



PADRONIZAÇÃO DOS TESTES DE EFEITOS TOXICOLÓGICOS DA EXPOSIÇÃO AGUDA AO GLIFOSATO EM NEMATÓIDE *CAENORHABDITIS ELEGANS*¹

Isadora Miron², Luana Pasinato Carra³, Thiago Gomes Heck⁴, Caroline Brandão Quines⁵

¹ Projeto Institucional desenvolvido no Grupo de Pesquisa em Fisiologia (GPeF) da Universidade Regional do Noroeste do Estado do Rio Grande do Sul (UNIJUÍ).

² Acadêmica do curso de Biomedicina e bolsista PIBIC-UNIJUÍ, Universidade Regional do Noroeste do Rio Grande do Sul (UNIJUÍ); isadora.miron@sou.unijui.edu.br.

³ Acadêmica do curso de medicina, Universidade Regional do Noroeste do Rio Grande do Sul (UNIJUÍ); luana.carra@sou.unijui.edu.br.

⁴ Docente dos Programas de Pós-Graduação em Atenção integral à Saúde (UNICRUZ/URI/UNIJUÍ) e em Modelagem Matemática e Computacional (UNIJUÍ); thiago.heck@unijui.edu.br.

⁵ Docente dos cursos de graduação na saúde (UNIJUÍ); caroline.quines@unijui.edu.br.

Introdução: Os herbicidas à base de glifosato estão dentre os agrotóxicos mais utilizados no mundo. Além das lavouras de diversas cultivares, são aplicados em áreas urbanas, em quintais e jardins. Como consequência da frequência e da ampla utilização de herbicidas à base de glifosato, moléculas de glifosato [N-(fosfonometil)-glicina] e de seus metabólitos estão presentes em diversos ambientes (STEPHEN, 2018). Após aplicação, parte de suas moléculas permanecem temporariamente nas camadas superficiais do solo, de onde podem ser carregadas durante as chuvas, pelos processos de erosão e escoamento, e atingir águas superficiais, ou ainda podem sofrer lixiviação, infiltrando nas camadas mais profundas do solo e atingindo águas subterrâneas (STEPHEN, 2018). Esse cenário constitui-se um problema do ponto de vista ecológico e de saúde pública, pois a presença de glifosato e seus metabólitos nos recursos naturais ameaça a saúde dos ecossistemas e a saúde humana. O *Caenorhabditis elegans* (*C.elegans*) é um nematoide transparente, bastante pequeno (aproximadamente 1 mm), bacterívoro de vida livre e encontrado no solo, água, vegetais e frutas em decomposição. Em laboratório é mantido em placas de Petri com meio de crescimento específico (nematode growth media – NGM) e geralmente alimentado com a bactéria *Escherichia coli* OP50 (APFELD et al., 2018). Esses nematoides possuem um ciclo de vida curto, com tempo rápido de geração de aproximadamente três dias e longevidade de duas a três semanas, são vermes hermafroditas e cada verme produz cerca de 300 ovos, em temperatura de 20°C. Modelos com *C. elegans* se tornaram uma ferramenta valiosa para investigações em áreas como toxicidade ambiental, biologia do desenvolvimento, farmacologia, genética e neurociência e os ensaios toxicológicos são amplamente empregados em estudos de monitoramento ambiental, onde é avaliado o efeito da toxicidade sobre o ciclo de vida do nematoide (MENEELY et al., 2019). Dessa forma, a principal questão deste estudo é analisar como a exposição aguda ao glifosato afeta a sobrevivência dos *C. elegans*, oferecendo informações sobre os possíveis efeitos tóxicos do herbicida em organismos vivos.

Objetivo: Padronização dos testes para avaliação dos efeitos da exposição aguda de diferentes concentrações de Glifosato na sobrevivência do nematoide *C.elegans*.

Metodologia: Foram utilizadas cepa N2 (tipo selvagem) que foram mantidas a 20°C, em



meio NGM (*Nematode growth médium*) e alimentadas com bactéria *Escherichia coli* OP50 (*E.coli* OP50). O glifosato Roundup® comercial foi adquirido de fornecedores locais. Os hermafroditas grávidos, quando chegaram no estágio adulto, foram submetidos ao processo de sincronização para a obtenção de todos os vermes no mesmo estágio larval (L1). A seguir, dois mil vermes no estágio larval L1 foram expostos a diferentes concentrações de glifosato (1,5%, 3% e 6%) por 30 minutos, caracterizando uma exposição aguda. A escolha das concentrações de glifosato para exposição dos *C.elegans* é baseada na concentração preparada por agricultores e utilizadas nas lavouras. O grupo controle foi apenas submetido a uma concentração de salina 0,9%. Após a exposição ao glifosato os vermes foram submetidos a um processo de lavagem para retirada do glifosato, para isso os microtubos contendo os vermes tratados foram centrifugados a 7.000 rpm, durante 3 minutos a 20°C e sobrenadante removido e o restante do volume repostado com tampão M9 (KH₂PO₄, Na₂HPO₄ e NaCl). Esse processo foi repetido 3 vezes. Na última lavagem foram removidos cerca de 750µL de sobrenadante, e o restante depositado em placas NGM previamente semeadas com 200µL de *E.coli* OP50. Nessas placas os vermes foram mantidos a 20°C. Após 48 horas foi realizado o ensaio de sobrevivência, no qual foram quantificados o número de vermes vivos contidos em cada placa utilizando uma câmara de Neubauer. Esse procedimento foi realizado em duplicata. **Resultados:** Os principais achados indicam que o grupo controle apresentou uma taxa de sobrevida de 98,5 %, maior quando comparado aos vermes expostos a diferentes concentrações de glifosato (1,5%, 3% e 6%), evidenciando o efeito tóxico do composto nessas concentrações. Diante disso, será necessário reduzir as concentrações de glifosato em próximos ensaios para identificar qual a concentração de trabalho e estudo, menos tóxica, e segura para exposição aguda dos *C.elegans*, possibilitando dessa forma a realização de novos ensaios sobre toxicidade não letais. **Conclusões:** Considerando os resultados da viabilidade no grupo controle, os procedimentos para análise de efeitos tóxicos aos *C. Elegans* estão padronizados. Contudo, as concentrações de glifosato utilizadas na agricultura exerceram um efeito tóxico nos *C.elegans*, reduzindo sua sobrevivência em todas as concentrações testadas. Esses achados ressaltam a importância de padronização dos níveis de exposição para este tipo de investigação in vitro, assim como sugerem a necessidade de avaliar os níveis de exposição ao glifosato especialmente em contextos ambientais onde organismos sensíveis podem ser afetados. **Palavras-chave:** Toxicidade ambiental; Herbicida; *Caenorhabditis elegans*; Glifosato; Exposição química. **Agradecimentos:** (CNPq, Processos 407329/2016-1 444286/2024-1, 403136/2024-5, 405546/2023-8, 307926/2022-2 de TGH, PIBIC-UNIJUÍ, PIBIC-CNPq.

Referências:

APFELD, Javier; ALPER, Scott. What Can We Learn About Human Disease from the Nematode *C. elegans*? In: DISTEFANO, Johanna K. (Org.). *Methods Mol Biol. Methods in Molecular Biology*. New York, NY: Springer New York, 2018. v. 1706. p. 53–75.

MENEELY, Philip M.; DAHLBERG, Caroline L.; ROSE, Jacqueline K. Working with Worms: *Caenorhabditis elegans* as a Model Organism. *Current Protocols Essential Laboratory Techniques*, v. 19, n. 1, p. 1–35, 3 dez. 2019.

STEPHEN, O Duke. The history and current status of glyphosate. *Pest Manag Sci*. 2018.