

EFEITO DA ATRAZINA NA CAPACIDADE DE ECLOSÃO DOS EMBRIÕES DO PEIXE ZEBRA (*Danio rerio*)

Fernanda Lie IKARI^{1,5}, Cláudia Maris FERREIRA^{1,5}, Adriana Sacioto MARCANTONIO²,
Débora COLOMBO^{1,5}, Fernanda Menezes FRANÇA^{1,5}, Karen de SOUZA-FERREIRA^{1,5},
Monica LOPES-FERREIRA³, Monica Accai Marcondes de MOURA⁴, Renata BAZANTE^{1,5},
Cintia BADARÓ-PEDROSO^{1,5}

¹ Instituto de Pesca

² APTA – Polo Regional do Vale do Paraíba

³ Instituto Butantan

⁴ Instituto Biológico

⁵ Endereço/Address: Centro de Pesquisa de Aquicultura – Instituto de Pesca – APTA – SAA. Av. Francisco Matarazzo, 455
CEP: 05.001-970 – São Paulo – SP - Brasil. e-mail: pedrosos@pesca.sp.gov.br

Palavras chave: Paulistinha; FET TEST; herbicida; ensaio agudo; efeito subletal.

INTRODUÇÃO

A atrazina (1-cloro-3-etilamino-5-isopropilamino-2,4,6 triazine) é um herbicida do grupo das triazinas utilizado para controlar ervas daninhas em plantações de milho, cana de açúcar e sorgo. Apresenta persistência moderada no solo, mas devido à alta capacidade de lixiviação é considerada muito perigosa aos ecossistemas aquático e terrestre (ARCHANGELO *et al.*, 2005). Sua meia vida está estimada entre 16 e 100 dias no solo dependendo das características edáficas, enquanto em rios está entre 1,5 a 13,3 dias e em lagos entre 124 e 365 dias (WRUBLESWSKI *et al.*, 2018). O uso da atrazina é proibido na União Européia desde 2004 devido a sua toxicidade e, no Brasil sua utilização é permitida em várias lavouras de interesse econômico. Embora a atrazina seja classificada como moderadamente tóxica por pertencer à classe III da classificação toxicológica, na classificação ambiental está inserida na classe II, pois é muito perigosa ao meio ambiente (REBELO *et al.*, 2010). Portanto, o objetivo deste trabalho foi avaliar o efeito da atrazina na capacidade de eclosão de embriões do peixe *Danio rerio*.

MATERIAL E MÉTODOS

O ensaio foi realizado no mês de novembro de 2017 no Laboratório de Ecotoxicologia do Centro de Recursos Hídricos do Instituto de Pesca seguindo-se as normas da OECD (2013). Os embriões com 1 hpf (hora após a fertilização) foram obtidos de desovas da reprodução do

peixe *D. rerio* mantidos na proporção de dois machos para uma fêmea, com base nos protocolos da Associação Brasileira de Normas Técnicas (ABNT, 2007) e da Plataforma Zebrafish do Instituto Butantan.

Foi utilizada a atrazina (ATZ) da marca Atanor 50 SC e a partir da solução estoque de 500 mg ATZ.L⁻¹ em água destilada foram preparadas sete soluções teste nas concentrações nominais de 1,16; 1,74; 2,60; 3,90; 5,90; 8,86 e 13,3 mg ATZ.L⁻¹ em água preparada com dureza de 40 mg CaCO₃.L⁻¹. Seguiu-se a metodologia do teste "FET" - Teste de toxicidade aguda com embriões de peixe (OECD, 2013) com modificações referentes ao número de replicatas utilizadas: vinte no controle negativo constituído de água de diluição com dureza 40 e quinze em cada uma das concentrações de atrazina. O ensaio estático com duração de 96hs foi conduzido em placas de cultivo celular com 24 poços contendo 1 ovo por poço em 2 mL de amostra, em câmara incubadora na temperatura de 27°C e fotoperíodo de 12hs de luz.

A cada 24 horas foi feita a leitura das placas utilizando-se quatro parâmetros biológicos como indicadores de letalidade: (a) coagulação de ovos fertilizados, (b) a falta de formação de somito, (c) ausência de separação entre o pedúnculo caudal e o saco vitelínico, e (d) ausência de batimentos cardíacos. No final das 96hs, a toxicidade aguda foi determinada com base num resultado positivo em qualquer um dos quatro parâmetros, e a concentração necessária para produzir a morte de 50% dos indivíduos expostos (CL₅₀; 96h) foi estimada. A ausência de eclosão dos embriões foi utilizada como parâmetro biológico de efeito subletal.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

As porcentagens de sobrevivência e de eclosão nos controles negativos foram iguais a 85% após 96hs de ensaio. A CL₅₀_{96h} estimada para embriões do peixe zebra (*D. rerio*) foi > que 13,3 mg ATZ.L⁻¹ e está de acordo com o estabelecido no sistema de classificação de produtos químicos feito pela GHS (2011) que considera toxicidade baixa para valores de CL₅₀ > 10 mg. L⁻¹. No entanto ao observarmos a porcentagem de eclosão dos embriões após 96hs de exposição verificamos efeito tóxico na concentração ≥ 3,90 mg ATZ.L⁻¹ indicando uma queda acentuada da eclosão para 13% (Tabela 1). Esses resultados corroboram os de WIEGAND *et al.* (2001) que obtiveram retardo significativo no desenvolvimento de embriões expostos a 4 mg.L⁻¹ de atrazina.

Tabela 1- Porcentagem de embriões eclodidos do peixe zebra (*Danio rerio*) após 96h de exposição à atrazina.

Atrazina (mg.L ⁻¹)	Eclusão (%)
Controle negativo	85
1,16	93
1,74	93
2,60	100
3,90	13
5,90	20
8,86	46
13,3	53

CONCLUSÃO

Concentrações de atrazina entre 3,90 e 13,3 mg.L⁻¹ causaram efeito tóxico na capacidade de eclusão de embriões do peixe zebra (*Danio rerio*) e indicam atraso no desenvolvimento desses organismos.

REFERÊNCIAS

- ABNT-Associação Brasileira de Normas Técnicas. 2007 *Ecotoxicologia Aquática- Ecotoxicidade crônica de curta duração- Método de ensaio com peixes*. ABNT, NBR 15499.
- ARCHANGELO, E. R.; PRATES, H. T.; FERREIRA, F. A.; KARAM, D.; FERREIRA, L. R.; CARDOSO, A. A. 2005 Sorção, dessorção e potencial de lixiviação de Atrazine em solos brasileiros. *Revista Brasileira de Milho e Sorgo*, 4(1): 14-27. doi: 10.18512/1980-6477/rbms.v4n1p14-27.
- GHS - Globally Harmonized System of Classification and Labelling of Chemicals. 2011 United Nations, New York and Geneva.
- REBELO, R.M.; VASCONCELOS, R.A.; BUYS, B. D. M. C.; REZENDE, J.A.; MORAES, K.O.C.; OLIVEIRA, R.P. 2010 Pesticides and related products marketed in 2009 in Brazil: an environmental approach. Brasília: Ibama, 84 p. Disponível em: <https://www.ibama.gov.br/phocadownload/qualidadeambiental/relatorios/pesticides_commercialized_in_brazil_2009.pdf>. Acesso em: 01 fev. 2019.

OECD - Organisation for Economic Co-operation and Development. 2013 *Guidelines for the testing of chemicals- Fish Embryo Acute Toxicity (FET) Test*.

WIEGAND,C.;KRAUSE,E.; STEINBERG, C.; PFLUGMACHER, S. 2001 Toxicokinetics of Atrazina in embryos of the zebrafish. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 49: 199-205.

WRUBLESWSKI, J.; REICHERT JR, F.W.; GALON, L.; HARTAMAN, P.A.; HARTMAN, M.T. 2018 Acute and chronic toxicity of pesticides on tadpoles of *Physalaemus cuvieri* (Anura, Leptodactylidae). *Ecotoxicology*. <http://doi.org/10.1007/s10646-018-1900-1>