

**EFEITO TERATOGENICO E NEUROTÓXICO DO HERBICIDA ATRAZINA EM EMBRIÕES E LARVAS DE *PHYSALAEMUS GRACILIS* (ANURA: LEPTODACTYLIDAE)**

**CAMILA FATIMA RUTKOSKI<sup>1,2\*</sup>, CASSIANE KOLCENTI<sup>1,2</sup>, GUILHERME VICTOR VANZETTO<sup>1,2</sup>, NATANI MACAGNAN<sup>1,2</sup>, MARILIA TERESINHA HARTMANN<sup>1,2</sup>**

<sup>1</sup>Universidade Federal da Fronteira Sul, *campus* Erechim; <sup>2</sup> Laboratório de Ecologia e Conservação da Universidade Federal da Fronteira Sul, *Campus* Erechim – RS

\*Autor para correspondência: Camila Fatima Rutkoski (camilarutkoski@hotmail.com)

## **1 Introdução**

As concentrações de agrotóxicos na água em geral são elevadas e no caso do herbicida Atrazina, as maiores quantidades são detectadas em águas de ambientes lânticos. Segundo Santos (2010), desde 1970 estudam-se os efeitos letais e subletais deste agrotóxico nos vertebrados, contudo, atualmente ainda procura-se compreender seus mecanismos de toxicidade.

Dentre os vertebrados que podem sofrer os efeitos do herbicida tem-se os anfíbios, visto que vivem em ambientes lânticos, possuem ciclo de vida bifásico (aquático e terrestre), ovos e pele permeáveis.

## **2 Objetivo**

O objetivo deste estudo foi avaliar a toxicidade aguda e crônica do herbicida Atrazina, na fase embrionária e larval de *Physalaemus gracilis* (Anura: Leptodactylidae).

## **3 Metodologia**

O agrotóxico testado foi o herbicida Atrazina na formulação comercial Atrazina Siptran® SC 500g/L. Para obtenção dos embriões, coletaram-se as desovas totais, com menos de 24 horas de oviposição, no lago da Universidade Federal da Fronteira Sul (Erechim – RS).

Após, estas foram colocadas em aquários de 15 litros, com água de poço artesiano previamente analisada e em condições controladas de laboratório.

Os ensaios iniciaram quando os embriões encontravam-se nos estágios 19 de Gosner (1960) e foram feitos em microplacas de crescimento celular, constituídas de 24 poços com capacidade de 2 ml cada. Dos 24 poços, 4 eram destinados ao controle negativo e os 20 restantes, as concentrações de Atrazina. Em cada poço colocaram-se 2 ml da concentração testada ou da água potável de poço artesiano, para o caso do controle e, um embrião por poço. O monitoramento da mortalidade ocorreu a cada 24 horas, onde observava-se os indivíduos em estereomicroscópio. Fez-se um controle negativo para cada concentração testada e os indivíduos não foram alimentados durante o teste. Realizou-se o teste agudo, com duração de 96 horas, e teste crônico, com duração de 168 horas. No teste agudo, a fim de determinar a concentração letal média ( $Cl_{50}$ ) testaram-se 26 concentrações de Atrazina: 40; 45; 50; 55; 60; 65; 75; 85; 95; 105; 115; 125; 135; 145; 155; 165; 185; 195; 205; 225; 245; 265; 295; 355; 415 e 475 mg/L e no teste crônico, para verificar o potencial teratogênico e neurotóxico do herbicida e a influência do tempo de exposição e da concentração na mortalidade dos indivíduos, foram testadas 18 concentrações: 0,45; 0,9; 1,0; 1,7; 4,5; 8,5; 10; 25; 50; 60; 70; 80; 115; 125; 135; 145; 155 e 165 mg/L.

Para o teste crônico, utilizou-se a mesma metodologia do teste agudo, com exceção do período de exposição, da alimentação dos indivíduos, com ração de peixe, ao atingirem o estágio 23 de Gosner (nesta fase ocorre à formação completa da boca) e das observações quanto a efeitos teratogênicos e neurotóxicos. Para análise dos dados estatisticamente, utilizou-se o método de Spearman-Kärber e os testes de Mann-Whitney e de Kruskal-Wallis.

#### **4 Resultados e Discussão**

No teste agudo, determinou-se que a  $Cl_{50}$  de Atrazina para embriões de *Physalaemus gracilis* foi de 229,43 mg/L e verificou-se que não houve influência da concentração ( $H_{9,40} = 14,04$ ;  $p = 0,12$ ) e do tempo ( $H_{3,40} = 5,54$ ;  $p = 0,14$ ) na mortalidade dos embriões. Com isso, constatou-se que a Atrazina apresenta baixa toxicidade para *Physalaemus gracilis*, visto que a  $Cl_{50}$  encontrada está bem acima dos níveis usados pelo *Globally Harmonized System of Classification and Labelling of Chemicals*, onde baixa toxicidade é considerada uma  $CL_{50} > 10$  mg/L.

No teste crônico, as concentrações subletais não afetaram o desenvolvimento dos indivíduos, uma vez que, tanto os organismos expostos quanto os do controle estiveram no mesmo estágio de desenvolvimento durante o período de ensaio. Entretanto, ao contrário das concentrações ( $H_{17,126} = 9,6$ ;  $p = 0,92$ ), o tempo de exposição influenciou significativamente na mortalidade dos embriões ( $H_{6,126} = 40,43$ ;  $p = 0,00$ ) e houve diferença significativa na mobilidade dos indivíduos expostos em relação ao controle ( $U = 91,00$ ;  $z = 2,24$ ;  $p = 0,025$ ). Estas alterações de mobilidade consistiram em contrações espasmódicas (57,09% das larvas) e mobilidade reduzida ou mobilidade estimulada (12% das larvas).

Quanto a teratogênese, a ocorrência desta foi significativa nos indivíduos expostos em relação ao controle ( $U = 87,50$ ;  $z = 2,36$ ;  $p = 0,018$ ). Das larvas que desenvolveram-se a partir dos embriões expostos, 53,72% apresentaram alterações na morfologia da boca, devido a redução do número de keratodonts e ausência de partes do lábio; 56,59% continham edemas; 57,43% apresentaram intestino em formato de linha reta, diferente do formato normal que é em espiral; e 1,18% possuíam a coluna torta.

Além da teratogênese, de acordo com Svartz, Herkovits e Pérez-Coll (2012), o herbicida Atrazina pode causar efeitos neurotóxicos em anfíbios, como contrações espasmódicas e natação anormal. Isto também foi observado em *Rhinella arenarum* (SVARTZ; HERKOVITS; PÉREZ-COLL, 2012), *Rhinella schneiderie* e *Physalaemus nattereri* (PÉREZ - IGLESIAS, 2015). Desta forma, a alteração da mobilidade observada é indicativo de efeito neurotóxico da formulação comercial testada.

## 5 Conclusão

Apesar do herbicida apresentar baixa toxicidade para *Physalaemus gracilis* devido ao alto valor da  $CL_{50}$ , as concentrações subletais demonstraram que ele tem potencial de causar efeito teratogênico e neurotóxico nos indivíduos expostos. Contudo, são necessários mais estudos na área e com outras espécies de anfíbios, a fim de extrapolar os resultados a nível ambiental e biológico.

**Palavras-chave:** Agrotóxicos; Embriões; Anfíbios; Concentração letal



### Fonte de Financiamento

UFFS – PROBITI/FAPERGS

### Referências

GOSNER K. L.. A simplified table for staging anuran embryos and larvae with notes on identification.

**Herpetologica**, v. 16, n.3, p. 183 – 189, set. 1960.

PÉREZ-IGLESIAS, J. M.; SOLONESKI, S.; NIKOLOFF, N.; NATALE, G. S.; LARRAMENDY, M. L.. Toxic and genotoxic effects of the imazethapyr-based herbicide formulation Pivot H® on Montevideo tree frog *Hypsiboas pulchellus* tadpoles (Anura, Hylidae). **Ecotoxicology and Environmental Safety**, Argentina, v. 119, p. 15 - 24, 2015.

SANTOS, T. G. **Biomarcadores bioquímicos e genéticos para a detecção dos efeitos do herbicida Atrazina no peixe neotropical *Prochilodus lineatus***. 2010. 71 f. Dissertação (Mestrado em Ciências Biológicas) - Universidade Estadual de Londrina, Londrina, 2010.

SVARTZ, G. V.; HERKOVITS, J. PÉREZ-COLL, C. S.. Sublethal effects of Atrazine on embryo-larval development of *Rhinella arenarum* (Anura: Bufonidae). **Ecotoxicology**, Argentina, v. 21, p. 1251-1259, 2012.