



AValiação DO POTENCIAL GENOTÓXICO DA EXPOSIÇÃO AGUDA DE TRÊS TIPOS DE AGROTÓXICOS EM ANFÍBIOS

SILVIA PRICILA DA FRE ^{1,2*}, MARILIA TERESINHA HARTMANN^{3,2}

1 Introdução

As classes de agrotóxicos mais utilizados na agricultura são herbicidas, inseticidas e fungicidas. O herbicida picloram, inseticida imidacloprido e o fungicida clorotalonil são produtos químicos muito utilizados no Brasil (BOTELHO et al., 2012). Picloram é um herbicida utilizado em pastagens, classificado pela Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) como classe toxicológica I (extremamente tóxico). Imidacloprido é um inseticida muito utilizado para controle de grãos, classificado pela ANVISA como classe toxicológica III (moderadamente tóxico). Clorotalonil é um fungicida utilizado em culturas de vegetais e plantas, pela ANVISA é classificado com classe toxicológica III (moderadamente tóxico). Agrotóxicos quando inseridos no meio ambiente podem atingir outros compartimentos, prejudicando organismos não-alvo, como os anfíbios (MÉNDEZ et al., 2016). Os anfíbios são utilizados como bioindicadores da qualidade ambiental, devido a seu ciclo de vida ser aquático e terrestre, e pele permeável ficando susceptíveis à contaminação direta pelos contaminantes químicos, além disso, são facilmente observáveis em condições experimentais (ARCAUTE et al., 2014).

Para entender os efeitos causados por agrotóxicos em animais não-alvo, utiliza-se ensaios ecotoxicológicos como ferramenta de controle e monitoramento ambiental. A partir destes ensaios é possível avaliar os efeitos mutagênicos e genotóxicos dos agentes químicos, através de análises de micronúcleo celular (GONÇALVES et al, 2012). A genotoxicidade é uma ferramenta muito útil para avaliação do comportamento de compostos tóxicos, como os agrotóxicos quando inseridos no ambiente aquático. Dentro deste contexto, o teste de micronúcleo é simples, sensível, confiável e fornece um resultado imediato para o exame de danos genéticos causados pela presença de agentes químicos em um determinado ambiente.

1 Graduada em Engenharia Ambiental e Sanitária, Universidade Federal da Fronteira Sul, *campus* Erechim. contato: silvia_dafre@outlook.com

2 Grupo de Pesquisa: Laboratório de Ecologia e Conservação.

3 Doutora em Ciências Biológicas, Universidade Federal da Fronteira Sul, **Orientador**.



2 Objetivos

O presente estudo tem por finalidade avaliar o potencial genotóxico do herbicida picloram, inseticida imidacloprido e do fungicida clorotalonil, verificando a existência de micronúcleos em células do sangue de girinos de *Physalaemus gracilis* (Anura: Leptodactylidae).

3 Metodologia

Neste estudo foram utilizadas as formulações comerciais Picloram Padron, Imidacloprid Nortox e Clorotalonil Prevenil. Foram avaliadas quatro concentrações agudas de cada agrotóxico, baseadas em dados da literatura: 1,8; 3; 5 e 10 mg a.e.L⁻¹ de picloram (LAJMANOVICH et al., 2013) (a.e = equivalente ácido), 12,5; 50; 75 e 100 mg a.e.L⁻¹ de imidacloprido (ARCAUTE et al., 2014) e 0,0005; 0,01; 0,025 e 0,050 mg a.e.L⁻¹ de clorotalonil (MÉNDEZ et al., 2016). Como organismo-teste foram utilizados girinos de *Physalaemus gracilis* (Anura: Leptodactylidae). As desovas foram coletadas com menos de 24 horas de oviposição, em uma lagoa em área não agricultável (27°43' 46,11" Sul; 52°16' 54,40" Oeste), e criadas em laboratório sob condições controladas. Os ensaios de toxicidade aguda foram realizados com girinos de mesmo tamanho e estágio de desenvolvimento 25, o teste foi estático, com duração de 96 horas. O ensaio foi realizado em unidades experimentais (UE), em triplicata. Cada UE foi um recipiente de vidro com capacidade de 500 mL, contendo 10 girinos. As UEs receberam a solução contendo água dechlorada e a concentração de agrotóxico, e somente água dechlorada no controle.

Ao final do ensaio, foram retirados aleatoriamente 10 girinos das concentrações e do controle para o teste do micronúcleo. Foi retirada uma gota de sangue de cada girino e fixada em lâminas de microscopia com corante hematológico (Kit panótico rápido). A presença de micronúcleos foi analisada através da contagem de 1.000 eritrócitos de cada girino, em microscópio com a objetiva 100 X.

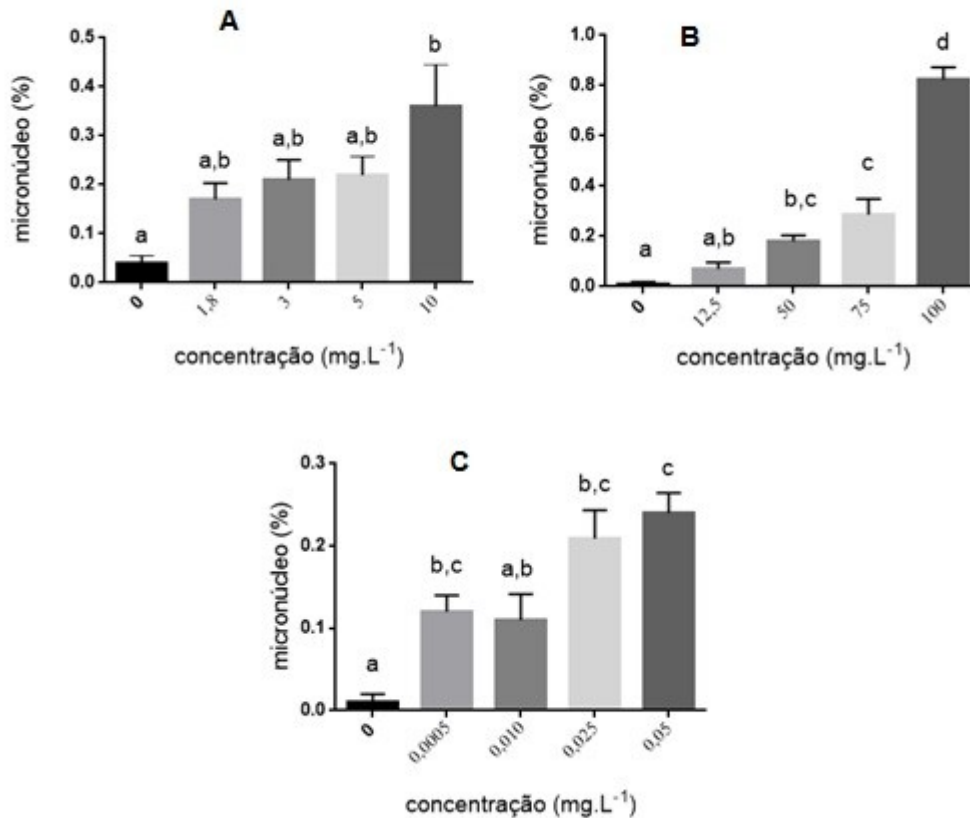
Para determinar as diferenças entre as concentrações dos grupos e do controle foi realizada análise de variância (ANOVA) seguida do teste de Tukey (p<0,05) com 95% de confiança, através do *software* GRAPH PAD PRISM 6.

4 Resultados e Discussão

Foram avaliados 139.263 eritrócitos de *P. gracilis*. A presença de micronúcleos nos girinos expostos foi significativo em 10 mg a.e.L⁻¹ de picloram (F_{4,45}= 5,41, p=0,001, Tukey=p<0,05), em 50, 75 e 100 mg a.e.L⁻¹ de imidacloprido (F_{4,39}= 41,50, p<0,0001, Tukey =p<0,05), e em

0,0005, 0,025 e 0,05 mg a.e.L⁻¹ de clorotalonil ($F_{4,40}=10,71$, $p<0,0001$, Tukey= $p<0,05$).

Figura 1: Micronúcleos detectados em girinos de *Physalaemus gracilis* expostos a diferentes concentrações de: (A) picloram; (B) imidacloprido; (C) clorotalonil.



Fonte: O autor, 2020.

Os três agrotóxicos induziram a formação de micronúcleos em girinos de *P. gracilis* demonstrando terem potencial genotóxico com capacidade de provocar alterações cromossômicas em organismos não-alvo, como os anfíbios. A presença de micronúcleos indica que esse composto modificou e induziu erros de formação das células nesse organismo.

5 Conclusão

A partir das análises realizadas em células de *P. gracilis* pelo teste do micronúcleo foi possível observar a presença significativa de micronúcleo em girinos expostos a concentrações agudas de picloram, imidacloprido e clorotalonil, demonstrando a genotoxicidade e as prováveis consequências dessa exposição para os girinos. São necessárias mais pesquisas sobre a



toxicologia desses agrotóxicos em concentrações crônicas em organismos aquáticos, para avaliar genotoxicidade e outros possíveis efeitos.

Referências

ARCAUTE, R.; PÉREZ-IGLESIAS, J.M.; NIKOLOFF, N.; NATALE, G.S.; LARRAMENDY, M. L. Genotoxicity evaluation of the insecticide imidacloprid on circulating blood cells of Montevideo tree frog *Hypsiboas pulchellus* tadpoles (Anura, Hylidae) by comet and micronucleus bioassays. **Ecological Indicators**, n. 45, p. 632–639, 2014.

BOTELHO, R. G.; DOS SANTOS, J. B.; FERNANDES, K. M.; NEVES, C. A. Effects of atrazine and picloram on grass carp: acute toxicity and histological assessment. **Toxicological & Environmental Chemistry**, v.94, n. 1, p. 121-127, 2012.

GONÇALVES, M. W.; OLIVEIRA, H. P.; SOUZA, C. C. N.; NOMURA, F.; CARVALHO, F. W.; MACIEL, M. N.; DA CRUZ, A. D.; MELO E SILVA, D. M.; BASTOS, R. P. Análises Mutagênicas de Anuros em áreas de Mineração de níquel. **Estudos**, v. 37, n. 9/10, p. 737-747, 2012.

LAJMANOVICHL, R. C.; CABAGNA-ZENKLUSEN, M. C.; ATTADEMO, A. M.; JUNGES, C. M.; PELTZER, P. M.; BASSÓ, A. LORENZATTI, E. Induction of micronuclei and nuclear abnormalities in tadpoles of the common toad (*Rhinella arenarum*) treated with the herbicides Liberty® and glufosinate-ammonium. **Mutation Research**, v. 769, p.7–12, 2013.

MÉNDEZ, M.; OBANDO, P.; PINNOCK-BRANFORD, M.; RUEPERT, C.; CASTILLO, L. E.; MENA, F.; ALVARADO, G. Acute, chronic and biochemical effects of chlorothalonil on *Agalychnis callidryas*, *Isthmohyla pseudopuma* and *Smilisca baudinii* tadpoles. **Environmental Science And Pollution Research**, v. 23, n. 21, p.21238-21248, 2016.

Palavras-chave: agrotóxicos; micronúcleo; genotoxicidade.

Financiamento

UFFS – Edital N° 459 de Fomento à Pós-Graduação.