri, PH., Seraphin, JC., Brandão, D., 2006. Chemical Composition and Intraspecific Variability of the Volatile Constituents from the Defensives Secretion of *Constrictotermes cyphergaster* (Isoptera, Termitidae, Nasutitermitinae). *Sociobiology*. V. 74, no. 3.

Barceló, D. 1993. Environmental Protection Agency and other methods for the determination of priority pesticides and their transformation products in water. *Journal of Chromatography A*, 643(1-2), 117–143. doi:10.1016/0021-9673(93)80546-k

Bombardi, LM. 2017. Geografia do uso de agrotóxicos no Brasil e conexões com a União Europeia. São Paulo: Laboratório de Geografia Agrária FFLCH -USP (Ebook).

Brasil, 2005. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Coordenação-Geral de Vigilância em Saúde Ambiental. Portaria MS n.º 518/2004 / Ministério da Saúde, Secretaria de Vigilância em Saúde, Coordenação- Geral de Vigilância em Saúde Ambiental – Brasília: Editora do Ministério da Saúde.

Constantino, R. 2015. Cupins do Cerrado. 1º ed, Rio de Janeiro: Technical Books, 167p

DeSouza, O.; Miramontes, O. 2004. Non-Asymptotic Trends in the Social Facilitated Survival of Termites (Isoptera). *Sociobiology*, v.44, p.1-11.

Eggleton, P., Bignell, D.E., Sands, W.A., Mawdsley, N.A., Lawton, J.H., Wood, T.G., & Bignell, N.C. 1996. The Diversity, Abundance and Biomass of Termites under Differing Levels of Disturbance in the Mbalmayo Forest Reserve, Southern Cameroon. *Philos. T. Roy. Soc. B*, 351:51–68. doi: 10.1098/rstb.1996.0004

Fadini, MA., DeSouza, O., César J., Fanton, CJ. 2001. Efeito da profundidade de aplicação e da distribuição de inseticidas líquidos no controle de cupins de montículo em pastagens (Isoptera: Termitidae). *Neotropical Entomology*. v.30, p. 157-159.

- Fernandes, PM., Czepak, C., Veloso, VRS. 1998. Cupins de montículos em pastagens: prejuízo real ou praga estética?. Fontes, L. R., Filho, E. B. (Org.). Cupins. O desafio do conhecimento. FEALQ, p. 187-210.
- Gaupp-Berghausen, M., Hofer, M., Rewald, B., & Zaller, JG. 2015. Glyphosate-based herbicides reduce the activity and reproduction of earthworms and lead to increased soil nutrient concentrations. *Scientific Reports*, 5(1). doi:10.1038/srep12886.
- Health Canada. 2017. Water Quality: reports and publications. Guidelines for Canadian drinking water quality. Chemical/Physical Parameters. Disponível em: [https://www.canada.ca/content/dam/hcsc/migration/hcsc/ewhsemt/alt\\_formats/pdf/pubs/water-eau/sum\\_guide-res\\_recom/sum\\_guide-res\\_recom-eng.pdf](https://www.canada.ca/content/dam/hcsc/migration/hcsc/ewhsemt/alt_formats/pdf/pubs/water-eau/sum_guide-res_recom/sum_guide-res_recom-eng.pdf) Acesso em: 14 abr. 2019.
- ICMBio – Plano de Manejo da Floresta Nacional de Silvânia, Vol. 1 – Diagnóstico. Brasília, 2015
- Krishna, K., Grimaldi, DA.; Krishna, V., Engel, MS. 2013 *Treatise on the Isoptera of the world*. Vol.1; Copyright American Museum of Natural History.
- Lima, JT., Costa-Leonardo, AM. 2007. Recursos alimentares explorados pelos cupins (Insecta: Isoptera) *Biota Neotropica*, v.7, n.2, 243 - 250p.
- Mathews, AGA. 1977. *Studies on Termites from the Mato Grosso State, Brazil*. Rio de Janeiro: Academia Brasileira de Ciências, 267 pp.
- Miramontes, O.; DeSouza, O. 1996 The Nonlinear Dynamics of Survival and Social Facilitation in Termites. *Journal of Theoretical Biology*, v.181, p.373-380.
- Newton, M., Horner, LM., Cowell, JE., White, DE., Cole, EC. 1994. Dissipation of glyphosate and aminomethylphosphonic acid in North American forest. *Journal of Agriculture and Food Chemistry*, v.42, p.1795-1802.
- Nomura, NS., Hilton, HW., 1977. The adsorption and degradation of glyphosate in five Hawaiian sugarcane soils. *Weed Research*, v.17, p.113-121.
- Oliveira et al., 2012. Atividade de colônias de *Cornitermes Cumulans* (Isoptera, Nasutitermitinae) sobre estruturas edáficas macro e microagregadas em casa de vegetação. 2012Semina: Ciências Agrárias, Londrina, v. 33, n. 5, p. 1733-1744.

SEPLAN–Secretaria do Planejamento e Desenvolvimento. Anuário Estatístico do Estado de Goiás – 2005. Goiânia: SEPLAN, 2005.

Traniello, JFA., Leuthold, RH., 2000. Behavior and ecology of foraging in termites. In: Abe, T., Bignell, D.E., Higashi, M. (Eds.), *Termites: Evolution, Sociality, Symbioses, Ecology*. Kluwer Academic Publishers, Netherlands, pp. 141–168.

Valarini PJ., Frighetto RTS., Schiavinato RJ., Campanhola C., Sena MM., Balbino TL., Poppi RJ. 2007. Análise integrada de sistemas de produção de tomateiro com base em indicadores edafobiológicos. *Horticultura Brasileira* 25: 60-67.

Valério, JR., 1995. Ocorrência, danos e controle de cupins de montículos em pastagens, p. 33-36. In: reunião sulbrasileira de insetos de solo, 5. Dourados-MS: Ata e Resumos.

Van Hoesel, W., Tiefenbacher, A., König, N., Dorn, V. M., Hagenguth, J. F., Prah, U., Zaller, JG. 2017. Single and Combined Effects of Pesticide Seed Dressings and Herbicides on Earthworms, Soil Microorganisms, and Litter Decomposition. *Frontiers in Plant Science*, 8. doi:10.3389/fpls.2017.00215

Wilson, E.O. 1971. *The Insect Societies* (p. 548). Cambridge: Belknap Press.

Wood, T.G., & Sands, W.A. 1978. The role of termites in ecosystems. In M.V. Brian (Ed.), *Production Ecology of Ants and Termites* (pp. 245–292). Cambridge: Cambridge University Press.

Zaller, JG., Heigl, F., Ruess, L., & Grabmaier, A. 2014. Glyphosate herbicide affects belowground interactions between earthworms and symbiotic mycorrhizal fungi in a model ecosystem. *Scientific Reports*, 4(1). doi:10.1038/srep05634.

## CONSIDERAÇÕES FINAIS

As atividades agrícolas incluem o uso intensivo de pesticidas e, em decorrência disso, o Cerrado passa por um forte processo de modificação da paisagem e, conseqüentemente, biodiversidade. Com este trabalho é possível visualizar a existência de lacunas no que se refere aos efeitos diretos que o herbicida glifosato ocasiona nos organismos em diferentes ambientes.

Em relação ao Cerrado, essas informações são ainda mais escassas e este trabalho pode dar suporte à futuros trabalhos, no que se refere à cupins. O aprimoramento das técnicas utilizadas neste estudo, bem como melhores recursos institucionais fornecerá melhores resultados e, conseqüentemente, uma compreensão mais ampla sobre a utilização do glifosato na agricultura.

A possível perda de cupins no ambiente acarretaria na perda dos serviços ecossistêmicos desempenhados por esses insetos que incluem a decomposição da matéria orgânica, ciclagem de nutriente no solo e interações com outros organismos no meio. Além disso, a proliferação de algumas espécies como o caso de cupins do gênero *Cornitermes* se dá pela simplificação de um habitat para conversão em lavouras ou pastagens.