

GENOTOXICIDADE E CITOTOXICIDADE EM PEIXES SUBMETIDOS AO TRIFLUMURON UTILIZADO NAS CULTURAS NO RIO GRANDE DO SUL

CAMILO ALEXANDRE JABLONSKI^{1,2,3*}, NATAN KASPER^{1,2,3}, FABRÍCIO SKUPIEN^{1,2,3}, SUZYMEIRE BARONI^{1,2,3}

¹Universidade Federal da Fronteira Sul, *campus* Cerro Largo; ²Grupo de Estudos e Pesquisas em Biologia Celular e Molecular da Universidade Federal da Fronteira Sul; ³Universidade Federal da Fronteira Sul, *campus* Cerro Largo

*Autor para correspondência: Camilo Alexandre Jablonski (camilo.aj@hotmail.com)

1 Introdução

A produção de alimentos teve seu processo acelerado a partir do desenvolvimento das plantas transgênicas por meio da biotecnologia, embora isso não tenha acabado com as intercorrências de plantas invasoras, insetos e fungos que causam prejuízos nas culturas.

O Brasil é o maior consumidor mundial de químicos, ultrapassando a marca de 1 milhão de toneladas, o que equivale a um consumo médio de 5,2 kg de agrotóxico ao ano por pessoa, segundo dados do Instituto Nacional de Câncer (INCA). Dentre esses agrotóxicos se destaca o uso de inseticidas utilizados no controle de pragas agrícolas nas diversas etapas de produção.

O “Triflumuron” [1-(2-chlorobenzoyl)-3-(4-trifluoromethoxyphenyl)urea], pertencente ao grupo das benzo-fenil-ureias (BPU's) é classificado como um CSI (Inibidores da Síntese de Quitina) que tem sido amplamente utilizado pelos agricultores no controle da larva *Helicoverpa armigera* na cultura de soja no Rio Grande do Sul. Ele tem classificação toxicológica de nível II e classificação quanto ao potencial de periculosidade ambiental de nível III, segundo a portaria normativa nº 84, de 15 de outubro de 1996, do Instituto Brasileiro do Meio Ambiente e dos Recursos Naturais Renováveis (IBAMA), com base no decreto nº 98.816/90.

Esses defensivos interagem com organismos vivos e podem trazer danos ao material genético, sendo necessário o uso de testes para avaliar o potencial genotóxico dessas substâncias.

Para esse propósito foi usado o teste de micronúcleo (SCHMID, 1975), adaptado para peixes. O micronúcleo é resultado de substâncias que podem levar a clastogenicidade e aneugenicidade (HAYASHI et al., 1994 apud MATOZO et al., 2015). Nesse mesmo teste, pode-se também verificar a ocorrência de anormalidades nucleares, que são formas inadequadas em que os núcleos dos eritrócitos dos peixes podem estar configurados.

2 Objetivo

Avaliação do potencial genotóxico e citotóxico em peixes submetidos ao triflumuron utilizado nas diversas culturas no Rio Grande do Sul.

3 Metodologia

Neste trabalho foram utilizados peixes do gênero *Astyanax* sp., (lambari). Os peixes foram capturados em Guarani das Missões – RS, município vizinho de Cerro Largo em açudes e riachos de uma propriedade rural e levados para o Laboratório de Genética da UFFS. Os peixes foram alocados em aquários para aclimação, contendo 34 litros de água de torneira decantada. Para cada tratamento e controle foram usados seis peixes. Para uso de animais, essa proposta foi submetida ao Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA), da UFFS e aprovado com o protocolo nº 23205.000952/2017-89.

Para cada aquário de tratamento foram usadas diferentes concentrações de Triflumuron. As concentrações foram: 0,30 mL/L (concentração de campo); 0,15 mL/L e 0,45 mL/L e um aquário para o controle sem o Triflumuron.

Após 96 horas os peixes foram anestesiados, com posterior corte da cauda para a coleta de sangue periférico por meio de capilares de vidro embebidos em NaEDTA. (anticoagulante) para confecção de esfregaços. Após secagem e fixação em metanol as lâminas foram coradas nesta sequência: submersas em HCl 5N por 15 minutos para a hidrólise, seguido com a lavagem das lâminas e secagem; submersas em Reativo de Schiff por duas horas para coloração do núcleo dos eritrócitos. Para a coloração do citoplasma foi usado o corante Fast-Green por 3 minutos.

Para a observação dos esfregaços foi usado Microscópio Óptico (M.O.) em aumento de 1000x. De cada peixe foram contabilizadas 2000 células, nas quais foram observados a existência de micronúcleos e anormalidade nucleares, de acordo com Rivero (2007).

Para análise de alterações no fígado foram confeccionadas lâminas permanentes com coloração Hematoxilina-Eosina (HE) e analisadas em M.O em aumento 1000X.

Os resultados foram submetidos ao teste não-paramétrico Kruskal-Wallis no software

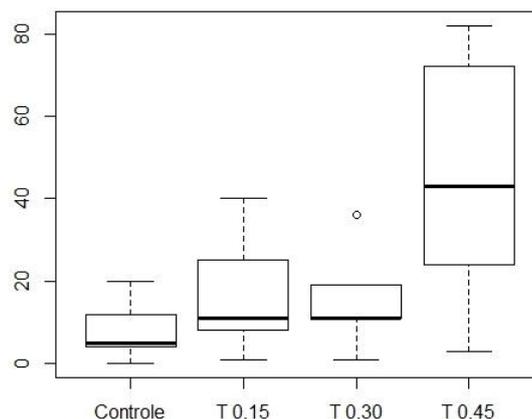
R, na interface RStudio, com nível de significância de 5% ($p < 0,05$).

4 Resultados e discussão

Para a análise foi comparado a ocorrência de micronúcleo (MN) entre o grupo controle com os tratamentos. Nenhum dos testes foi estatisticamente significativo ($p > 0,05$) já que não foram registrados a presença de micronúcleos nas 48.000 células contabilizadas. Contudo, o número de anormalidades nucleares (AN) foi diferente entre os grupos de tratamento e controle, sendo que o tratamento de 0,45 mL/L apresentou maior frequência de AN (figura 1). Para fim de registro, as AN foram classificadas em cinco tipos: “blebbed”, com evaginação leve do núcleo; “lobed”, com evaginação maior que a blebbed; “notched”, com um corte considerável do núcleo; binucleada, quando o eritrócito apresentou “dois núcleos” aparentes (RIVERO, 2007); e vacúolo, quando o núcleo apresentou uma cavidade dentro do limite nuclear.

Apesar de não ter sido registrada a presença de MN e o teste não ter sido significativo, não podemos afirmar que o triflumuron não cause efeitos citotóxicos e mutagênicos sobre os seres vivos não-alvo. O alto índice de AN sugere que houve alterações nos processos de divisão celular alterando o término da mitose.

Figura 1. Frequência absoluta de anormalidades nucleares em 12.000 eritrócitos, para cada aquário. Os tratamentos estão discriminados com a concentração.



Os fígados dos peixes submetidos aos tratamentos apresentaram alterações importantes como: núcleos posicionados lateralmente; regiões de degeneração de hepatócitos; citoplasma vacuolizado e hipertrofia nuclear (ROCHA et al., 2010), o que pode sugerir déficit nos eventos metabólicos devido a exposição ao triflumuron.

5 Conclusão

É de grande importância os estudos de genotoxicidade e citotoxicidade para avaliar possíveis danos aos organismos que não são alvo para os diferentes tipos de inseticidas, tais como peixes, aves e plantas e o ser humano. Pela falta de compreensão do mecanismo do triflumuron, é necessário que se façam mais testes e estudos a fim de determinar se o mesmo pode trazer malefícios para o ecossistema em que é aplicado.

Referências

E SILVA, A. da C.; NEPOMUCENO, J. C. Avaliação da frequência de micronúcleos em eritrócitos periféricos de mandi-amarelo (*Pimelodus maculatus*) do rio Paranaíba. **Perquirere**. Patos de Minas: UNIPAM, n. 7. vol. 1: 167-179, 2010. Disponível em: <http://perquirere.unipam.edu.br/documents/23456/36602/Avaliacao_da_frequencia_de_micro_nucleos_em_e_ritrocitos.pdf>. Acesso em: 04 ago. 2017.

MATOZO, F; TUREK, J. A; NOLETO, R. B. Avaliação dos efeitos genotóxicos do fungicida ridomil em *Astyanax altiparanae* (Pisces, Characiformes). **Luminária**. União da Vitória – PR. v. 17. N.01. P. 121-131, 2015. Disponível em: <<http://periodicos.unespar.edu.br/index.php/luminaria/article/view/522>>. Acesso em: 04 ago. 2017.

RIVERO, C. L. G. Perfil da frequência de micronúcleos e de danos no DNA de diferentes espécies de peixes do Lago Paranoá, Brasília-DF, Brasil. 113 f. Dissertação (Mestrado em Patologia Molecular) – Programa de Pós-Graduação em Patologia Molecular – **Faculdade de Medicina, Universidade de Brasília**, 2007. Disponível em: <http://repositorio.unb.br/bitstream/10482/2626/1/2007_CarlaLeticiaGedielRivero.pdf>. Acesso em: 04 ago. 2017.

ROCHA, R. M. et al. Avaliação histopatológica do fígado de *Brachyplatystoma rousseauxii* (Castelnau, 1855) da baía do Guajará, Belém, Pará. **Ciência Animal Brasileira**, Goiânia, v. 11, n.1, p.101-109, jan/mar, 2010. Disponível em: <<https://www.revistas.ufg.br/vet/article/view/3028/6514>>. Acesso em: 04 ago. 2017.

SCHMID, W. The micronucleus test. Amsterdã: **Mutations Research**, vol. 31, p. 9-15, 1975.

Palavras-chave: Micronúcleo; biomonitoramento; mutagênese; ecotoxicidade.

Fonte de Financiamento: PROBIC - FAPERGS