

# **Efeitos Ecotoxicológicos de herbicidas à base de glifosato nos invertebrados do solo – estudos de campo**

**Relatório de Estágio**

**Duarte Alves Machado Pinto de Sousa**

**Orientador: Prof. Dr. João Soares Carrola**

**Coorientador: Dr. Tiago Natal da Luz**



**Universidade de Trás os Montes e Alto Douro**

**Vila Real, 2020**

Assinatura dos membros do júri

Presidente: \_\_\_\_\_

1º Vogal: \_\_\_\_\_

2º Vogal: \_\_\_\_\_

Classificação: \_\_\_\_\_

Data: \_\_\_\_ / \_\_\_\_ / \_\_\_\_



O estagiário: \_\_\_\_\_

Duarte Alves Machado Pinto de Sousa

O orientador: \_\_\_\_\_

Prof. Dr. João Soares Carrola

O Coorientador: \_\_\_\_\_

Dr. Tiago Natal da Luz

## **AGRADECIMENTOS**

Ao longo deste trabalho, foram ultrapassadas barreiras através da força de vontade e pela presença de certas pessoas que me ajudaram na realização e percurso deste trabalho, merecendo por sua vez, os meus sinceros agradecimentos.

Ao Professor Doutor João Soares Carrola pela disponibilidade e interesse de ter aceite orientar este estágio, em tirar qualquer dúvida ao longo deste trabalho, como também pelo conhecimento/conselhos transmitidos. Muito obrigado!

Ao Doutor Tiago Natal da Luz por ter aceite coorientar este estágio, despendendo os seus conhecimentos para a melhor compreensão deste trabalho bem como a prontidão em tirar qualquer dúvida. Muito obrigado!

À Ana Beatriz por ter compartilhado artigos referentes ao meu tema, facilitando desta maneira o trabalho. Muito obrigado!

Aos meus pais pelos bons momentos proporcionados, dicas construtivas, apoio e motivação para uma melhor abordagem a este trabalho. Muito obrigado por me terem proporcionado meios para viver todo este percurso!

Ao João, Sara, Rodrigo e Diana pelos conselhos transmitidos e apoio, mas a cima de tudo, pelas gargalhadas e bons momentos proporcionados durante este percurso. Muito obrigado!

A todos os meus colegas de turma que, de alguma maneira, influenciaram positivamente a minha abordagem e resolução deste trabalho.

# Índice

<b>ÍNDICE DE FIGURAS</b> .....	IV
<b>RESUMO</b> .....	V
<b>ABSTRACT</b> .....	VI
<b>OBJETIVOS</b> .....	VII
<b>CAPÍTULO 1 - INTRODUÇÃO</b> .....	1
<b>1.1. Efeito das Atividades Antropogênicas no Solo</b> .....	1
<b>1.2. Propriedades do Solo e a Toxicidade dos Pesticidas</b> .....	3
<b>1.3. Importância dos Testes Ecotoxicológicos na Avaliação da Qualidade do Solo</b> .....	5
<b>1.4. Importância dos Microrganismos e Invertebrados no Solo</b> .....	6
<b>CAPÍTULO 2 – ESTUDOS ECOTOXICOLÓGICOS DE CAMPO COM HERBICIDAS À BASE DE GLIFOSATO EM ESPÉCIES NÃO ALVO</b> .....	8
<b>2.1. Estudos Ecotoxicológicos de Campo com Minhocas para Avaliação dos Efeitos do Glifosato</b> .....	8
<b>2.2. Estudos Ecotoxicológicos de Campo com Colêmbolos para Avaliação dos Efeitos do Glifosato</b> .....	14
<b>2.3. Estudos Ecotoxicológicos de Campo com Nematodes para Avaliação dos Efeitos do Glifosato</b> .....	19
<b>2.4. Estudos Ecotoxicológicos de Campo com Ácaros para Avaliação dos Efeitos do Glifosato</b> .....	21
<b>CONSIDERAÇÕES FINAIS</b> .....	25
<b>REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS</b> .....	26

## ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1: Fotografia relativa à fisionomia de uma minhoca adulta da espécie <i>Eisenia fetida</i> e respetiva anatomia externa (Adaptado de Carvalho, 2015) .....	9
Figura 2: Fotografia relativa à fisionomia de 3 colêmbolos da espécie <i>F. candida</i> e anatomia exterior (Adaptado de Ryszard, flickr.com).....	14
Figura 3: Fotografia relativa à fisionomia de um nematode benéfico para o solo (Elaine R. Ingham) .....	19
Figura 4: Ilustração da fisionomia de um ácaro pertencente à espécie <i>D. notatus</i> (Adaptado de Wilson, 2017) .....	21

## RESUMO

O impacto de atividades antropogénicas no ambiente tem-se vindo a intensificar ao longo dos tempos, contribuindo para isso, vários fatores, entre os quais o aumento da população. Desta forma, o aumento da população mundial, teve um grande impacto nos sistemas de produção intensiva para a produção de alimentos vegetais e animais, nomeadamente ao nível de novas metodologias para aumento da eficiência de produção.

O aumento na eficiência de produção agrícola, tem passado maioritariamente pelo desenvolvimento, produção e uso crescente (considerável) de pesticidas sintéticos (xenobióticos) e de adubos. Contudo, os pesticidas são normalmente prejudiciais para o ambiente, incluindo para o ser humano, podendo também afetar o solo nos seus indicadores qualitativos (taxa de infiltração, textura, pH, etc) e os organismos que nele vivem.

Para tal, a realização de testes ecotoxicológicos é extremamente importante, pois com estes, é possível avaliar os efeitos dos pesticidas em questão, nomeadamente os verdadeiros efeitos do glifosato.

Através destes testes é também possível o conhecimento da importância dos microrganismos e invertebrados do solo. Tanto os invertebrados como os microrganismos apresentam a capacidade conjunta, de decompor a matéria orgânica presente no solo, beneficiando o desenvolvimento das plantas e seres vivos, beneficiando desta forma os ecossistemas de solo.

Com a interpretação e resumo de artigos, referentes a estudos ecotoxicológicos de campo com minhocas, colêmbolos, nematode e ácaros, para a avaliação dos efeitos do glifosato, foi possível conhecer o verdadeiro impacto deste pesticida e suas formulações sobre os mesmos.

Todos os organismos não alvo tiveram em comum, a suscetibilidade a certas formulações de glifosato, evidenciando que o problema não se encontra no próprio composto de glifosato, mas sim nos adjuvantes das suas formulações.

Para tal, devem ser conduzidos mais testes ecotoxicológicos que visem o conhecimento dos efeitos de certas formulações de glifosato, para que as doses destes possam ser reformuladas, beneficiando tanto as colheitas agrícolas como preservando os invertebrados não alvo do solo.

## ABSTRACT

The environmental impact of anthropogenic activities is intensifying over the time, contributing for that, numerous factors such as the increase of global population. In this way, the increase of global population had great impact on intensive systems of food production to obtain animal and vegetable products, namely at the level of new methodologies for the increase of efficiency production.

The increase in the efficiency of agricultural production, has mostly passed through the development, production and growing use of synthetic pesticides and fertilizers. However, pesticides are usually harmful for the environment, even to the human being, and it can also affect the soil in its quality (infiltration rate, texture, pH) and also soil organisms.

To this end, conducting ecotoxicological tests is extremely important, because it's possible to evaluate the effects of pesticides, namely the real effects of herbicides based on glyphosate. Through these tests, it's also possible to assess the importance of soil microorganisms and invertebrates, as they present the capacity of decomposing soil organic matter, benefiting the development of plants, other life forms and the soil productivity.

The review of papers above ecotoxicological studies with earthworms, collembola, nematodes and mites for the evaluation of the effects glyphosate and adjuvants is vital to understand the real impact of these formulations.

All non-target organisms present some degree of susceptibility to some glyphosate formulations, indicating that the problem isn't from the glyphosate itself but from his formulations' adjuvants.

To this end, further ecotoxicological tests should be conducted to learn more about the effects of certain glyphosate formulations, so that their doses can be reformulated, benefiting both agricultural crops and preserving non-target invertebrates. Is also important to reduce as much as possible the use of synthetic herbicides applying different alternative agricultural practices using "clean" agriculture.

## OBJETIVOS

O presente relatório de estágio, visa compilar a informação científica disponível em artigos consultados através de motores de busca como *ScienceDirect*, *Cambridge University Press*, *b-on*, *PubMed* e *Springer Link*, sobre o efeito de herbicidas à base de glifosato nos invertebrados do solo.

Devido à aplicação intensiva de pesticidas no solo, estes podem acumular-se no mesmo em concentrações excessivas, podendo afetar negativamente as suas comunidades e consequentemente as suas propriedades químicas e físicas. As comunidades de organismos afetadas, variam desde mamíferos, invertebrados e microrganismos. Os organismos que serviram de estudo para este relatório foram os invertebrados, pois estes têm uma elevada importância nas funções do solo, como na reciclagem de nutrientes, viabilidade de habitat e capacidade de retenção de água e poluentes. Posto isto, é necessário o controlo destes e o conhecimento do efeito do glifosato sobre os mesmos.

Para a presente revisão, o pesticida escolhido foi o glifosato, pois apesar de este ter benefícios no controlo de ervas daninhas em meio urbano e em contexto agrícola, apresenta efeitos negativos para o solo e respetivos invertebrados. Deste modo, nesta revisão pretende-se discutir os efeitos do glifosato nas comunidades de invertebrados do solo.

Serão considerados exclusivamente ensaios de campo, pois estes apresentam resultados mais realistas, comparativamente aos testes laboratoriais e respetivas variáveis, estando sujeitos a fatores como, fenómenos naturais (seca e precipitação), a influência da atividade de vários tipos de invertebrados e relações simbióticas, influenciando o comportamento do solo na sua dinâmica e cinética relativamente a substâncias tóxicas.

Neste trabalho, será compilada informação sobre o efeito do glifosato, na biodiversidade dos invertebrados do solo e os seus impactos gerais nas funções do solo como a função de habitat e retenção, discutindo a importância do uso sustentável do glifosato.

# CAPÍTULO 1 - INTRODUÇÃO

## 1.1. Efeito das Atividades Antropogénicas no Solo

O crescimento atual da população mundial intensificou a forte procura de produtos agrícolas de modo a aumentar a produtividade dos solos. Esta necessidade de aumento de produção tornou necessário o aumento da expansão das áreas agrícolas já existentes e também a identificação de novas regiões propícias a serem exploradas para agricultura (World, 2007). A intensificação da agricultura tem sido feita com base na adoção de métodos variados como o uso abusivo de adubos orgânicos ou inorgânicos, o uso intensivo e/ou mais eficiente de água para rega de culturas (Schreinemachers e Tipraqsa, 2012) e o uso intensivo de pesticidas em grande escala. O uso de pesticidas na agricultura, ajuda no controlo de potenciais perdas devido à incidência de pestes que podem ser de origem animal (insetos, ácaros, roedores), microbiológica (bactérias, fungos e vírus) e vegetal no caso das ervas daninhas (Oerke, 2006).

O uso intensivo de pesticidas, especialmente de origem sintética, apresenta riscos negativos para os organismos não alvo (Konradsen et al., 2003), como é o caso das minhocas, nemátodes, isópodes, ácaros e colêmbolos. Os organismos são afetados ao nível da atividade, metabolismo, reprodução e possível decréscimo de indivíduos (Zaller e Brühl, 2019). Embora a Diretiva 91//414/CEE, de 15 de julho de 1991, relativa à autorização de produtos fitofarmacêuticos já tenha resultado na eliminação de mais de 75% das substâncias ativas do mercado, devido à sua ineficácia ou toxicidade elevada (Karabelas et al., 2009), ainda são usadas uma grande variedade de substâncias.

Além dos organismos referidos, os pesticidas afetam também os microrganismos e respetivas enzimas, que são essenciais na fertilidade do solo que, por sua vez, favorece a existência de invertebrados e microrganismos (Zaller e Brühl, 2019).

A qualidade do solo depende em parte, das atividades enzimáticas e controlo de nutrientes provenientes de toda a fauna e flora existente no solo tal como defende (Gianfreda et al., 2005). O impacto proveniente da atividade agrícola, resulta de atividades que visam o aumento da produção agrícola, nomeadamente através do uso intensivo de pesticidas e adubos, tendo como consequência a contaminação do solo (Watanabe et al., 2015). Além disto, as características condutoras do solo (condutividade elétrica), sendo a qual influenciada pela quantidade de sais presentes no solo, é também extremamente importante. Sendo um dos principais indicadores da qualidade do solo, afeta a sustentabilidade das colheitas e respetiva qualidade, disponibilidade de nutrientes para a fauna/flora e processos que influenciam a emissão de gases como metano, dióxido de carbono e óxidos nitrosos.

Normalmente, a gestão do solo visando o cultivo intensivo sem rotação de monoculturas e uso de pesticidas sintéticos, ou pela aplicação de resíduos industriais, são as principais causas da degradação dos ecossistemas terrestres (Edwards, 2002). Sendo mais concreto, a agricultura (nomeadamente o uso de pesticidas) e a industrialização (com incorporação de resíduos industriais no solo), são responsáveis pelo aumento da poluição e degradação do solo, contribuindo para o aumento da concentração de metais pesados e outros contaminantes orgânicos persistentes no solo (Keshavarzi e Kumar, 2019).

Além das atividades antropogénicas mencionadas anteriormente, a exploração mineira é também uma fonte de contaminação do solo. Quando os materiais do solo são extraídos durante a mineração, este fica sujeito á erosão, perdendo a sua integridade. Tal acontecimento deve-se á perda das capacidades físicas e químicas do solo, bem como a perda da densidade aparente (volume ocupado por uma determinada massa de sólido, incluindo a porosidade), capacidade de retenção, absorção de água e alteração do pH (Šourková et al., 2005). A mineração além de afetar drasticamente o sistema hidrológico e geomorfológico do solo (Ahirwal e Maiti, 2016; Kumar et al., 2015), interfere na sua própria nutrição através da deficiência de biodiversidade, pois haverá a eliminação do coberto vegetal, invertebrados e associações simbióticas (micorrizas, rizóbios). Tal deficiência na biodiversidade, provém, em parte, das características químicas e escombrelas, nomeadamente elevadas concentrações de metais pesados como cádmio (Cd), cobre (Cu), zinco (Zn) e arsénio (As). Em ambiente natural, os metais pesados, são oxidados pela precipitação e ar, gerando escorrências tóxicas (Uwizeyimana et al., 2017; Zhang et al., 2020) com consequências bio acumulativas, metabólicas e teratogénicas, afetando desta maneira o número de espécimes do local. Nestas condições, o solo apresenta deficiência na biodiversidade, como nas suas características físicas e químicas, sendo incapaz de exercer funções essenciais para o ecossistema..

## 1.2. Propriedades do Solo e a Toxicidade dos Pesticidas

O solo é um sistema vivo, dinâmico e não renovável, em que as suas condições e propriedades influenciam a produtividade de recursos alimentares, habitat para os seus organismos, parcial equilíbrio do ecossistema (Alkorta et al., 2003) e a vivência de micro/macrofauna e flora. Em parte, os aspetos influenciados anteriormente, dependem da composição do solo, mais concretamente dos constituintes da parte porosa (ar, água) e da parte sólida (minerais, matéria orgânica). No solo, a água e o ar ocupam os poros, que são formados pela agregação das partículas sólidas, que formam estruturas porosas por onde se dá a entrada e onde se faz a retenção de água e ar no solo. Já a matéria orgânica e minerais, são muito relevantes para a sobrevivência dos seres vivos existentes no solo pois servem de fonte de nutrientes para os mesmos (Jernigan et al., 2020).

Certas propriedades são benéficas para determinadas funções do solo como a função de habitat e a função de retenção. O nível de compactação/densidade das partículas, o pH e a quantidade de matéria orgânica do solo, influenciam a capacidade que o solo tem de funcionar como habitat viável para a sua fauna e flora. Já a função de retenção, é principalmente influenciada por propriedades como a estrutura (organização das partículas do solo), densidade e textura (proporção do tamanho das partículas), mineralogia e matéria orgânica.

Relativamente à definição das importantes funções do solo, segundo a ISO 15799:2019:

- Função de habitat - capacidade dos solos/materiais do solo, proporcionarem e servirem de habitat para micro-organismos, plantas, invertebrados do solo, como também, para as interações entre os mesmos e o meio em causa (biocenose).
- Função de retenção - capacidade do solo/materiais do solo, absorverem substâncias poluentes de maneira a que estes não sejam mobilizados através da infiltração da água, para as cadeias alimentares terrestres.

Importante mencionar que, de acordo com a ISO 11074-1 (*Soil Quality - Vocabulary Part 1: Terms and Definitions Relating to the Protection and Pollution of the Soil*), as funções de habitat e retenção estão relacionadas com vários fenómenos, nomeadamente::

- Controlo de substâncias e ciclos energéticos, como componentes de ecossistemas;
- Possui os componentes básicos para a viabilidade da vida das plantas, animais e ser-humano;
- Transporte de reservatórios genéticos;
- Possui os componentes básicos para a produção de produtos agrícolas;
- Efeito tampão, parcialmente inibindo o movimento da água, contaminantes e outros agentes presentes na água subterrânea.

Estas funções, estão também relacionadas com a atividade da micro/macrofauna e flora, que graças às suas interações entre si, influenciam a qualidade do solo. Desta forma, tudo o que afetar tais atividades, poderá influenciar indiretamente as funções do solo, e desta forma interagir negativamente com a capacidade deste fornecer serviços ao

ecossistema. Neste caso, um dos principais agentes que afeta as atividades dos macro e microrganismos, são os pesticidas através da contaminação do solo e da água (Vryzas, 2018).

A qualidade do solo é influenciada pelos pesticidas, principalmente se estes forem utilizados em excesso (Joko et al., 2017), ou em grande escala como o herbicida glifosato. O glifosato (fosfometil glicina) é um composto organofosforado usado para eliminar ervas daninhas que competem com as culturas agrícolas, como também as ervas daninhas que crescem em contexto urbano, através das suas formulações como o Roundup, Montana, Zapp e entre outros. O glifosato é absorvido principalmente através das folhas das plantas, podendo ser também absorvido pelo sistema radicular das plantas, inibindo a enzima vegetal necessária para a síntese de três aminoácidos (fenilalanina, triptofano e tirosina), inibindo assim o seu crescimento e desenvolvimento (Monquero et al., 2004).

A aplicação de pesticidas pode causar, indiretamente, danos no solo através da interferência destes com os organismos, causando danos na estrutura do mesmo (propriedades), compactando-o, alterando a biomassa, porosidade e pH (Joko et al., 2017). Quando as funções do solo, juntamente com as propriedades que lhes conferem exequibilidade, são comprometidas pelo uso de pesticidas, podemos dizer que estes apresentam uma determinada toxicidade relativamente ao solo. Ou seja, quanto mais as propriedades do solo estiverem “desreguladas” por ação dos pesticidas, maior será a toxicidade dos mesmos

### 1.3. Importância dos Testes Ecotoxicológicos na Avaliação da Qualidade do Solo

Os testes ecotoxicológicos têm como objetivo avaliar os efeitos tóxicos de um composto químico (orgânico ou inorgânico), sobre espécies da fauna e/ou flora. Testes ecotoxicológicos que visam analisar o efeito de um determinado pesticida sobre os invertebrados no solo, devem ter em consideração, o tipo de solo bem como as suas características, pois tais aspetos têm influência no comportamento do químico e dos organismos. A dinâmica e comportamento de certos pesticidas no solo, depende de propriedades como a textura, pH e o teor e a qualidade da matéria orgânica (Albers et al., 2009). Solos ácidos, com elevado teor de argila e matéria orgânica, tendem a adsorver os pesticidas, aumentando a probabilidade da sua fixação (Tejada, 2009). Por sua vez, a interação e ingestão de solo contaminado por parte de organismos, como as minhocas, graças à sua morfologia e metabolismo (García-Pérez et al., 2014), levará à bioacumulação do químico nos seus tecidos, podendo causar problemas a níveis metabólicos, reprodutivos e potencial mortalidade de indivíduos (Stellin et al., 2018). Muitas vezes, a presença de elevadas concentrações de pesticidas no solo, têm como consequência a dispersão dos organismos não alvo devido ao facto do solo não apresentar características propícias para a existência dos mesmos.

Devido à relação das minhocas com o solo, tais efeitos terão consequências em certos processos do solo, como na infiltração (Capowiez et al., 2009), mineralização de carbono e azoto (Lachnicht et al., 2002) e densidade aparente (Zund et al., 1997).

Segundo Doran e Parkin (1994), a qualidade do solo é definida pela capacidade deste beneficiar o ecossistema, sustendo a produtividade biológica, mantendo a qualidade ambiental e promovendo a “saúde” da fauna e flora. Os testes ecotoxicológicos, permitem a identificação das relações entre certos organismos e o solo, pois quando as atividades destes são postas em causa por substâncias químicas, haverá muito possivelmente uma alteração na qualidade do solo. A cima de tudo, é também conhecida a influência dos compostos químicos nos organismos, podendo-se retratar na perda de mobilidade, alteração dos metabolismos, baixa reprodução, mortalidade, etc.

### 1.4. Importância dos Microrganismos e Invertebrados no Solo

A baixa capacidade de habitat e a acidez elevada dos solos sujeitos à atividade antropogênica, apresenta uma ameaça para o crescimento de plantas, vivência de invertebrados e para uma agricultura sustentável (Goldman, 1995). A diminuição do pH e capacidade catiônica na maioria dos solos, reduz a disponibilidade de nutrientes como potássio ( $K^+$ ), cálcio ( $Ca^{2+}$ ) e amônio ( $NH_4^+$ ) (Aprile e Lorandi, 2012). Estas condições afetam igualmente a indisponibilidade de nutrientes do solo, como o fósforo (P) (Sharma et al., 2013). Contudo, estes fatores podem ser mitigados pela atividade dos microrganismos e invertebrados do solo, pois alguns destes grupos possuem espécies que são solubilizadoras de nutrientes promovendo, em muitos casos, um aumento da disponibilidade para as plantas. Além disso, a qualidade do solo pode também ser determinada por várias atividades enzimáticas resultantes de microrganismos, invertebrados e plantas existentes no meio em causa (Zungu et al., 2020). Quando se dá a lise celular nos organismos (microrganismos e invertebrados), as enzimas que regulam as vias metabólicas dos mesmos, são excretadas/libertadas para o solo, podendo manter a sua atividade através da união com colóides orgânicos e inorgânicos (Balota et al., 2013). Uma vez no solo, estas enzimas serão absorvidas pela matéria orgânica (húmus) e minerais, complementando a estrutura destes, favorecendo assim o solo (Balota et al., 2013).

As comunidades microbianas do solo são essencialmente compostas por bactérias, fungos e algas (Galli, 1964). A atividade microbiana do solo é, em parte, estimulada através das enzimas originadas pelos organismos presentes no solo e pela presença de matéria orgânica, apresentando uma relevância considerável para a decomposição da mesma. Certos microrganismos do solo produzem enzimas extracelulares que hidrolisam e transformam compostos em nutrientes disponíveis que podem ser assimilados pelas plantas e microrganismos (Lucas et al., 2008). Estas enzimas extracelulares são responsáveis pela mineralização e ciclo de azoto (N), fosforo (P) e carbono (C), prevenindo desta forma a degradação oxidativa do solo (Nanda et al., 2010), garantindo deste modo certas funcionalidades do solo.

Por sua vez, os invertebrados, nomeadamente, nematodes, colêmbolos, ácaros, Enquitreídeos e minhocas, apresentam uma elevada relevância na decomposição da matéria orgânica do solo e um comportamento benéfico para o mesmo (García-Palacios et al., 2013). Os nematodes, colêmbolos e ácaros, apresentam grande importância para o solo, aumentando a sua superfície orgânica, facilitando a mineralização por parte de certos organismos (bactérias) e a decomposição da matéria orgânica presente no solo (Coleman et al., 1999). Os Enquitreídeos afetam a estrutura do solo através da excreção de matéria fecal (presente na constituição do húmus) e pela própria movimentação, aumentando a estabilidade dos agregados do solo e respetiva porosidade (Coleman et al., 1999). Por último, as minhocas influenciam a estrutura do solo contribuindo para o aumento da porosidade, promovendo a infiltração de água através dos canais resultantes da sua movimentação, e contribuindo para a decomposição de matéria orgânica do solo e redistribuição da mesma (Carpenter et al., 2008). As minhocas beneficiam o solo também indiretamente através da ingestão de partículas orgânicas e minerais que, uma vez

processadas, são excretadas ao longo dos canais formados por estas, contribuindo para o aumento da atividade de microrganismos (Blanchart *et al.*, 1999).

Além dos microrganismos e invertebrados, existem bactérias simbióticas como o rizóbio, encarregues da fixação de azoto atmosférico (N) (Martínez-Hidalgo e Hirsch, 2017). Estas bactérias, são um dos principais promotores para o crescimento das plantas (Martínez-Hidalgo e Hirsch, 2017), constituindo também, um fator que potencia a qualidade do solo, beneficiando as suas propriedades físicas (arejamento, infiltração de água), químicas (fixação de azoto, carbono) e biológicas na produção de matéria orgânica e estimulação microbiana (Fornara e Tilman, 2008).

## **CAPÍTULO 2 – ESTUDOS ECOTOXICOLÓGICOS DE CAMPO COM HERBICIDAS À BASE DE GLIFOSATO EM ESPÉCIES NÃO ALVO**

### **2.1. Estudos Ecotoxicológicos de Campo com Minhocas para Avaliação dos Efeitos do Glifosato**

As minhocas são seres invertebrados da classe Oligochaeta dispersos pelo mundo inteiro, habitando em florestas, bosques, planícies e áreas agrícolas, maioritariamente onde o solo apresenta húmido e com baixa variação de temperatura (Karaca, 2010). No entanto, as minhocas não se encontram em biomas desérticos e de tundra (onde há frequente queda de neve e formação de gelo) devido ao meio ser demasiado agreste para a sobrevivência das mesmas (Karaca, 2010). A diversidade destes invertebrados varia muito com o local e habitat em que se encontram, no entanto, há associações de espécies diferentes de minhocas no mesmo tipo de local e habitat (Coleman *et al.*, 1999).

As minhocas apresentam reprodução assexuada e sexuada, dependendo da espécie, possuindo o corpo dividido em segmentos que, em conjunto com músculos especializados, ajudam na sua movimentação pelos canais/tuneis criados pelas mesmas (Karaca, 2010). O primeiro segmento da minhoca denominado de peristómio (Fig.1), é constituído pela boca que contem uma espécie de lóbulo, chamado de protostómio que serve para estas se orientarem na sua movimentação pelo solo. A cerca de um terço da boca, encontra-se uma protuberância na pele da minhoca denominado de clitelo (Fig. 1), de onde são segregados casulos viscosos contendo ovos que se desenvolvem dando origem a minhocas juvenis. O clitelo é um órgão importante para a identificação de espécies de minhocas, através do número de segmentos e cor dos mesmos que o formam. O último segmento, o periprocto (Fig.1), é por onde o alimento é excretado.

Devido às minhocas não possuírem sistema respiratório desenvolvido, estas têm que respirar através da pele (respiração cutânea) e manter a mesma húmida, sendo propício à absorção, pela pele, de substâncias tóxicas presentes no meio, como através da ingestão de solo (García-Pérez *et al.*, 2014). Desta maneira, as minhocas são utilizadas com muita frequência como bioindicadores em testes ecotoxicológicos, para ser conhecida a toxicidade de certos compostos como os pesticidas e os seus impactos no ambiente. As minhocas são também extremamente relevantes para o ambiente, contribuindo para a qualidade do solo, favorecendo plantas e animais. Estes efeitos devem-se ao facto de os tuneis criados pelas mesmas, contribuírem para a entrada de ar e água através do aumento da porosidade do solo, como também ao facto da ingestão e excreção da matéria orgânica presente no solo, controlando os níveis da mesma e favorecendo a atividade microbiana do solo (Karaca, 2010; Sivasankari, 2016).

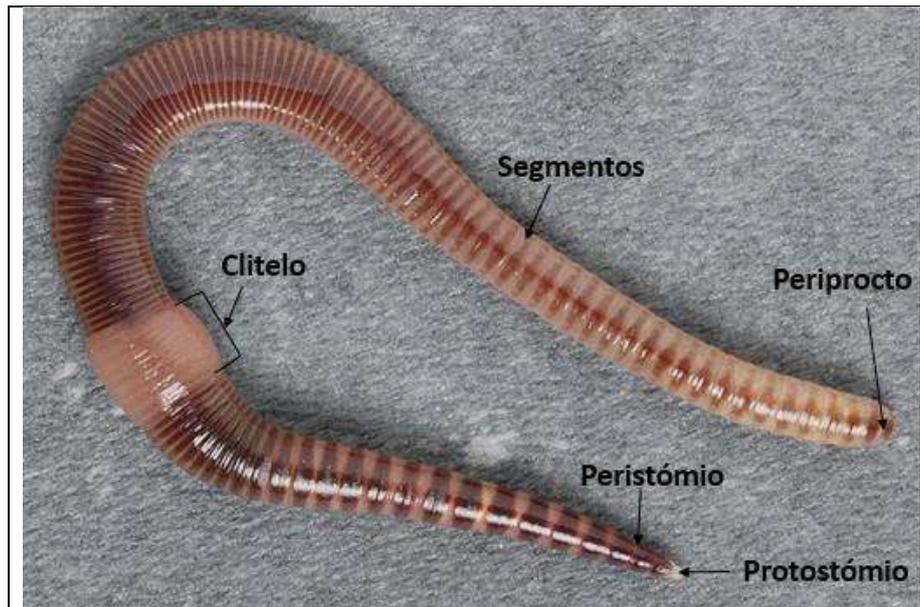


Figura 1: Fotografia relativa à fisionomia de uma minhoca adulta da espécie *Eisenia fetida* e respetiva anatomia externa (Adaptado de Carvalho, 2015)

No México, [García-Pérez et al. \(2014\)](#) estudaram os efeitos adversos do glifosato nas comunidades de minhocas numa área agrícola dedicada ao cultivo de café (temperatura média anual de 19°C e uma precipitação anual de 1750mm).

Foram analisados 8 lotes de aproximadamente 1ha cada, sob a sombra de Chalahuite, árvores cultivadas em conjunto com o café. Metade dos lotes estavam inseridos em áreas que estiveram sujeitas à aplicação de 3 formulações de glifosato (Glyphos, Classical Faena e Faena Fuerte), durante um período de 22 anos. A outra metade, encontrava-se há 7 anos, livre da aplicação de glifosato ou qualquer outro herbicida. Para cada lote, através da porosidade e fluxo de infiltração ([Gómez-Tagle Chávez et al., 2010](#)), foi determinada a infiltração constante usando infiltrómetros de minidiscos de raio de 1.59cm. Os lotes sem a aplicação de glifosato, apresentaram mais de 45% de infiltração do que os lotes com a aplicação de glifosato devido à maior existência de minhocas.

A amostragem das minhocas consistiu na extração, em cada lote, de um monólito de solo com 25×25×30cm ([Anderson e Ingram, 1994](#)), seguindo a norma da ISO 23611-1:2006. Uma vez em laboratório, procedeu-se à identificação de todas as minhocas relativa, à espécie, local (exóticas, nativas) e respetivo grupo ecológico ([Lohm e Persson, 1978](#)). Finalmente, foi registada a densidade e a biomassa das minhocas, expressa em termos de densidade e biomassa por m<sup>2</sup>.

Nas amostras de solo recolhidas, foram identificadas duas espécies de minhocas exóticas, nomeadamente *Pontoscolex corethrurus* e *Amyntas corticis*. A espécie *A. corticis* foi encontrada somente nas amostras provenientes dos lotes não sujeitos à aplicação de glifosato. Uma grande diferença na biomassa e densidade das minhocas foi observada entre as amostras dos lotes, com e sem a aplicação de glifosato. Os lotes sem a aplicação de glifosato, apresentaram cerca de 200% mais biomassa e densidade do que os lotes com aplicação de glifosato. Para os casulos das duas espécies de minhocas, os resultados revelaram igual tendência, com os lotes ausentes de aplicação de glifosato.

Apesar da alteração da biomassa, densidade, diversidade de minhocas e do número de casulos por m<sup>2</sup>, através do glifosato, [García-Pérez \*et al.\* \(2014\)](#) não puderam afirmar a toxicidade do glifosato na comunidade das minhocas, pois a quantidade de glifosato aplicada em campo não foi medida. Porém, devido a discrepância elevada entre os dois tratamentos, sendo a única diferença entre eles, a aplicação de glifosato, supôs-se que o glifosato teve impacto na comunidade das minhocas a nível do crescimento e distribuição dos indivíduos, como na diminuição do número de espécies. Em último lugar, os lotes com a aplicação de glifosato, tiveram uma taxa de infiltração de água no solo menor do que os lotes sem a aplicação de glifosato. Visto que as minhocas afetam a infiltração de água no solo através da criação de canais originados pela sua locomoção, a diminuição da biomassa, densidade e diversidade das mesmas fará com que haja menor número de canais tendo assim impacto na quantidade de infiltração de água.

Foi realizado um estudo em Curitiba, Brasil, por [Niemeyer \*et al.\* \(2018\)](#), com o intuito de analisarem o efeito de 4 formulações comerciais de glifosato, aplicadas em dose recomendadas (720g/L), em minhocas (*Eisenia andrei*).

Cada formulação de glifosato (Roundup, Trop, Zapp e Crucial) foi aplicada na dose recomendada de 720g/L, em 3 parcelas de uma área agrícola, com o efeito de controlar a aveia preta (*Avena sativa*). Passados 11 dias da aplicação em campo dos herbicidas à base de glifosato, foi extraída uma amostra de cada parcela. Foram também extraídas várias amostras de uma parcela não sujeita a qualquer tipo de pesticida, para grupo de controlo.

A espécie de minhoca usada, foi obtida através de culturas em laboratório, sob um regime natural de 12h dia, 12h noite e criada de acordo com as diretrizes da ISO 17512-1:2008.

Os testes de fuga, foram utilizados recipientes com solo contaminado pelas várias soluções de glifosato e solo sem glifosato, ambos recolhidos no campo. Cada formulação de glifosato foi testada sob as mesmas condições para uma obtenção de resultados mais precisa.

O teste de fuga foi realizado em recipientes com separador central contendo, solo contaminado com um determinado herbicida à base de glifosato e solo de controlo. Após a retirada do separador, foram adicionadas 10 minhocas no centro de cada recipiente. Após 48h foi colocado o separador central para a contagem dos indivíduos que se encontravam em cada tipo de solo (controlo ou contaminado). Além do teste de fuga, procedeu-se à identificação da distribuição e número de minhocas pelas parcelas contaminadas e de controlo, através da extração de monólitos de 30 × 30 × 25 cm de solo.

Através da análise dos resultados dos testes de fuga, [Niemeyer \*et al.\* \(2018\)](#) concluíram que as minhocas não foram afetadas pelas formulações de glifosato, pois estas apresentaram uma uniformidade na escolha de solo contaminado e de controlo. Relativamente ao teste que visou a extração de monólitos de solo das várias parcelas (contaminadas e controlo), este corroborou os resultados obtidos nos testes de fuga com minhocas, não havendo também impacto das formulações de glifosato na comunidade de minhocas presentes em campo. Com base nas amostras foi possível concluir que as 4

formulações de glifosato (Roundup, Trop, Zapp e Crucial) aplicadas na dose recomendada de 720g/L, não apresentaram efeito negativo nas minhocas.

Foi realizado um estudo num campo agrícola localizado em Coimbra desprovido da aplicação de pesticidas durante 6 anos, por Santos *et al.* (2012) com o desfecho de avaliar, o impacto da aplicação do glifosato no solo, em minhocas (*E. andrei*).

Duas semanas antes da aplicação do herbicida Montana (30,8% de glifosato como ingrediente ativo) no campo agrícola, a vegetação foi cortada e o solo sujeito a lavoura. Foram estipuladas 5 parcelas de solo contaminado com a formulação Montana e 5 parcelas de solo controlo (sem a aplicação de pesticidas). As 5 parcelas de solo contaminado foram sujeitas a uma dose recomendada de 2520g/ha de glifosato, sendo este herbicida aplicado através de um pulverizador. Dois dias depois da aplicação da concentração referida, foi aplicada, utilizando a mesma técnica, a dose cumulativa anual recomendada nas parcelas de solo contaminado, simulando o pior cenário possível. A assimilação do herbicida foi assegurada, pela simulação de chuva por parte da equipa. As parcelas de controlo estiveram sujeitas à mesma quantidade de água que as parcelas contaminadas, para o solo apresentar níveis de humidade semelhante. Dois dias depois, foram recolhidas amostras de solo de cada parcela (solo contaminado e controlo).

As 5 amostras de solo contaminado com glifosato, foram misturadas com o solo controlo (diluição) para serem obtidas várias concentrações (25, 50, 75 e 100%) da dose recomendada de glifosato aplicado, sendo o solo proveniente desta mistura, utilizado no teste de fuga com as minhocas. Os testes de fuga com as minhocas da espécie *E. andrei*, foram executados com base nas diretrizes das ISO 17512-2:2007.

O teste de fuga foi realizado em recipiente com separador central contendo, 250g de solo contaminado com glifosato e 250g de solo de controlo. Cada combinação de solo de controlo com solo contaminado (respetiva diluição de glifosato) foram replicados 5 vezes. Após a retirada do separador, foram adicionadas 10 minhocas no centro de cada recipiente. O ensaio durou 48h, com fotoperíodo de 16h dia e 8h noite, e no final deste período, foi posto o separador central para a contagem de indivíduos que se encontravam em cada tipo de solo (controlo ou contaminado).

Os solos contaminados com 25, 50 e 75% de glifosato apresentaram, respetivamente, 58, 76 e 66% mais minhocas do que o solo de controlo. Já os recipientes com solo contaminado com 100% de glifosato (dose recomendada), apresentou mais 58% de minhocas no solo controlo. Em todos os tipos de tratamento com as respetivas diluições, não houve morte de indivíduos.

Através da análise dos resultados dos testes de fuga, Santos *et al.* (2012) concluíram que o glifosato em concentrações menores que a dose recomendada (diluição de 25, 50 e 75%), não apresenta efeitos adversos na comunidade de minhocas, pois estas foram encontradas em maior número na parte do recipiente que continha o solo contaminado. Já nos recipientes contendo o solo contaminado com a concentração recomendada de glifosato (solo 100% contaminado), as minhocas apresentaram uma preferência pelo solo de controlo, transmitindo a ideia de que a dose recomendada e possivelmente doses superiores de glifosato, terão efeitos potencialmente adversos nas

minhocas como a diminuição da sua atividade. Em conclusão por parte de Santos *et al.* (2012), o glifosato não apresenta efeitos negativos nas minhocas em concentrações menores que a recomendada, mas sim, favorece a atividade das mesmas, promovendo o contributo destas para a qualidade do solo.

Foi realizado um estudo por Mele e Carter (1999) em noroeste de Victoria, Austrália, com o objetivo de analisar os efeitos de várias práticas de cultivo numa zona agrícola, incluindo o efeito do glifosato, sobre a densidade da comunidade de minhocas. A área em questão é influenciada por um clima frio e húmido no inverno (precipitação média anual de 650mm) e por um clima bastante quente e seco durante o verão.

Durante dois anos consecutivos, foi aplicado glifosato, na dose recomendada e no dobro da dose recomendada (1L/ha e 2L/ha, respetivamente) a uma área de solo. Após a aplicação do glifosato, foi semeado trigo com a ajuda de um semeador Duncan de disco triplo. Além da área sujeita ao tratamento com glifosato, foi utilizada uma área de solo como controlo, desprovida da aplicação de glifosato, mas igualmente sujeita ao semeio de trigo durante os dois anos.

A amostragem das minhocas consistiu na extração, em cada tratamento, de uma camada de solo (20cm<sup>2</sup> × 10cm de profundidade). Todas as minhocas que se encontravam no bloco de solo, foram identificadas com base na sua fase de desenvolvimento (juvenil, sub-adulta, adulta) e espécie. Após o sucedido, a equipa determinou a biomassa total para cada fase das minhocas como também o número de indivíduos por m<sup>2</sup>.

Ao fim de dois anos, o solo sujeito à aplicação de glifosato na dose recomendada (1L/ha), apresentou cerca de 55 indivíduos por m<sup>2</sup> (densidade), onde mais de 60% destes se encontravam na fase adulta e somente 4% na fase juvenil. Já no solo sujeito à aplicação de glifosato no dobro da dose recomendada (2L/ha), o número de minhocas aumentou para 63 indivíduos por m<sup>2</sup>, onde 80% se encontravam na fase adulta e 17% na fase juvenil. O número de minhocas no solo de controlo foi substancialmente inferior aos dois tratamentos anteriores, apresentando 21 indivíduos por m<sup>2</sup>, com uma distribuição uniforme na fase de desenvolvimento. Relativamente à percentagem de espécies de minhocas encontradas em cada tratamento, temos a Tabela 1.

Tabela 1: Percentagem de espécies de minhocas encontradas/sujeitas aos vários tipos de tratamentos (Adaptado de Mele e Carter, 1999).

Espécie	Tratamento		
	Controlo	Glifosato	Glifosato 2x
<i>A. trapezoides</i>	20%	15%	16%
<i>A. rosea</i>	/	/	9%
<i>M. dubius</i>	60%	69%	73%
<i>M. phosphoreus</i>	20%	16%	2%

Através da discrepância de resultados relativos à densidade de minhocas obtida nos vários tipos de tratamento, Mele e Carter (1999) concluíram que, o glifosato em ambas as doses testadas (recomendada e 2× recomendada), estimula

o aparecimento de determinadas espécies de minhocas (densidade) e consequente atividade destas no solo. Existem determinadas espécies de minhocas mais suscetíveis ao glifosato, traduzindo-se no decréscimo da sua densidade e consequente atividade, podendo a alteração destas variáveis, indicar efeitos adversos em espécies “frágeis” (*M. phosphoreus*) à aplicação de glifosato. [Mele e Carter \(1999\)](#) concluíram que, muito possivelmente o aumento da densidade das minhocas, deveu-se também ao aumento da população microbiana da área, graças à aplicação do glifosato (dados não publicados no artigo), havendo desta maneira maior disponibilidade de alimento (matéria orgânica) para a comunidade de minhocas, proveniente da atividade dos microrganismos.

## 2.2. Estudos Ecotoxicológicos de Campo com Colêmbolos para Avaliação dos Efeitos do Glifosato

Os colêmbolos são um dos artrópodes terrestres mais abundantes no solo, possuindo um tamanho de apenas alguns milímetros, que favorece a disponibilidade de habitat nas partículas do solo (Hopkin, 1997). A maioria dos colêmbolos alimentam-se principalmente de hifas fúngicas (micélio dos fungos) ou de matéria orgânica proveniente das plantas podendo, ao mesmo tempo, influenciar o crescimento de associações simbióticas como as micorrizas (Hopkin, 1997). Em muitos casos, os colêmbolos são um dos fatores que previnem o alastramento de fungos com características nefastas para o sistema radicular das plantas.

Nos colêmbolos, a espécie *Folsomia candida* (Fig. 2), apresenta um abdômen segmentado com presença de cerdas (pelos rígidos), sendo o primeiro segmento torácico, o protórax (segmento mais anterior do tórax) reduzido (Deharveng, 2004). Na parte frontal é encontrada a cabeça, constituída por duas antenas e peças bucais, como a ausência de ocelos (mancha ocular). Os colêmbolos, tal como a *F. candida*, são seres que não apresentam metamorfose no seu ciclo de vida (ametábolos), fazendo com que os indivíduos na fase inicial de desenvolvimento possuam características bastante semelhantes aos indivíduos adultos (Zeppelini e Bellinim, 2004).

Devido aos colêmbolos apresentarem uma elevada sensibilidade às diferentes práticas de manutenção do solo, através da abundância e atividade dos mesmos (Gardi *et al.*, 2002), estes são reconhecidos como bioindicadores da qualidade do solo. Tal sensibilidade, permite que certos aspetos do solo sejam identificados, quando as comunidades de colêmbolos são afetadas por perturbações antrópicas, como mudanças químicas no solo, presença de tóxicos como metais pesados (Santorufio *et al.*, 2012), défice na disponibilidade de nutrientes do solo e estado vegetativo das plantas.

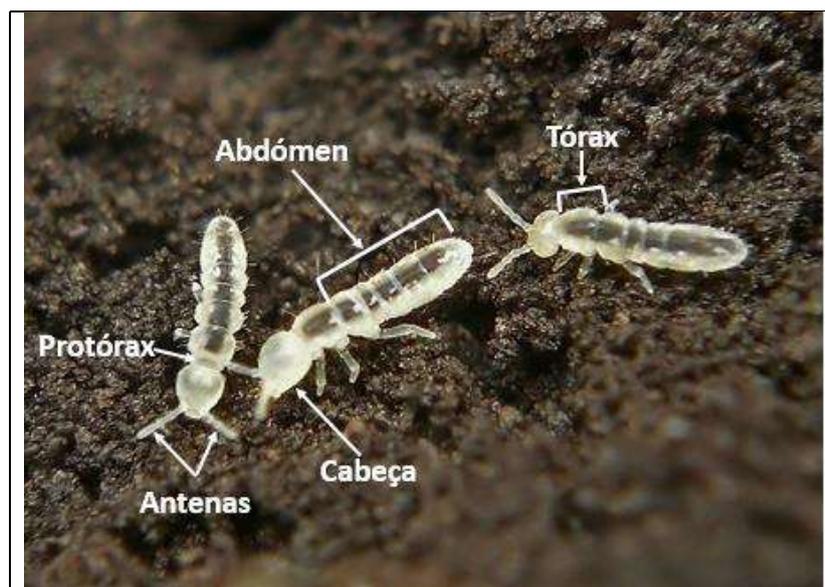


Figura 2: Fotografia relativa à fisionomia de 3 colêmbolos da espécie *F. candida* e anatomia exterior (Adaptado de Ryszard, flickr.com)

## 2.2. – Estudos Ecotoxicológicos de Campo com Colêmbolos para Avaliação dos Efeitos do Glifosato

Durante dois anos, [Renaud et al. \(2004\)](#) realizaram um estudo em vinha situada em Rodilhan, França, com a finalidade de analisar o efeito de vários tipos de práticas de manutenção de solos, usando um herbicida à base de glifosato, sobre a comunidade de colêmbolos.

Foram analisadas 6 parcelas, cada uma com 15 videiras do tipo *Syrah*, ao longo de quatro filas. Cada prática foi aplicada a 2 parcelas, sendo que as 3 práticas utilizadas neste estudo consistiram em:

- POST – aplicação de 15L/ha de herbicida pós-emergente (glifosato como ingrediente ativo) em 3 meses e 3.5L/ha num único mês;
- FLOR – sem adição de herbicidas e presença de flora natural (ervas) controlada através do corte parcial das mesmas;
- TIL – sem aplicação de herbicidas e sujeita a lavoura até 10-15cm de profundidade.

A amostragem dos colêmbolos consistiu na extração de 6 amostras de 400cm<sup>3</sup> de solo por mês durante 12 meses, retiradas de cada parcela até 10cm de profundidade. Uma vez em laboratório, os colêmbolos foram extraídos das amostras através do funil de Tullgren durante um período de 15 dias ([Tullgren, 1918](#)) e procedida à determinação do número de indivíduos e espécies de colêmbolos.

Durante a amostragem, foram encontrados 6686 colêmbolos distribuídos por 24 espécies. A maioria das espécies esteve presente em pequena abundância e com uma ocorrência inferior a 10% nas amostras. Somente 9 espécies foram encontradas com uma ocorrência superior a 10%. As parcelas sujeitas à prática FLOR, foram as que apresentaram um maior número e densidade de indivíduos (4115ind/m<sup>2</sup>), comparativamente a todas as outras práticas (POST, PRE, TIL). Relativamente ao número e densidade de indivíduos das restantes práticas, ordenando do tratamento com mais densidade para o com menos densidade: POST(3481ind/m<sup>2</sup>) >TIL(3478ind/m<sup>2</sup>) >PRE(788ind/m<sup>2</sup>). As parcelas sujeitas à prática TIL, apresentaram maior diversidade do que nas restantes práticas, sendo identificadas 21 espécies de colêmbolos.

Pela diferença de densidade e número de indivíduos da subclasse *Collembola*, nas diferentes práticas de manutenção do solo, [Renaud et al. \(2004\)](#) concluíram que a prática POST, na qual foi utilizado glifosato, apresentou um défice negativo, na densidade de colêmbolos. A prática FLOR foi a que apresentou maior densidade de colêmbolos, mas devido à prática POST ter uma densidade de 12,27% menor que a densidade referente à prática FLOR, há indícios que o glifosato apresenta efeitos, potencialmente adversos nos colêmbolos. A equipa conclui também que a inexistência de coberto vegetal (ervas daninhas) danificação da estrutura do solo (lavoura), impediu o desenvolvimento de um microclima favorável para as comunidades de colêmbolos, visto que as parcelas sujeitas à prática FLOR, são as únicas que apresentam coberto vegetal e a favorecerem a comunidade de colêmbolos.

Foi realizado um estudo em Curitiba, Brasil, por [Niemeyer et al. \(2018\)](#), com o intuito de analisarem o efeito de 4 formulações comerciais de glifosato, aplicadas em dose recomendadas (720g/L), em colêmbolos (*Folsomia candida*).

## 2.2. – Estudos Ecotoxicológicos de Campo com Colêmbolos para Avaliação dos Efeitos do Glifosato

Cada formulação de glifosato (Roundup, Trop, Zapp e Crucial) foi aplicada na dose recomendada de 720g/L, em 3 parcelas de uma área agrícola, para “queimar” aveia preta (*Avena sativa*). Passados 11 dias da aplicação em campo dos herbicidas à base de glifosato, a equipa extraio de cada parcela, uma amostra de solo até 20 cm de profundidade. Foram também extraídas várias amostras de uma parcela não sujeita a qualquer tipo de pesticida, para grupo de controlo.

A espécie colêmbolos, foi obtida através de culturas em laboratório, sob um regime natural de 12h dia, 12h noite e criados, de acordo com as diretrizes da ISO 11267:2014.

Nos testes de fuga com a espécie *F. candida*, foram utilizados recipientes ocupados por solo contaminado pelas várias soluções de glifosato e solo controlo ambos recolhidos no campo. Cada formulação de glifosato foi testada sob condições iguais para uma obtenção de resultados mais precisa.

O teste de fuga foi realizado em recipientes com separador central contendo, 300g de solo contaminado com um determinado herbicida à base de glifosato e 300g de solo de controlo. Após a retirada do separador, foram adicionadas 20 colêmbolos no centro de cada recipiente. O ensaio durou 48h com fotoperíodo de 12h dia e 12h noite e no final deste período, foi posto o separador central para a contagem de indivíduos que se encontravam em cada tipo de solo (controlo ou contaminado).

Através da análise dos resultados dos testes de fuga, Niemeyer *et al.* (2018) concluíram que os colêmbolos, evitaram os solos contaminados com a formulação de glifosato Zapp, mas relativamente às outras formulações, não foi observada fuga dos colêmbolos ao solo contaminado. A equipa supõe que os colêmbolos evitaram o solo contaminado pelo glifosato Zapp, devido à existência de acetato de potássio ( $\text{CH}_3\text{CO}_2\text{K}$ ) como ingrediente ativo na sua concentração, composto químico o qual não se encontra presente nas restantes formulações de glifosato utilizadas neste estudo. Posto isto, somente uma formulação de glifosato (Zapp) é que foi evitada pelos colêmbolos, podendo afetar negativamente a comunidade de colêmbolos a nível da sua atividade.

Foi realizado um estudo no sudoeste de Inglaterra, por Liu *et al.* (2016) com o intuito de determinar o impacto do tipo de práticas de manutenção do solo (aplicação de herbicida), nos colêmbolos.

Foram escolhidas 4 parcelas do local referente, sendo extraídas 3 tipos de amostras de cada uma das parcelas. A amostragem consistiu em 6 amostras de solo antes da aplicação de glifosato (S1), 6 amostras de solo depois da aplicação de glifosato (S2) e 6 amostras de solo depois de um ano sem a aplicação de glifosato. Cada amostra continha aproximadamente 1,2kg de solo.

Para a identificação e contagem de colêmbolos, as amostras de solo extraídas das parcelas, foram sujeitas a funis de Tullgren durante 14 dias. Ao fim do período referido foram identificadas 4 ordens de colembolos, nomeadamente *Poduromorpha*, *Entomobryomorpha*, *Neelipleona* e *Symphyleona*, sendo o número de indivíduos de cada ordem somado e extrapolado para número de indivíduos por m<sup>2</sup>. As amostras de solo sem

a aplicação de glifosato (S1) demonstraram uma abundância de aproximadamente 7000 indivíduos por m<sup>2</sup>. As amostras de solo com a aplicação de glifosato (S2), demonstraram uma abundância de aproximadamente 9900 indivíduos por m<sup>2</sup> e por fim, as amostras de solo desprovidas de aplicação de glifosato durante um ano (S3), demonstraram uma abundância de 9600 indivíduos por m<sup>2</sup>.

Pela discrepância dos valores de abundância por m<sup>2</sup> obtidos através das amostras de solo extraídas, Liu *et al.* (2016) concluíram que o glifosato tende a aumentar a abundância de colêmbolos através da disponibilidade de alimento no solo. Uma vez que o glifosato foi utilizado para eliminar as ervas daninhas das parcelas, houve um aumento da disponibilidade de alimento para os colêmbolos, aumentando assim a sua abundância de 7000 indivíduos por m<sup>2</sup> (amostras S1) para 9900 indivíduos por m<sup>2</sup> (amostras S2). Relativamente à abundância de colêmbolos por m<sup>2</sup>, obtida através das amostras de solo sem aplicação de glifosato durante um ano (amostras S3), ter sido maior do que nas amostras de controlo (amostras S1), a equipa conferiu que durante o tempo em que as amostras S3 tiveram sujeitas ao glifosato, houve um impacto positivo por parte do mesmo retratado através do aumento a abundância de colêmbolos. Desta maneira, o glifosato terá um impacto positivo no aumento da abundância de colêmbolos e por sua vez, na sua comunidade, proporcionado ainda, uma maior produtividade para futuras colheitas por parte do solo, devido à maior existência de matéria orgânica e de invertebrados reguladores da mesma.

Foi realizado um estudo num campo agrícola localizado em Coimbra desprovido da aplicação de pesticidas durante 6 anos, por Santos *et al.* (2012) com o objetivo de avaliar, o impacto da aplicação do glifosato no solo, em colêmbolos (*F. candida*).

Duas semanas antes da aplicação do herbicida Montana (30,8% de glifosato como ingrediente ativo) no campo agrícola, a vegetação foi cortada e o solo sujeito a lavoura. Foram estipuladas 5 parcelas de solo contaminado com a formulação Montana e 5 parcelas de solo controlo (sem a aplicação de pesticidas). As 5 parcelas de solo contaminado foram sujeitas a uma dose recomendada de 2520g/ha de glifosato, sendo este herbicida aplicado através de um pulverizador. Dois dias depois da aplicação da concentração referida, foi aplicada, utilizando a mesma técnica, a dose cumulativa anual recomendada nas parcelas de solo contaminado, simulando o pior cenário possível. A assimilação do herbicida foi assegurada pela simulação de chuva por parte da equipa. As parcelas de controlo estiveram sujeitas à mesma quantidade de água que as parcelas contaminadas, para o solo apresentar níveis de humidade semelhante. Dois dias depois, foram recolhidas amostras de solo de cada parcela (solo contaminado e controlo).

As 5 amostras de solo contaminado com glifosato, foram misturadas com o solo controlo (diluição) para serem obtidas várias concentrações (25, 50, 75 e 100%) da dose recomendada de glifosato aplicado, sendo o solo proveniente desta mistura, utilizado no teste de fuga com colêmbolos. Os testes de fuga com colêmbolos da espécie *F. candida*, foram executados com base nas diretrizes das ISO 17512-2:2007.

O teste de fuga foi realizado em recipientes (7cm de diâmetro e 6cm de altura) com separador central contendo, 30g de solo contaminado com glifosato e 30g de solo de

controlo. Cada combinação de solo controlo com solo contaminado (respetiva diluição de glifosato) foram replicados 5 vezes. Após a retirada do separador, foram adicionadas 20 colêmbolos no centro de cada recipiente. O ensaio durou 48h com fotoperíodo de 16h dia e 8h noite e no final deste período, foi posto o separador central para a contagem de indivíduos que se encontravam em cada tipo de solo (controlo ou contaminado).

Todos os solos contaminados com as várias concentrações (25, 50, 75 e 100%) da dose recomendada de glifosato, apresentaram progressivamente menos colêmbolos que o solo de controlo. Nos solos com 25% da concentração recomendada, 42% dos colêmbolos foram encontradas no mesmo, mas relativamente aos solos com 50% da dose recomendada, houve um aumento de 8% nos colêmbolos encontradas, havendo desta maneira uma distribuição uniforme entre o solo controlo e contaminado. Nos solos com as concentrações de 75 e 100%, houve uma diminuição progressiva de colêmbolos encontrados nos solos contaminados, descrevendo cada vez mais um comportamento “repelente” por parte do solo contaminado para com os colêmbolos. Em todos os tipos de tratamento com as respetivas diluições, houve uma mortalidade inferior a 20%, nas concentrações de 75 e 100% da dose recomendada.

Através da análise dos resultados dos testes de fuga, Santos *et al.* (2012) concluíram que o glifosato, em concentrações de 75 e 100% da dose recomendada, apresenta um comportamento “repelente” e negativo para a comunidade de colêmbolos, retratado pela mortalidade de alguns indivíduos e diminuição da sua atividade e densidade nos solos contaminados.

### 2.3. Estudos Ecotoxicológicos de Campo com Nematodes para Avaliação dos Efeitos do Glifosato

Os Nematodes (Fig. 3) são seres alongados, cilíndricos, transparentes (depende da espécie) e sem segmentos no se corpo, pertencendo ao filo Nematoda, apresentando um tamanho entre espécies muito variando de 5mm a 6m de comprimento. Estes seres vivos têm como habitat o meio aquático (água doce e salgada) e terrestre (solo), apresentando algumas espécies comportamento de parasitismo para com animais e plantas (Blaxter et al., 1998). Em circunstâncias desfavoráveis, certas espécies de nematodes conseguem suspender as suas funções básicas (criptobiose), sendo possível aguentarem e sobreviverem tanto a temperaturas altas como baixas (Zuckerman, 2012).

A epiderme dos nematodes é composta por uma massa de material celular que segrega uma cutícula espessa que, durante o crescimento do nematode até à fase adulta, será renovada periodicamente. O principal papel da cutícula, é proporcionar suporte e facilidade no movimento do nematode, através de músculos que se encontram sob a epiderme num arranjo longitudinal, ao longo do corpo (Zuckerman, 2012). A cabeça dos nematodes, possui pequenos sensores para estes se orientarem no meio em que se encontram e uma abertura onde se encontra a boca que, culmina numa faringe extremamente musculada, para onde o alimento é sugado e esmagado. O alimento é depois digerido numa cavidade desprovida de qualquer musculo, absorvido e finalmente excretados os dejetos pelo ânus.

Devido a estes seres vivos apresentarem um efeito regulador sobre as populações microbianas do solo, na quantidade de matéria orgânica através da sua decomposição e impacto na manutenção de nutrientes disponíveis (Zuckerman, 2012), estes são em muitos caos, utilizados como bioindicadores da qualidade do solo. Em certos testes ecotoxicológicos, são analisados os efeitos de substâncias tóxicas na comunidade de nematodes, de maneira a ser avaliada a toxicidade da substancia em causa. Uma vez a toxicidade conhecida através da mortalidade, diminuição da atividade, abundância e de outros fatores nos nematodes, pode-se compreender o papel que estes têm na qualidade no solo, pois quando as comunidades destes são afetadas, certas propriedades do solo são também afetadas (Wilson e Kakouli-Duarte, 2009).



Figura 3: Fotografia relativa à fisionomia de um nematode benéfico para o solo (Elaine R. Ingham).

Hagner *et al.* (2019) realizaram um estudo com a finalidade de analisar os efeitos de herbicidas à base de glifosato (Roundup), na abundância (biomassa) de nematodes, numa área agrícola do sudoeste da Finlândia.

Foram analisadas várias parcelas, sujeitas a 3 tipos de tratamento. O primeiro tratamento (“W”), consistindo em parcelas não sujeitas a qualquer tipo de herbicida, apresentando ervas daninhas. O segundo tratamento (“H”), consistindo em parcelas não sujeitas a qualquer tipo de herbicida, mas as ervas daninhas foram eliminadas por processos de lavoura. O último tratamento (“RH”) , consistiu em parcelas sujeitas à aplicação de Roundup para a eliminação das ervas daninhas e subsequente processos de lavoura.

Em 2016 a abundância dos nematodes foi afetada significativamente pelo tratamento com glifosato/lavoura, apresentando um baixo número de indivíduos comparativamente aos outros tratamentos. Este tratamento, apresentou menos indivíduos do que o tratamento não sujeito a qualquer tipo de herbicida. Relativamente ao tratamento unicamente com lavoura, o tratamento com glifosato/lavoura apresentou, no geral, menos abundância de indivíduos, sendo possível deduzir que o glifosato é o principal fator com impacto na abundância de nematodes. No entanto, no ano de 2017 as parcelas sujeitas ao glifosato/lavoura, tiveram menos 75% nematodes do que as parcelas não sujeitas a qualquer tipo de herbicida.

Pelos valores obtidos no estudo relativamente à abundância de nematodes, Hagner *et al.* (2019) concluíram que os tratamentos sujeitos ao herbicida à base de glifosato Roundup, tiveram impacto negativo e cumulativo na comunidade de nematodes. No ano 2016, as parcelas sujeitas à aplicação de glifosato/lavoura, apresentaram valores de abundância menores do que as parcelas não sujeitas à aplicação de herbicidas, tal como relativamente às parcelas sujeitas unicamente a lavoura, apesar da discrepância ser mínima. Comparativamente a 2016, no ano de 2017 os valores de abundância de nematodes foram ainda menores nas parcelas sujeitas ao glifosato/lavoura e maiores nas parcelas sem a utilização de herbicidas. Relativamente ao processo com glifosato/lavoura e processo unicamente com lavoura, não houve diferença digna de ser mencionada, não sendo encontrada, neste ano, relação entre a metodologia de lavoura e a na aplicação de glifosato e consequente lavoura.

## 2.4. Estudos Ecotoxicológicos de Campo com Ácaros para Avaliação dos Efeitos do Glifosato

Os ácaros (Fig. 4) são seres de tamanho bastante diminuto (200 – 800  $\mu\text{m}$ ), dispersos por todos os ecossistemas da Terra, podendo ser encontrados a grande altitude como no solo do Monte Evereste (5km de altitude), a grandes profundidades no norte do Oceano Pacífico (5km de profundidade) e até em nascentes tremais (Wilson, 2017). Apesar de muitas espécies de ácaros serem responsáveis pela transmissão de doenças aos humanos, às plantas e animais, há certas espécies como a *Diapterobates notatus* cujo papel para o ecossistema, tem-se revelado positivo, através de processos de mineralização e decomposição de matéria no solo (Benckiser, 1997).

Grande parte dos ácaros contém na sua fisionomia, uma espécie de pelos denominados de *setae*, cuja função é detectar pequenas vibrações no meio em que se encontram, podendo também ajudar na orientação (Balogh e Mahunka, 2012). Os ácaros são maioritariamente distinguidos pela falta de segmentos no corpo, apresentando uma região frontal denominada de gnatosoma, onde se encontra a boca e estruturas segmentadas (apêndices articulados) chamadas de pedipalpos, que atuam como “órgãos” sensoriais ou ajudam na alimentação dos indivíduos. Por sua vez, a região traseira dos ácaros, o idiosoma, é composta pelas patas, aberturas genitais, anais e poros respiratórios, como em muitos casos, a existência de placas quitinosas (*sclerotized shields*), servindo como meio de defesa, oferecendo resistência ao corpo.

Devido aos ácaros realizarem processos de mineralização e decomposição de matéria existente no solo, proveniente tanto do mesmo, como de plantas e invertebrados, os ácaros são muitas vezes estudados a nível da ecotoxicologia e em estudos de avaliação do estado do solo, uma vez que influenciam a qualidade do mesmo (Benckiser, 1997). A decomposição e mineralização de matéria por parte da *D. notatus*, promove benefícios para a cadeia trófica da fauna e flora do solo, fazendo com que invertebrados e plantas tenham um desenvolvimento saudável através da maior disponibilidade de alimento, podendo exercer o seu papel na melhoria da qualidade do solo (Benckiser, 1997). Certos ácaros (Phytoseiids) são responsáveis pela regulação de certas comunidades de invertebrados do solo e da vegetação, incluindo outras espécies de ácaros, através da predação dos mesmos, prevenindo o desequilíbrio na cadeia trófica.



Figura 4: Ilustração da fisionomia de um ácaro pertencente à espécie *D. notatus* (Adaptado de Wilson, 2017)

Entre 2008 e 2009, [Mailloux et al. \(2010\)](#) realizaram um estudo em Guadalupe, arquipélago Francês, com o intuito de determinar o efeito de certas práticas de manutenção do solo, numa área agrícola de 3150m<sup>2</sup>, sobre a comunidade de ácaros pertencentes à família *Phytoseiid*.

Em agosto de 2008, foram iniciados dois tratamentos, o tratamento GLY (5 aplicações da formulação de glifosato Glyphos, na dose de 360g/L durante o período do estudo para regular a vegetação natural) e o tratamento LMV (corte uma vez por ano da vegetação natural e sem a aplicação de glifosato).

A amostragem dos ácaros realizou-se entre outubro de 2008, a julho de 2009, sendo em cada mês, efetuada uma amostragem em cada réplica de tratamento. Em cada amostragem, a equipa recorreu deposição de uma estrutura quadrangular de madeira (30 × 30cm) no solo, em que as folhas da vegetação que estivessem dentro do quadrado, seriam mergulhadas e agitadas num recipiente com água, para que os ácaros fossem extraídos e posteriormente contados em laboratório.

No fim da fase da amostragem, o tratamento LMV comparativamente ao tratamento GLY, apresentou maior número de indivíduos em todos os meses exceto em maio de 2009. Na totalidade o tratamento LMV apresentou 150% mais indivíduos do que o tratamento GLY.

Com os resultados obtidos através da análise dos tratamentos efetuados, [Mailloux et al. \(2010\)](#) concluíram que o glifosato (tratamento GLY) quando aplicado no solo para a regulação da vegetação, apresenta efeitos adversos na comunidade de ácaros, diminuindo desta maneira a sua abundância. Por sua vez, a utilização de métodos naturais como o corte esporádico da vegetação natural (tratamento LMV), não apresenta efeitos adversos como a aplicação de glifosato, mantendo a abundância de ácaros bastante uniforme ao longo do estudo.

Foi realizado um estudo em Lafayett, EUA por [Minor et al. \(2004\)](#), num campo de cultivo de aproximadamente 14.400ha, com o objetivo de determinar os efeitos de vários tipos de preparação/manutenção de solo para a produção de Salgueiros, na abundância e diversidade de ácaros.

Na preparação do campo de realização do estudo, toda a vegetação foi cortada e extraída do mesmo. Três semanas após o corte da vegetação, foi aplicado glifosato (2,25kg de ingrediente ativo por hectare) para manter o campo desprovido de vegetação natural. Relativamente aos processos de preparação/manutenção do solo, estes consistem no seguinte:

- Aplicação de glifosato (2,25kg de ingrediente ativo por hectare), Verão de 1996;
- Lavoura do solo, Outono de 1996;
- Inserção de cobertura vegetal (centeio), Outono de 1996;
- Aplicação de glifosato (2,25kg de ingrediente ativo por hectare), Primavera de 1997;
- Lavoura do solo, Primavera de 1997;
- Plantação de Salgueiros, 1999

Além do estudo com o campo sob o efeito de prática de manutenção/preparação do solo (aplicação de glifosato e lavoura), a equipa conduziu um estudo paralelo, onde o campo, solo e comunidade de ácaros, não se encontra sob o efeito de aplicação de glifosato ou lavoura. Neste caso, o terreno foi deixado no seu estado natural, recorrendo somente á plantação de salgueiros.

Na amostragem dos ácaros consistiu na extração de camadas de solo (25cm<sup>2</sup>, 5cm de profundidade) provenientes das parcelas sujeitas à aplicação de glifosato/lavoura e das parcelas de controlo. Todos os ácaros que se encontravam nas amostras de solo, foram extraídos, contados e futuramente identificados pela equipa, através da técnica de armadilha de funil de Tullgren. No total, foram encontrados 4646 ácaros pertencentes à sub-ordem *Oribatia* e 2028 ácaros pertencentes à ordem *Gamasida*. Durante os três anos de amostragem (1998, 1999 e 2000), o número de espécies, indivíduos e consequente atividade foi sempre maior nas parcelas cujo solo não se encontrava sob a aplicação de glifosato e lavoura.

Pelos valores e dados obtidos na fase de amostragem do estudo, [Minor et al. \(2004\)](#) concluíram que o conjunto das práticas de manutenção do solo, nomeadamente a aplicação de glifosato e lavoura do solo apresentam efeitos adversos na comunidade de ácaros, quer a nível da sua diversidade, como no número de indivíduos. Segundo os mesmos, a ativa interação com o meio em causa através da lavoura e aplicação de glifosato, implica efeitos negativos na comunidade de ácaros devido a irregularidade de espécies vegetativas existentes no local, uma vez que estas influenciam a existência acentuada de ácaros no solo. Para tal, foi sugerido a realização de teste futuros nos quais, a diversidade e número de ácaros fossem testadas em parcelas unicamente com glifosato, lavoura e controlo e comparadas entre si, para uma análise mais concisa sobre o efeito do glifosato.

Foi realizado um estudo por [Saraiva et al. \(2015\)](#), num terreno (1620m<sup>2</sup>) cultivado com pinhão-manso (*Jatropha curcas*), localizado no Campo Federal da Universidade de Tocantins, Brasil, com o objetivo de avaliar como várias práticas de manutenção do solo, influenciam a diversidade e abundância de ácaros.

No terreno foram iniciados 5 tipos de tratamentos, sendo cada um, atribuído a uma só parcela constituída por 6 exemplares de pinhão-manso. As 5 parcelas representadas pelo seu tratamento, apresentam 4m de comprimento e 8m de largura, sendo constituídas por 3 filas de cultivo (2 plantas de pinhão manso por fila). Relativamente aos tratamentos, estes são definidos por:

- A – Aplicação de glifosato nas linhas de cultivo e corte da vegetação natural entre as filas;
- B – Aplicação de glifosato nas linhas de cultivo e crescimento da vegetação entre as filas;
- C – Corte da vegetação nas linhas de cultivo e entre as mesmas (sem aplicação de glifosato)
- D – Corte da vegetação nas linhas de cultivo e crescimento da vegetação natural entre as filas;

- E – Não tratada (parcela de controlo).

A 3 doses de glifosato (Roundup Transorb, a 480g/L equivalente ácido) foram aplicadas na quantidade de 3L/ha.

A amostragem de ácaros pela equipa, teve início 15 dias antes da poda das plantas pinhão-manso, de maneira a ser conhecida a diversidade e abundância dos mesmos. Cada amostragem consistiu na extração de algumas folhas ao longo das plantas de pinhão-manso, como das ervas naturais encontradas entre as filas de cultivo. Uma vez em laboratório, as folhas e ervas foram armazenadas em tubos com 70% etanol e os ácaros encontrados nas mesmas, identificados.

A equipa encontrou um total de 20 espécies de ácaros a habitar as plantas de pinhão-manso, 3 espécies fitófagas, 14 espécies predatórias e 3 espécies com habitat de alimentação indefinido. A diversidade geral de ácaros, foi encontrada com maior intensificação, nos tratamentos com aplicação de herbicida. Por outro lado, a parcela de controlo foi a parcela que apresentou menor diversidade de ácaros comparado com os restantes tratamentos. A diversidade de espécies fitófagas nos tratamentos, não foi obtida com sucesso devido à sua pequena abundância em todos os tratamentos. Relativamente à diversidade das espécies predatórias, esta foi obtida em larga escala no tratamento sujeito à aplicação de glifosato nas filas de cultivo e corte da vegetação natural entre as filas.

Através dos dados obtidos nos 5 tratamentos efetuados, [Saraiva et al. \(2015\)](#) concluíram que o glifosato influencia os ácaros a habitarem as plantas de pinhão-manso, devido à escassez de habitat (fonte de alimento e proteção) que a vegetação natural (cortada e eliminada pelo glifosato) proporciona principalmente às espécies de ácaros predatórios ([Demite e Feres, 2005](#)). Devido à perda de vegetação natural, haverá maior diversidade de ácaros nas plantas de pinhão-manso, sugerindo que a aplicação de glifosato exerce um impacto nos ácaros (negativo em caso de não haver diversidade de vegetação) devido a toda a comunidade de ácaros existente no local, ser obrigada a migrar para a única vegetação existente, o pinhão-manso. Deste modo, [Saraiva et al. \(2015\)](#) sugerem que o glifosato poderá ter um impacto negativo na diversidade e abundância de ácaros através da destruição do habitat dos mesmos.

## CONSIDERAÇÕES FINAIS

Através da análise detalhada dos artigos referidos, foi possível chegar a uma conclusão sobre o impacto do glifosato e suas formulações, na comunidade de invertebrados não alvo do solo (minhocas, colêmbolos, nematodes, ácaros).

Ao sujeitarmos as minhocas e colêmbolos a circunstâncias como doses recomendadas de glifosato e a certas formulações do mesmo, aquando da existência de coberto vegetal natural, estes não apresentam respostas negativas, mas sim respostas positivas, traduzindo-se geralmente no aumento da sua diversidade e abundância nos solos contaminados. Devido à eliminação da vegetação por parte do glifosato, haverá uma maior disponibilidade de alimento sob a forma de matéria orgânica no solo, promovendo o aparecimento de várias espécies de minhocas e colêmbolos, como a atividade dos mesmos. Tal disponibilidade de alimento, influencia também o aumento da atividade microbiana, que por sua vez, irá aumentar a abundância das minhocas a partir da matéria orgânica decomposta por parte dos microrganismos e vice-versa. Tais acontecimentos, favorecem a qualidade do solo através do aumento da porosidade, arejamento, capacidade de infiltração de água, regulação de matéria orgânica e diminuição da compactação do solo por parte da atividade das diversas espécies de minhocas e suas interações com o meio.

Relativamente aos colêmbolos, a sua abundância irá exercer uma diminuição de fungos patogénicos e nematodes parasíticos dos sistemas radiculares das plantas que podem surgir, pois os colêmbolos alimentam-se dos mesmos, tal como se alimentam da matéria orgânica presente no solo, regulando-a. Desta maneira, a matéria orgânica presente no solo será regulada, e em conjunto com a atividade dos colêmbolos, haverá maior desenvolvimento de plantas, promovendo o aparecimento de outros invertebrados, contribuindo direta e indiretamente para qualidade do solo.

No entanto, existe a possibilidade de as minhocas e colêmbolos serem afetados pelo glifosato, devendo-se tal acontecimento à:

- Aplicação de glifosato e respetivas formulações serem aplicadas em doses superiores às doses recomendadas;
- Aplicação de determinadas formulações de glifosato (Glyphos, Zapp, Montana) cujas concentrações, apresentem ingredientes ativos (adjuvantes) nocivos para os invertebrados;
- Aplicação de glifosato e respetivas formulações na ausência de coberto vegetal (escassez de alimento e matéria orgânica);
- Aplicações sucessivas (número excessivo) na mesma área.
- Elevada suscetibilidade de certas espécies de minhocas ao glifosato e suas formulações.

No caso das minhocas, quando existe um défice na abundância e conseqüente reduzida atividade das mesmas, podem ser observadas mudanças negativas ao nível da qualidade do solo, como a pouca porosidade do solo, défice de arejamento e infiltração de água no solo e elevada compactação.

Nos colêmbolos, a diminuição da sua abundância, atividade e até ausência, fará com que fungos patogênicos e nematodes parasíticos se desenvolvam no solo livremente, deteriorando os sistemas radiculares de plantas como as próprias plantas, afetando indiretamente, a qualidade do solo. Além do referido, os níveis de matéria orgânica presentes no solo serão também afetados.

Relativamente aos nematodes e ácaros, estes apresentam uma elevada suscetibilidade à utilização de várias formulações de glifosato, mesmo estas, sendo aplicadas no terreno em doses recomendadas. Os ácaros da espécie *D. notatus* são influenciados negativamente pelas formulações de glifosato na sua abundância e consequente atividade, traduzindo-se no possível défice de mineralização e decomposição da matéria orgânica presente no solo. A diversidade de certas espécies pertencentes à família de Phytoseiids (ácaros), é também afetada devido à destruição parcial do seu habitat (vegetação), espécies as quais são predadoras de outras espécies de ácaros (*spider mites*) que danificam o sistema foliar de várias plantas, influenciando indiretamente a qualidade do solo.

Além dos ácaros, os nematodes também sofrem do mesmo problema relativamente a certas formulações de glifosato, cujas consequências são retratadas na diminuição da sua abundância de uma maneira cumulativa. Estes estão encarregues de controlar doenças transmitidas através de fungos, como beneficiar e controlar o ciclo de nutrientes em conjunto com outros invertebrados, proporcionando um meio saudável para os invertebrados, plantas e algas do solo e consequente qualidade do solo.

Todos os invertebrados foram afetados negativamente por certas formulações de glifosato. Desta maneira, a adversidade não provem tecnicamente do glifosato, mas é sim dos adjuvantes de certas formulações do mesmo, que contêm compostos tóxicos (ingredientes ativos), nocivos para a maioria dos invertebrados do solo. Posto isto, é extremamente importante que a gestão das doses aplicadas no solo (dose recomendada) como as próprias formulações, sejam muito bem estudadas, de maneira a se saber quais a formulações mais vantajosas a serem utilizadas que, proporcionem tanto a proteção das culturas como os invertebrados não alvo presentes no solo. Após o conhecimento de tais características, a formação dos técnicos encarregues de vender tais produtos fitofarmacêuticos e das pessoas que os aplicam, deve ser reforçada para a compreensão mais vívida do efeito, que a utilização incorreta e excessiva destes compostos acarreta no solo.

Além do solo, a aplicação incorreta de herbicidas pode também contaminar lençóis freáticos, rios e lagos, através da infiltração e drenagem dos mesmos no solo, aumentando a probabilidade de afetar os seres vivos que usufruem de tais meios.

Em modo de conclusão, uma vez que os invertebrados do solo estão em parte, encarregues de preservar e manter o solo saudável e produtivo, estes devem ser protegidos e não sujeitos à pressão a que são sujeitos pela aplicação de herbicidas como à não rotação de culturas. Caso no futuro, o ser humano continue a levar a cabo a exploração excessiva do solo, através do uso indiscriminado de pesticidas, haverá uma diminuição drástica na qualidade do solo, o que fará com que as colheitas deixem de ser produtivas, levando á impossibilidade de ser produzido alimento para os animais de pastagem, como para o respetivo ser humano.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Ahirwal, J. & Maiti, S. K. (2016). Assessment of soil properties of different land uses generated due to surface coal mining activities in tropical Sal (*Shorea robusta*) forest, India. *CATENA* 140: 155-163.
- Albers, C. N., Banta, G. T., Hansen, P. E. & Jacobsen, O. S. (2009). The influence of organic matter on sorption and fate of glyphosate in soil – Comparing different soils and humic substances. *Environmental Pollution* 157(10): 2865-2870.
- Alkorta, I., Aizpurua, A., Riga, P., Albiizu, I., Amézaga, I. & Garbisu, C. (2003). Soil Enzyme Activities as Biological Indicators of Soil Health. 18(1).
- Anderson, J. & Ingram, J. (1994). Tropical Soil Biology and Fertility: A Handbook of Methods. *Soil Science* 157: 265.
- Aprile, F. & Lorandi, R. (2012). Evaluation of Cation Exchange Capacity (CEC) in Tropical Soils Using Four Different Analytical Methods. *Journal of Agricultural Science* 4.
- Balogh, J. & Mahunka, S. (2012). *The Soil Mites of the World: Vol. 1: Primitive Oribatids of the Palaearctic Region*. Elsevier Science.
- Balota, E., Nogueira, M., Mendes, I., Hungria, M., Fagotti, D. S. L., Melo, G., Souza, R. C. & Melo, W. J. (2013). Enzimas e seu papel na qualidade do solo. 8: 189-249.
- Benckiser, G. (1997). *Fauna in Soil Ecosystems: Recycling Processes, Nutrient Fluxes, and Agricultural Production*. Taylor & Francis.
- Blanchart, E., Alain, A., Alegre, J., Duboisset, A., Villenave, C., Pashanasi, B., Lavelle, P. & Brussaard, L. (1999). Effects of earthworms on soil structure and physical properties. 149-172.
- Blaxter, M. L., De Ley, P., Garey, J. R., Liu, L. X., Scheldeman, P., Vierstraete, A., Vanfleteren, J. R., Mackey, L. Y., Dorris, M., Frisse, L. M., Vida, J. T. & Thomas, W. K. (1998). A molecular evolutionary framework for the phylum Nematoda. *Nature* 392(6671): 71-75.
- Capowiez, Y., Cadoux, S., Bouchant, P., Ruy, S., Roger-Estrade, J., Richard, G. & Boizard, H. (2009). The effect of tillage type and cropping system on earthworm communities, macroporosity and water infiltration. *Soil and Tillage Research* 105(2): 209-216.
- Carpenter, D., Hodson, M., Eggleton, P. & Kirk, C. (2008). The role of earthworm communities in soil mineral weathering: A field experiment. *Mineralogical Magazine* 72.
- Carvalho, D. (2015). *Zoologia: Filo Annelida*. Vol. 2015.
- Coleman, D., Blair, J., Elliott, E. & Wall, D. (1999). Soil Invertebrates. 349-377.
- Deharveng, L. (2004). Recent advances in Collembola systematic. *Pedobiologia* 48: 415-433.
- Demite, P. R. & Feres, R. J. F. (2005). Influência de vegetação vizinha na distribuição de ácaros em seringal (*Hevea brasiliensis* Muell. Arg., Euphorbiaceae) em São José do Rio Preto, SP. *Neotropical Entomology* 34: 829-836.
- Doran, J. W. & Parkin, T. B. (1994). Defining and Assessing Soil Quality. In *Defining Soil Quality for a Sustainable Environment*, 1-21.
- Edwards, C. A. (2002). Assessing the effects of environmental pollutants on soil organisms, communities, processes and ecosystems. *European Journal of Soil Biology* 38(3): 225-231.
- Fornara, D. A. & Tilman, D. (2008). Plant functional composition influences rates of soil carbon and nitrogen accumulation. *Journal of Ecology* 96(2): 314-322.
- Galli, F. (1964). *Microrganismos do Solo*.
- García-Palacios, P., Maestre, F. T., Kattge, J. & Wall, D. H. (2013). Climate and litter quality differently modulate the effects of soil fauna on litter decomposition across biomes. *Ecology Letters* 16(8): 1045-1053.

- García-Pérez, J. A., Alarcón-Gutiérrez, E., Perroni, Y. & Barois, I. (2014). Earthworm communities and soil properties in shaded coffee plantations with and without application of glyphosate. *Applied Soil Ecology* 83: 230-237.
- Gardi, C., Tomaselli, M., Parisi, V., Petraglia, A. & Santini, C. (2002). Soil quality indicators and biodiversity in northern Italian permanent grasslands. *European Journal of Soil Biology* 38(1): 103-110.
- Gianfreda, L., Antonietta Rao, M., Piotrowska, A., Palumbo, G. & Colombo, C. (2005). Soil enzyme activities as affected by anthropogenic alterations: intensive agricultural practices and organic pollution. *Science of The Total Environment* 341(1): 265-279.
- Goldman, A. (1995). Threats to sustainability in African agriculture: Searching for appropriate paradigms. *Human Ecology* 23(3): 291-334.
- Gómez-Tagle Chávez, A., Gutiérrez Gnechchi, J. A. & Zepeda Castro, H. (2010). Dispositivo de automatización para un infiltrómetro de campo con funcionamiento de Mariotte. *Terra Latinoamericana* 28: 193-202.
- Hagner, M., Mikola, J., Saloniemi, I., Saikkonen, K. & Helander, M. (2019). Effects of a glyphosate-based herbicide on soil animal trophic groups and associated ecosystem functioning in a northern agricultural field. *Scientific Reports* 9(1): 8540.
- Hopkin, S. P. (1997). *Biology of the Springtails: (Insecta: Collembola)*. OUP Oxford.
- Jernigan, A. B., Wickings, K., Mohler, C. L., Caldwell, B. A., Pelzer, C. J., Wayman, S. & Ryan, M. R. (2020). Legacy effects of contrasting organic grain cropping systems on soil health indicators, soil invertebrates, weeds, and crop yield. *Agricultural Systems* 177: 102719.
- Joko, T., Anggoro, S., Sunoko, H. R. & Rachmawati, S. (2017). Pesticides Usage in the Soil Quality Degradation Potential in Wanasari Subdistrict, Brebes, Indonesia. *Applied and Environmental Soil Science* 2017: 5896191.
- Karabelas, A., Plakas, K., Solomou, E. S., Drossou, V. & Sarigiannis, D. (2009). Impact of European legislation on marketed pesticides — A view from the standpoint of health impact assessment studies. *Environment international* 35: 1096-1107.
- Karaca, A. (2010). *Biology of Earthworms*. Springer Berlin Heidelberg.
- Keshavarzi, A. & Kumar, V. (2019). Ecological risk assessment and source apportionment of heavy metal contamination in agricultural soils of Northeastern Iran. *International Journal of Environmental Health Research* 29(5): 544-560.
- Konradsen, F., van der Hoek, W., Cole, D. C., Hutchinson, G., Daisley, H., Singh, S. & Eddleston, M. (2003). Reducing acute poisoning in developing countries—options for restricting the availability of pesticides. *Toxicology* 192(2): 249-261.
- Kumar, S., Maiti, S. K. & Chaudhuri, S. (2015). Soil development in 2–21 years old coalmine reclaimed spoil with trees: A case study from Sonepur-Bazari opencast project, Raniganj Coalfield, India. *Ecological Engineering* 84: 311-324.
- Lachnicht, S., Hendrix, P. & Zou, X. (2002). Interactive effects of native and exotic earthworms on resource use and nutrient mineralization in a tropical wet forest soil of Puerto Rico. *Biology and Fertility of Soils* 36(1): 43-52.
- Liu, W., Zhang, J., Norris, S. L. & Murray, P. J. (2016). Impact of Grassland Reseeding, Herbicide Spraying and Ploughing on Diversity and Abundance of Soil Arthropods. *Frontiers in Plant Science* 7(1200).
- Lohm, U. & Persson, T. (1978). Soil Organisms as Components of Ecosystems. Proc. VI. International Soil Zoology Colloquium, Uppsala, 1976. *Soil Science* 126(3).
- Lucas, N., Bienaime, C., Belloy, C., Queneudec, M., Silvestre, F. & Nava-Saucedo, J.-E. (2008). Polymer biodegradation: Mechanisms and estimation techniques — A review. *Chemosphere* 73(4): 429-442.
- Mailloux, J., Le Bellec, F., Kreiter, S., Tixier, M.-S. & Dubois, P. (2010). Influence of ground cover management on diversity and density of phytoseiid mites (Acari: Phytoseiidae) in Guadeloupean citrus orchards. *Experimental and Applied Acarology* 52(3): 275-290.

- Martínez-Hidalgo, P. & Hirsch, A. M. (2017). The Nodule Microbiome: N<sub>2</sub>-Fixing Rhizobia Do Not Live Alone. *Phytobiomes Journal* 1(2): 70-82.
- Mele, P. M. & Carter, M. R. (1999). Impact of crop management factors in conservation tillage farming on earthworm density, age structure and species abundance in south-eastern Australia. *Soil and Tillage Research* 50(1): 1-10.
- Minor, M. A., Volk, T. A. & Norton, R. A. (2004). Effects of site preparation techniques on communities of soil mites (Acari: *Oribatida*, Acari: *Gamasida*) under short-rotation forestry plantings in New York, USA. *Applied Soil Ecology* 25(3): 181-192.
- Monquero, P. A., Christoffoleti, P. J., Osuna, M. D. & De Prado, R. A. (2004). Absorção, translocação e metabolismo do glyphosate por plantas tolerantes e suscetíveis a este herbicida. *Planta Daninha* 22: 445-451.
- Nanda, A., Andrio, E., Marino, D., Pauly, N. & Dunand, C. (2010). Reactive Oxygen Species during Plant-microorganism Early Interactions. *Journal of integrative plant biology* 52: 195-204.
- Niemeyer, J. C., de Santo, F. B., Guerra, N., Ricardo Filho, A. M. & Pech, T. M. (2018). Do recommended doses of glyphosate-based herbicides affect soil invertebrates? Field and laboratory screening tests to risk assessment. *Chemosphere* 198: 154-160.
- Oerke, E. C. (2006). Crop losses to pests. *The Journal of Agricultural Science* 144(1): 31-43.
- Renaud, A., Poinot-Balaguer, N., Cortet, J. & Le Petit, J. (2004). Influence of four soil maintenance practices on Collembola communities in a Mediterranean vineyard. *Pedobiologia* 48(5): 623-630.
- Santorufu, L., Van Gestel, C. A. M., Rocco, A. & Maisto, G. (2012). Soil invertebrates as bioindicators of urban soil quality. *Environmental Pollution* 161: 57-63.
- Santos, M. J. G., Ferreira, M. F. L., Cachada, A., Duarte, A. C. & Sousa, J. P. (2012). Pesticide application to agricultural fields: effects on the reproduction and avoidance behaviour of *Folsomia candida* and *Eisenia andrei*. *Ecotoxicology* 21(8): 2113-2122.
- Saraiva, S. A., Sarmiento, R. A., Erasmo, E. A., Pedro-Neto, M., de Souza, D. J., Teodoro, A. V. & Silva, D. G. (2015). Weed management practices affect the diversity and relative abundance of physic nut mites. *Experimental and Applied Acarology* 65(3): 359-375.
- Schreinemachers, P. & Tipraqsa, P. (2012). Agricultural pesticides and land use intensification in high, middle and low income countries. *Food Policy* 37(6): 616-626.
- Sharma, S. B., Sayyed, R. Z., Trivedi, M. H. & Gobi, T. A. (2013). Phosphate solubilizing microbes: sustainable approach for managing phosphorus deficiency in agricultural soils. *SpringerPlus* 2(1): 587.
- Sivasankari (2016). A STUDY ON LIFE CYCLE OF EARTHWORM *EISENIA FOETIDA* 3(5).
- Šourková, M., Frouz, J. & Šantrůčková, H. (2005). Accumulation of carbon, nitrogen and phosphorus during soil formation on alder spoil heaps after brown-coal mining, near Sokolov (Czech Republic). *Geoderma* 124(1): 203-214.
- Stellin, F., Gavinelli, F., Stevanato, P., Concheri, G., Squartini, A. & Paoletti, M. G. (2018). Effects of different concentrations of glyphosate (Roundup 360®) on earthworms (*Octodrilus complanatus*, *Lumbricus terrestris* and *Aporrectodea caliginosa*) in vineyards in the North-East of Italy. *Applied Soil Ecology* 123: 802-808.
- Tejada, M. (2009). Evolution of soil biological properties after addition of glyphosate, diflufenican and glyphosate+diflufenican herbicides. *Chemosphere* 76(3): 365-373.
- Tullgren (1918). Ein sehr einfacher Ausleseapparat für terricole Tierformen. *Zeitschrift für Angewandte Entomologie* 4(1): 149-150.
- Uwizeyimana, H., Wang, M., Chen, W. & Khan, K. (2017). The eco-toxic effects of pesticide and heavy metal mixtures towards earthworms in soil. *Environmental Toxicology and Pharmacology* 55: 20-29.
- Vryzas, Z. (2018). Pesticide fate in soil-sediment-water environment in relation to contamination preventing actions. *Current Opinion in Environmental Science & Health* 4: 5-9.

- Watanabe, M., Ohta, Y., Licang, S., Motoyama, N. & Kikuchi, J. (2015). Profiling contents of water-soluble metabolites and mineral nutrients to evaluate the effects of pesticides and organic and chemical fertilizers on tomato fruit quality. *Food Chemistry* 169: 387-395.
- Wilson, M. J. & Kakouli-Duarte, T. (2009). *Nematodes as Environmental Indicators*. CABI.
- Wilson, N. A. (2017). Acarid. *Encyclopædia Britannica: Encyclopædia Britannica, inc.*
- World, B. (2007). *World Development Report 2008: Agriculture for Development*. The World Bank.
- Zaller, J. G. & Brühl, C. A. (2019). Non-Target Effects of Pesticides on Organisms Inhabiting Agroecosystems. *Front. Environ. Sci.*
- Zeppelini, D. & Bellini, B. C. (2004). Main Collembola Classes's Orders.
- Zhang, H., Xu, Z., Guo, K., Huo, Y., He, G., Sun, H., Guan, Y., Xu, N., Yang, W. & Sun, G. (2020). Toxic effects of heavy metal Cd and Zn on chlorophyll, carotenoid metabolism and photosynthetic function in tobacco leaves revealed by physiological and proteomics analysis. *Ecotoxicol Environ Saf* 202: 110856.
- Zuckerman, B. (2012). *Morphology, Anatomy, Taxonomy, and Ecology*. Elsevier Science.
- Zund, P. R., Pillai-McGarry, U., McGarry, D. & Bray, S. G. (1997). Repair of a compacted Oxisol by the earthworm *Pontoscolex corethrurus* (Glossoscolecidae, Oligochaeta). *Biology and Fertility of Soils* 25(2): 202-208.
- Zungu, N. S., Egbewale, S. O., Olaniran, A. O., Pérez-Fernández, M. & Magadlela, A. (2020). Soil nutrition, microbial composition and associated soil enzyme activities in KwaZulu-Natal grasslands and savannah ecosystems soils. *Applied Soil Ecology* 155: 103663.