

Efeito do herbicida Atrazina sobre o metabolismo intermediário e parâmetros reprodutivos de *Hyallela* sp.

Paradedda, N.L¹; Braghirolli, FM¹; Oliveira, M.R¹; Dutra, B.K; Oliveira, G.T¹ (orientador)

¹*Faculdade de Biociências, Laboratório de Fisiologia de Conservação, PUCRS.*

Resumo

Os herbicidas do grupo das triazina representam cerca de 30% de todos os pesticidas usados no mundo (Cabral, M. F, 2003). A atrazina (2-cloro-4-(etilamino)-6-(isopropilamino)-s-triazina) é um dos mais importantes herbicidas do grupo das triazina, pois tem uma utilização em ampla escala em todos os continentes (Coutinho, C.F.B, 2005), sendo comum a utilização deste composto no controle de plantas daninhas em cultivos de milho, cana-de-açúcar e pinus. A atrazina tem como principal rota de desaparecimento a hidrólise química e biodegradação por microbiota fúngica, também sendo facilmente observada no monitoramento de águas subterrâneas próximas a lavouras de sua utilização (Coutinho, C.F.B, 2005), podendo, assim, estar em direto contanto com riachos, lagos e lagoas que tenham ligação com o lençol freático.

Em contato com um ecossistema aquático a atrazina pode causa impacto a comunidades aquáticas como crustáceos, peixes, anfíbios e répteis. Com o objetivo de verificar o impacto dos resíduos da aplicação deste herbicida em lavouras próximas a ambientes aquáticos, utilizamos um crustáceo, amphipoda do gênero *Hyallela* típico de ambiente límnic, facilmente encontrado aderido ao substrato de fundo, como modelo biológico autóctone. Para a verificação deste impacto foi estudado o efeito da Atrazina sobre o metabolismo intermediário, os níveis de lipoperoxidação, comparando os níveis de substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARS), a atividade das enzimas catalase e superóxido dismutase (SOD) e, alguns parâmetros reprodutivos.

Como modelos experimentais foram utilizados animais do gênero *Hyallela*, uma espécie ainda não conhecida e que esta sendo descrita pela Dra. Georgina Bond Backup. Os animais foram coletados no município de São Francisco de Paula (29°27' - 29°35'S e 50°08' - 50°15'W) na sede de pesquisa da PUCRS, Pró-Mata, em um tanque utilizado para cultivo de lagostins. Os animais foram separados em cinco grupos: o controle campo sacrificado em campo; o controle da aclimatação sacrificado ao final do período de aclimatação em

laboratório (7 dias de dieta); o controle do período total de cultivo (14 dias de dieta) e os grupos expostos, por sete dias, a diferentes concentrações de Atrazina (dose 1: 1 µg/L; dose 2: 1,5µg/L; dose 3: 2µg/L). Ao final dos 14 dias de cultivo em laboratório os anfipodos foram imediatamente sacrificados por crioanestesia para a determinação, por espectrofotométrica, dos níveis de: glicogênio (Van Handel, 1965 e Kit para Glicose Oxidase), proteínas totais (kit Labtest), lipídios totais (Frings & Dunn, 1970), colesterol total (kit Labtest Liquiform), triglicerídeos (kit Labtest GPO-ANA), glicerol (kit Glycerol Fluid), TBARS (Buege & Aust, 1978), Arginina e Arginina fosfato (Bergmeyer, 1985), além dos níveis de atividade das enzimas Catalase (CAT) (Boveris & Chance, 1973) e Superóxido Dimutase (SOD) (Misra e Fridovich, 1972). Os parâmetros reprodutivos escolhidos (número de pares reprodutivos, de fêmeas ovígeras e de ovos no marsúpio) foram observados diariamente ao longo do cultivo.

Como já previsto, a partir de resultados anteriores em organismos do mesmo gênero já padronizados para testes de bioindicação, a ração artificial aliada a macrófitas disponibilizadas no aquário foram suficiente para sustentar a homeostase e o ciclo de vida dessa espécie, confirmado pela observação da formação de pares reprodutivos, ocorrência de fêmeas ovígeras e formação de ovos no marsúpio. Porém, quando expostos a diferentes concentrações do herbicida Atrazina (1; 1,5 e 2µg/L) todos os parâmetro reprodutivos, metabólicos e de estresse oxidativo foram alterados. Assim como observado por Wan (2006) em *Hyaella azteca* a mortalidade também é alta em *Hyaella spn* quando exposta a Atrazina.

Nos animais expostos as diferentes concentrações do pesticida (Atrazina) ocorreu mobilização das reservas de triglicerídeos, lipídios, proteínas, glicerol, glicogênio, arginina fosfato e arginina, assim como diminuição nos níveis de colesterol, sendo estas acompanhadas de um aumento das substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico e da atividade das enzimas Superóxido Dismutase e Catalase.

Os baixos níveis de triglicerídeos, lipídios, proteínas, colesterol e glicerol podem estar associados a uma diminuição na taxa de alimentação e/ou baixa assimilação dos alimentos no trato digestório dos animais expostos ao agente toxicante (Irving, E.C, et al, 2003). O aumento da atividade das enzimas Catalase e Superóxido Dismutase não foi capaz de tamponar o aumento da formação de espécies reativas de oxigênio o que é evidenciado pelo aumento da lipoperoxidação nos indivíduos expostos ao pesticida, confirmando que o toxicante gera um estresse bastante intenso aos animais. Tal perfil já foi visto para animais deste gênero em nosso laboratório.

Todos os parâmetros reprodutivos analisados neste estudo também se encontraram afetados pela exposição à atrazina; assim, como consequência da diminuição da formação de pares reprodutivos nenhuma fêmea ovígera e nem ovos foram observados.

A somatória destas respostas pode influenciar consideravelmente no sucesso desta espécie (*Hyallela* spn), pois a depleção energética aliada à intensa lipoperoxidação e, principalmente, ao comprometimento da capacidade reprodutiva pode conduzir a uma redução populacional em um grupo de espécies que tem um importante papel na cadeia trófica. De acordo com Coelho *et al.* (2001) o padrão de potabilidade de água no Brasil, segundo a portaria número 1469, de 29 de dezembro de 2000, estabelece como valor mínimo permitido para atrazina em corpos d'água de 2µg/L; portanto dentro da faixa de concentração aqui utilizada.

Referências

- BERGMEYER, H.U., 1985. *Methods of Enzymatic Analysis*. Publisher. Vol. 8, (1985) pp. 591–598.
- BOVERIS, A, CHANCE, B. The mitochondrial generation of hydrogen peroxide. General properties and effect of hyperbaric oxygen. *Biochem* Vol. 3, (1973) pp. 707–716.
- BUEGE, J. A & AUST, S.D., Microsomal lipids peroxidation. *Methods in Enzymology*. Vol. 52, (1978), pp. 302-310.
- CABRAL, M. F.; SOUZA, D.; ALVES, C. R.; MACHADO, S. A. S. Estudo do comportamento eletroquímico do herbicida ametrina utilizando a técnica de voltametria de onda quadrada. *Eclética Química*. Vol. 28, N°2(2003). pp. 41-47.
- COELHO, E. R. C.; BERNARDO, L. D.; ALMEIDA, H.; LANDGRAF, M. D.; TANGERINO, E. P. Avaliação da filtração lenta na remoção de matéria orgânica natural, microrganismos e Atrazina. In: Congresso Brasileiro de Engenharia Sanitária e Ambiental.21., 2001, Rio de Janeiro. **Resumo de trabalho**. Rio de Janeiro: ABES, 2001. pp. 1-12.
- COUTINHO, C.F.B; TANIMOTO, S.T; GALLI,A; et al. Pesticidas: Mecanismo de ação, degradação e toxidez. **Pesticidas: r.ecotoxicol. e meio ambiente**. Vol. 15, (2005), pp. 65-72.
- FRINGS, C., DUNN, R., A colorimetric method for determination of total serum lipids based on the sulfophosphovanillin reaction. *American Journal of Clinical Pathology*, vol. 53, (1957), pp. 89-91.
- IRVING, E.C., BAIRD, D.J., CULP, J.M., Ecotoxicological responses of the mayfly *Baetis tricauadatus* to dietary and waterborne cadmium: implications for toxicity testing. *Environmental Toxicology and Chemistry*, Vol. 22, (2003), pp. 1058–1064.
- MELI, G.; BAGNATI, R.; FANELLI, R.; BENFENATTI, E.; AIROLDI, L. Metabolic profile of atrazine and Nnitrosoatrazine in rat urine. *Bull. Environ. Contam. Toxicol.* Vol. 48, N°5(1992) pp. 701-708.
- MISRA H.P, FRIDOVICH I. The role of superoxide anion in the autoxidation of epinephrine and a simple assay for superoxide dismutase. *Biol Chem*. Vol. 10, N°247 (1972) pp. 3170–3175.
- VAN HANDEL, E. Estimation of glycogen in small amount soft tissue. *Analytical Biochemistry*, Vol. 11, (1965), pp. 256-265.
- WAN, M.T; BUDAY, C; SCHOROEDER, G; KUO, J; PASTERNAK, J. Toxicity to *Daphnia magna*, *Hyalella azteca*, *Oncorhynchus kisutch*, *Oncorhynchus mykiss*, *Oncorhynchus tshawytscha*, and *Rana catesbeiana* of Atrazine, Metolachlor, Simazine, and Their Formulated Products. *Environ. Contam and Toxicol.* Vol. 76, (2006), pp. 52-78.