

EMBRIÕES DO PEIXE-REI *ODONTESTHES ARGENTINENSIS* TÊM A SOBREVIVÊNCIA, A ECLOSÃO E A FREQUÊNCIA CARDÍACA AFETADAS APÓS EXPOSIÇÃO AGUDA AO GLIFOSATO

MAIDANA DA SILVA IDIARTE¹; NÍVIA STREIT²; TAINÁ
GUILLANTE²; JULIANA GERI MOREIRA²; GÍLSON DE
MENDONÇA²;
RICARDO BERTEAUX ROBALDO³

¹Universidade Federal de Pelotas – maydanaidiarte@hotmail.com

³Universidade Federal de Pelotas – ricardorobaldoufpel@gmail.com

1. INTRODUÇÃO

O gênero de aterinídeos, *Odontesthes*, inclui espécies de peixe-rei da zona costeira de toda América do Sul. O gênero inclui espécies dulce-aquícolas, estuarinas e marinhas (PHONOR & COUSIN, 1997). Algumas delas têm relativa importância comercial devido sua valorização na pesca extrativista, desportiva e na piscicultura. Dentre elas destacam-se, no sul do Brasil, *Odontesthes bonariensis* e *O. argentinensis*, as quais são conhecidas pela sua qualidade para o consumo humano e fácil manejo na aquicultura (HUANTO, 2017).

No Rio Grande do Sul os peixes-rei distribuem-se desde o norte do Estado até a região das grandes lagoas na Fronteira Sul. Nestas mesmas regiões, a prática de monoculturas como o arroz e a soja, promovem a descaracterização e degradação ambiental. Ações deletérias são promovidas pelos agrotóxicos que poluem os corpos d'água adjacentes às plantações (SALBEGO *et al.*, 2010). O agrotóxico mais utilizado no Brasil e na região sul do país é o Roundup®, que possui ação herbicida não seletiva e contém como ingrediente ativo o glifosato (JIRAUNGKOORSKULET *et al.*, 2002), que devido a sua alta solubilidade em água (10g/L), torna-se relevante para ecotoxicologia aquática (GIESY *et al.*, 2000).

MATTOS *et al.* (2002) detectaram glifosato em amostras de água, coletadas 90 dias após a aplicação nas lavouras, em áreas de orizicultura no Arroio Bretanhas (0,013 mg/L) e na Lagoa Mirim (0,014 mg/L), sudeste do RS. A persistência do agrotóxico no ambiente aquático, é preocupante, já que segundo Sampaio e Piedras (2010) as espécies de peixe-rei são exigentes em termos de qualidade da água. Além disso, é conhecido que nos estágios iniciais de desenvolvimento, os peixes são sensíveis a poluentes ambientais (YUSOF *et al.*, 2014). ZHANG *et al.* (2017) observaram danos, ao exporem embriões do peixe-zebra *Danio rerio* ao glifosato. Indivíduos submetidos às concentrações entre 100 e 400 mg/L do herbicida apresentaram malformações morfológicas, enquanto que os animais submetidos a 600 mg/L morreram. Além disso, considerando a exposição a 1, 10 e 100 mg/L, alterações na estrutura do córion foram detectadas na maior concentração.

Desta forma, atentando para a exigência do peixe-rei à qualidade da água, sua sensibilidade a poluentes e a toxicidade e amplo uso de glifosato na região, o presente estudo buscou avaliar os efeitos deste herbicida no desenvolvimento embrionário de *Odontesthes argentinensis*.

2. METODOLOGIA

Ovos de *O. argentinensis* coletados na Praia do Cassino/RS/Brasil (ICMBio 67433-1) foram incubados em água do mar diluída a 10ppm, saturação de

oxigênio e 21°C, no Laboratório de Fisiologia de Animais Aquáticos da UFPel. O ensaio teve início 24h após o período de incubação, com os embriões no estágio de epibolia.

Os embriões foram expostos de maneira aguda por 96h às concentrações de 0,1, 1,0, 10,0, 100,0 e 1000,0 mg/L de Roundup Transorb® (RT), mais o grupo controle, em triplicatas (n=30/réplica). A cada 24h avaliou-se a taxa de sobrevivência e eclosão e frequência de batimentos cardíacos (bpm). As características físico-químicas d'água experimental foram diariamente avaliadas e controladas. Amostras de água foram congeladas para posterior quantificação do glifosato.

As médias das taxas de sobrevivência e eclosão foram comparadas por ANOVA, seguida de *post hoc* de Tukey. Os dados percentuais foram transformados pela função da raiz quadrada da variável acrescida de 1,0. Os dados médios de frequência cardíaca são apresentados pela mediana e foram analisados pelo teste de Kruskal- Wallis. Todos os testes consideraram um nível de significância de 95% ($p < 0,05$).

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

A taxa de sobrevivência dos embriões foi reduzida após a exposição por 96h a 1000mg/L de RT (Figura 1). Não houve diferenças nos demais tempos de exposição e tratamentos. YUSOF, *et al.* (2014), também observaram redução na sobrevivência ao exporem embriões do peixe *Oryzias javanicus* a concentrações entre 100 e 500mg/L de glifosato por 20 dias. Neste estudo observou-se que nas primeiras 96h, 60% dos animais sobreviveram quando submetidos às 500mg/L. Ao fim do período, todos os embriões expostos a 300, 400 e 500mg/L estavam mortos. A disparidade nas concentrações tóxicas entre esses estudos pode indicar que os efeitos desse herbicida varia de acordo com a espécie, tempo de exposição ou outros fatores biológicos.

A taxa de eclosão dos ovos foi reduzida em 96h nas exposições a 100 e 1000mg/L, onde a eclodibilidade foi de 46,26% e 1,13% respectivamente (Figura 2). O mesmo foi observado por YUSOF *et al.* (2014) para *O. javanicus*, porém sob exposição sub-crônica de 20 dias a concentrações entre 100 e 500mg/L. Em contraposição, ZHANG *et al.*, 2017 demonstraram que o glifosato aumenta as taxas de eclosão em *Danio rerio* por fragilizar o córion, facilitando seu rompimento. Considerando estes dados contrastantes, mais estudos com *Odontesthes spp* são necessários para detalhar a resposta do córion mediante exposição ao glifosato.

Ainda, sabe-se que a eclosão consome energia e, no entanto, o glifosato pode afetar e debilitar os indivíduos de muitos modos, a ponto de não sobreviverem a este processo (JEZIERSKA *et al.*, 2009). Já é conhecido que o glifosato afeta o metabolismo energético em adultos de *Odontesthes bonariensis* (MENENDÉZ-HELMAN *et al.*, 2015). Considerando isso, é possível que a energia requerida para a eclosão dos animais, seja em parte direcionada para a detoxificação, reduzindo a eclodibilidade. Malformações teratogênicas geradas pela exposição ao agrotóxico, também podem dificultar o processo de eclosão, como foi retratado por YUSOF *et al.* (2014). Finalmente, é provável que nossos resultados sejam explicados por uma associação destes fatores. Possivelmente, danos no metabolismo energético associado a alterações teratogênicas, expliquem a redução da eclosão das larvas, observadas no presente estudo.

Dados de frequência cardíaca (FC) são mostrados na Figura 3. Nas primeiras 24h de exposição verificou-se aumento nos batimentos dos animais

submetidos às concentrações de 0,1mg/L (76bpm) e 10mg/L (78bpm) em relação ao controle (65bpm). Posteriormente observou-se uma flutuabilidade na frequência cardíaca. Ao fim das 96h apenas os embriões expostos à 1000mg/L tiveram redução da FC (13bpm) se comparado a 65bpm do grupo controle. O aumento inicial na FC possivelmente se justifique pelo estresse fisiológico gerado pelo tóxico. A flutuação na FC pode indicar modulações fisiológicas buscando a homeostase. Além disso, a redução dos batimentos cardíacos observado nas concentrações mais altas, possivelmente se justifique por danos teratogênicos gerados ao coração, como foi observado por ROY *et al.* (2016) em embriões de *Danio rerio* expostos ao glifosato.

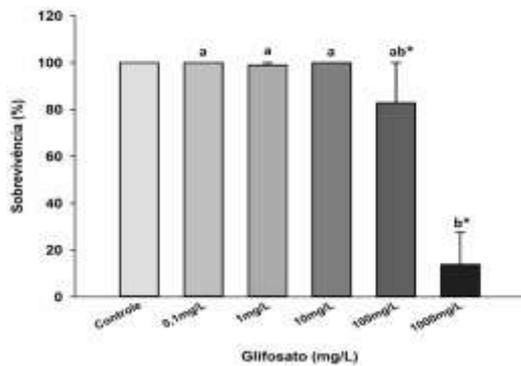


Figura 1: Sobrevivência de embriões do peixe-rei *Odontesthes argentinensis* após exposição a diferentes concentrações de glifosato por 96h. Os dados estão representados pelas médias ± erro padrão. Letras diferentes indicam diferenças significativas entre os tratamentos e os asteriscos denotam diferenças significativas com o grupo controle ($n \geq 80$; ANOVA; Tukey; $p < 0,05$ com dados transformados pela função da raiz quadrada da variável acrescida de 1,0)

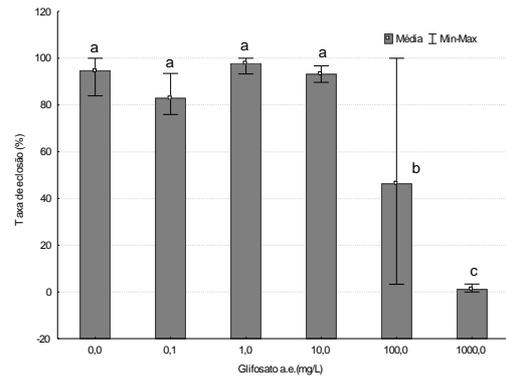


Figura 2: Taxa de eclosão de ovos do peixe-rei *Odontesthes argentinensis* expostos por 96h a diferentes concentrações de glifosato. Os dados estão representados pelas médias ± erro padrão. Letras diferentes indicam diferenças significativas entre os tratamentos ($n \geq 80$; ANOVA; Tukey; $p < 0,05$ com dados transformados pela função da raiz quadrada da variável acrescida de 1,0).

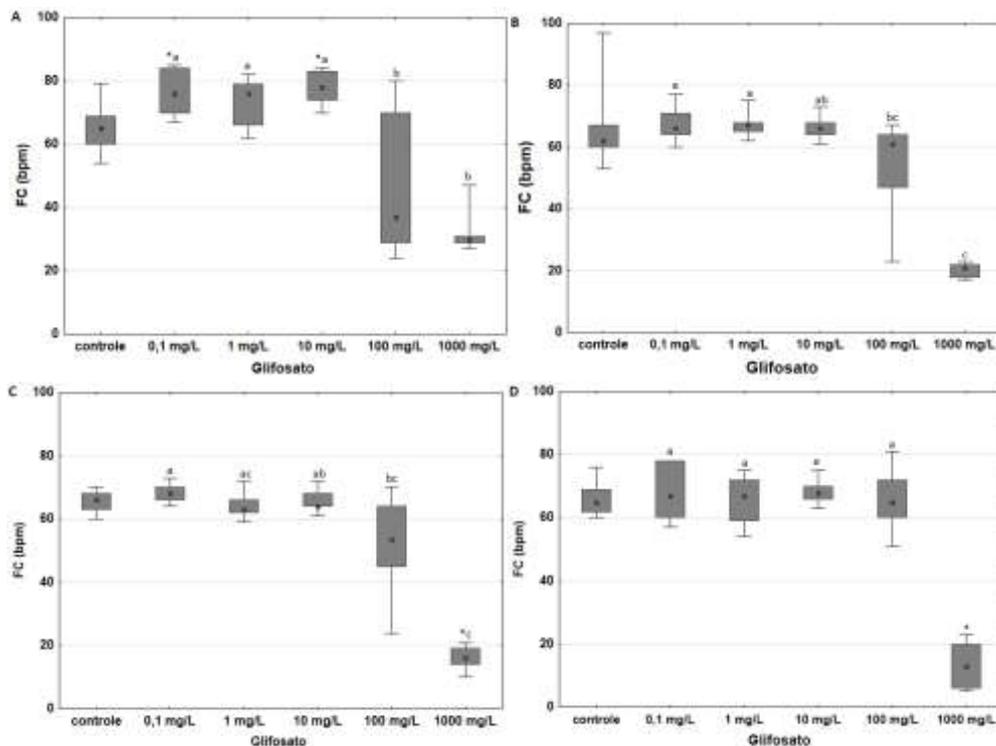


Figura 3: Frequência Cardíaca (FC) dos embriões de *Odontesthes argentinensis* expostos ao Roundup por 24h (A), 48h (B), 72h (C) e 96h (D). Os valores são representados pelas medianas, mín-máx. Os asteriscos denotam diferenças significativas com o grupo controle e as letras sobre as barras indicam diferenças entre os tratamentos com glifosato. ($n \geq 12$, Kruskal- Wallis; $p < 0,05$).

4. CONCLUSÕES

A partir dos resultados obtidos, conclui-se que a exposição por 96h a concentrações superiores a 100 mg/L de glifosato (e.a.), afetam a embriogênese e reduz a sobrevivência do peixe-rei *Odontesthes argentinensis*. Outros estudos de exposição crônica são necessários para elucidar melhor os efeitos observados.

5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- GIESY J. P.; DOBSON, S.; SOLOMON K. R.. Ecotoxicological risk assessment for Roundup® herbicide. **Rev Environ Contam Toxicol** 167:35–120, 2000
- HUANTO, R. B. 2017. Assembleia de metazoários parasitos e histopatologias associadas às brânquias de *Odontesthes*(Atherinopsidae) em habitat aquáticos do extremo sul do Brasil. Dissertação (mestrado). Universidade Federal do Rio Grande.
- JEZIERSKA, B., LUGOWSKA, K., WITESKA, M., 2009. The effects of heavy metals on embryonic development of fish (a review). **Fish Physiol. Biochem.** 35, 625–640
- JIRAUNGKOORSKUL, W.; UPATHAM, E. S.; KRUAETRACHUE, M.; SAHAPHONG, S.; VICHASRI-GRAMS, S.; POKETHITIYOOK P. Histopathological effects of Roundup®, a glyphosate herbicide, on Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*). **SciAsia** 28:121–127, 2002
- LANZARIN, G. A., FÉLIX, L. M., SANTOS, D., VENÂNCIO, C. A., & MONTEIRO, S. M. (2019). Dose-dependent effects of a glyphosate commercial formulation–Roundup® UltraMax-on the early zebrafish embryogenesis. **Chemosphere**, 223, 514-522.
- MATTOS, Maria Laura Turino et al (2012). Monitoramento ambiental do glifosato e do seu metabólito (ácido aminometilfosfônico) na água de lavoura de arroz irrigado. **Pesticidas: Revista de Ecotoxicologia e Meio Ambiente**, v. 12, 2002
- MENENDÉZ-HELMAN, R. J., MIRANDA, L. A., dos SANTOS AFONSO, M., & SALIBIÁN, A. (2015). Subcellular energy balance of *Odontesthes bonariensis* exposed to a glyphosate-based herbicide. **Ecotoxicology and environmental safety**, 114, 157-163.
- PHONLOR, G., AND J. C. B. COUSIN. 1997. Early life history of silverside fishes, p. 136–141. In: Subtropical convergence environments: the coast and sea in Southwestern Atlantic. U. Seeliger, C. Odebrecht, and J. P. Castello (eds.). **Springer-Verlag**, Berlin, Germany
- ROY, NICOLE M. et al. Glyphosate induces cardiovascular toxicity in *Danio rerio*. **Environmental toxicology and pharmacology**, v. 46, p. 292-300, 2016.
- SALBEGO, J.; PRETTO, A.; GIODA, C. R., de MENEZES, C. C., LAZZARI, R., RADÜNZ NETO, J; LORO, V. L. 2010. Herbicide Formulation with Glyphosate Affects Growth, Acetylcholinesterase Activity, and Metabolic and Hematological Parameters in Piava (*Leporinus obtusidens*). **Archives of Environmental Contamination and Toxicology**, 58(3), 740–745.
- YUSOF, Shahrizad; ISMAIL, Ahmad; ALIAS, Mohamad Shafiq. Effect of glyphosate-based herbicide on early life stages of Java medaka (*Oryzias javanicus*): a potential tropical test fish. **Marine pollution bulletin**, v. 85, n. 2, p. 494-498, 2014.
- ZHANG, S., XU, J., KUANG, X., LI, S., LI, X., CHEN, D., & FENG, X. (2017). Biological impacts of glyphosate on morphology, embryo biomechanics and larval behavior in zebrafish (*Danio rerio*). **Chemosphere**, 181, 270-280.