TOXICIDADE AGUDA DO ROUNDUP TRANSORB® NA EMBRIOGÊNESE DO PEIXE-REI *ODONTESTHES ARGENTINENSIS*

NIVIA MARIA STREIT[1]; JULIANA GERI MOREIRA; MAIDANA DA SILVA IDIARTE; TAINÁ GUILLANTE[2]; YURI DORNELLES ZEBRAL[3]; RICARDO BERTEAUX ROBALDO[4]

[1]Universidade Federal de Pelotas – niviast@yahoo.com.br
[2]Universidade Federal de Pelotas
[3]Universidade Federal de Rio Grande
[4] Universidade Federal de Pelotas – ricardorobaldoufpel@gmail.com

1. INTRODUÇÃO

Os ecossistemas aquáticos atuam como canais ou sumidouros. Desta forma, são altamente impactados por estressores antropogênicos, acumulando contaminantes que afetam diretamente a qualidade da água (KELLY et al., 2010). Estes contaminantes podem afetar um indivíduo ou uma população, com efeitos letais ou sub-letais, que podem ser antagônicos ou sinérgicos (KELLY et al., 2010). Dentre os contaminantes agrícolas, o herbicida Roundup® é a formulação mais popular, com uma produção anual de cerca de 1 milhão de toneladas (CUHRA et al., 2016); composta pelo ingrediente ativo glifosato e surfactantes, importantes na absorção do composto pela planta. A ampla aplicação e a meia-vida relativamente longa (45 a 60 dias) do glifosato, torna sua presença constante nas águas costeiras (ANNETT et al., 2014). As concentrações ambientais encontradas em águas superficiais brasileiras, variaram de 0,36 a 2,16mg.L^{-1}; enquanto na Argentina os valores estimados foram inferiores (0,10-0,70mg.L^{-1}) (ZEBRAL et al., 2017).

Além da inibição no crescimento das plantas (FIORINO et al., 2018), inúmeros estudos comprovaram os efeitos tóxicos dos herbicidas à base de glifosato, em uma ampla variedade de vertebrados (BRIDI et al., 2017). Dentre eles, os peixes são considerados um bom modelo para avaliar a toxicidade em sistemas aquáticos, além da elevada posição que podem ocupar na cadeia alimentar aquática (LAURIANO et al., 2016). O uso de embriões de peixes é considerado uma alternativa viável que permite avaliar a toxicidade, o modo de ação e os efeitos teratogênicos no ambiente aquático (SEHONOVA et al., 2016). Estudos demonstram que as composições a base de glifosato podem ser mais tóxicas do que o princípio ativo isolado. A exposição de embriões de zebrafish (96h pós-fertilização) à concentrações abaixo de 0,5mg.L^{-1}, indicaram que a exposição promove alterações morfológicas cefálicas, como redução na distância entre os olhos. Diferentemente, o comprimento do corpo foi reduzido em todas as concentrações do composto a base de glifosato testadas (BRIDI et al., 2017).

As espécies de peixe-rei (*Odontesthes* spp) são associadas a ambientes costeiros da América do Sul habitando lagoas costeiras, estuários e praias marinhas, onde passam por processo de radiação evolutiva para águas continentais a partir do mar (BEMVENUTI, 2002). São muito apreciadas pela qualidade da carne, e também na pesca desportiva. Por isso, e por serem eurihalinas e euritérmicas, têm sido avaliadas na piscicultura e já foram introduzidas com relativo sucesso na aquicultura de países como Argentina, Bolívia e Japão (SAMPAIO; PIEDRAS, 2010). O aumento do uso, bem como de áreas agrícolas com culturas resistentes ao glifosato torna necessário avaliar os impactos em organismos não-alvo (ZANUNCIO et al., 2018) e entender os efeitos letais e subletais de xenobióticos nestes organismos, principalmente nos

primeiros estágios de vida pois, podem resultar na redução da biodiversidade (FIORINO et al., 2018).

Assim, o objetivo deste estudo foi avaliar a toxicidade do Roundup transorb®(RT) à embriões do peixe-rei *Odontesthes argentinensis,* expostos de forma aguda (96h), através da análise de alterações morfológicas durante a embriogênese.

2. METODOLOGIA

Ovos embrionados do peixe-rei *Odontesthes argentinensis* foram coletados na beira da praia do Cassino (Rio Grande, RS) sob licença do ICMBio (67433-1) e transferidos para o Laboratório de Fisiologia Aplicada a Aquicultura (UFPel), onde foram incubados conforme proposto em SAMPAIO; PIEDRAS (2010). Os ovos foram mantidos em incubadoras cilíndrico cônicas de 20L, sob aeração constante, em sistema de recirculação, dotado de filtros mecânico e biológico, temperatura controlada (21ºC), pH 8,0 e fotoperíodo natural. Cerca de 20% do meio foi renovado a cada 48h para manutenção da qualidade da água, quando os ovos gorados e/ou fungados foram descartados. Os ensaios com embriões foram iniciados após 24h de incubação no laboratório, após o estágio de epibolia ter sido alcançado.

Ovos embrionados, passaram por exposição aguda (24, 48, 72 e 96h), em concentrações de 0,1, 1,0, 10,0, 100,0 e 1000mg.L^{-1} (em Sal de glifosato). Para todos os tratamentos foram mantidos e amostrados grupos controles não expostos. Todos os tratamentos e controles foram realizados em triplicata (n=30). Após a eclosão das larvas, foram realizadas medidas em comprimento total e padrão (0,1mm) e pesadas (0,01g), mediante sedação prévia em eugenol (200mg.L^{-1}) por cerca de 30 segundos. As medidas morfométricas, expressas em mm, foram realizadas em estereomicroscópio equipado com ocular, dotada de retículo milimetrado. Os caracateres morfométricos avaliados foram: comprimento da notocorda (CN), diâmetro dos olhos (DO) e distância entre os olhos (DEO).

Ao término do experimento, os embriões e larvas foram sacrificados por sedação prolongada em banho de eugenol (200mg.L^{-1}) e posteriormente repassados ao Biotério da UFPel para descarte.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Inúmeros estudos comprovaram os efeitos tóxicos dos herbicidas à base de glifosato em espécies de peixes. Na presente pesquisa foi observado marcado efeito de redução no tamanho das larvas (comprimento da notocorda) mesmo quando expostos a menor concentração de herbicida testada (0,1mg.L^{-1}). Esse resultado ressalta a importância do efeito deletério do herbicida em níveis de contaminação ambiental inferiores aos já registrados na região de estudo (0.36 a 2.16mg.L^{-1}), com o menor valor a 100mg.L^{-1} (6,96mm) (Figura 1). Em relação aos dados do diâmetro ocular (DO), foi observada uma diminuição nas medidas morfométricas, com uma diferença significativa na concentração de 100mg.L^{-1} quando comparada ao controle e às demais concentrações. Ao encontro desses resultados, embriões do peixe-rei *Odontesthes humensis*, quando expostos ao Roundup transorb®, também apresentaram redução no diâmetro dos olhos, mesmo em concentrações ecologicamente relevantes do herbicida (0,36mg.L^{-1}) (ZEBRAL et al., 2017). Em relação às medidas da distância entre os olhos (DEO) (Figura 3), foram evidenciadas diferenças nas concentrações de 0,1, 1 e 10 mg.L^{-1} quando comparados ao grupo controle, que apresentou o menor valor (0,26mm), assim como na concentração de 100 mg.L^{-1}, com a maior medida (0,28mm). A

exposição de larvas de zebrafish à diferentes concentrações de Roundup® (0,01-0,5mg.L^{-1}) nos primeiros estágios de desenvolvimento provocou uma redução no comprimento do corpo. Este estudo comprovou que a exposição por 96h a este herbicida, mesmo em baixas concentrações, desencadeou alterações morfológicas (BRIDI et al., 2017). Em outro estudo, utilizando a mesma espécie, em concentrações de 100 a 400mg.L^{-1}, foi observada uma redução no comprimento corporal, diâmetro dos olhos e tamanho da cabeça, especialmente em 400mg.L^{-1} (ZHANG et al., 2017). Foi observado, mesmo em concentrações ambientais (0,01mg.L^{-1}), mudança no padrão de natação, com diminuição do movimento espontâneo das larvas e, consequentemente, da capacidade exploratória (BRIDI et al., 2017). Este comportamento, que resultado das alterações morfológicas, também observadas na presente pesquisa, pode alterar a disputa por recursos, além de tornar os animais mais suscetíveis a predação, causando um desequilibrio na população da espécie do peixe-rei *Odonthestes argentinensis,* reduzindo a biodiversidade.

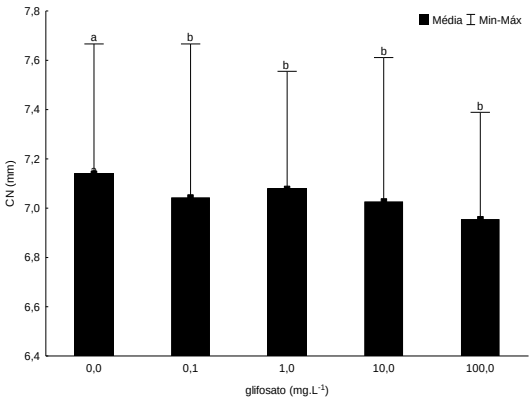

Figura 1 – Comprimento da notocorda (CN) de larvas do peixe-rei *Odontesthes argentinensis* expostos por 96h à concentrações de 0,1, 1, 10 e 100 mg.L^{-1} de Roundup transorb® e grupo controle. Média±desvio padrão (ANOVA; Tuckey; n=30; p≤0,05); letras diferentes indicam diferenças significativas entre as médias.

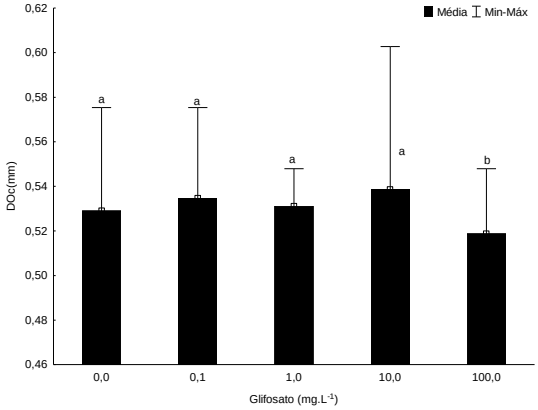

Figura 2 – Diâmetro ocular (DOc) de larvas do peixe-rei *Odontesthes argentinensis* expostos por 96h à concentrações de 0,1, 1, 10 e 100 mg.L^{-1} de Roundup transorb® e grupo controle. Média±desvio padrão (ANOVA; Tuckey; n=30; p≤0,05); letras diferentes indicam diferenças significativas entre as médias.

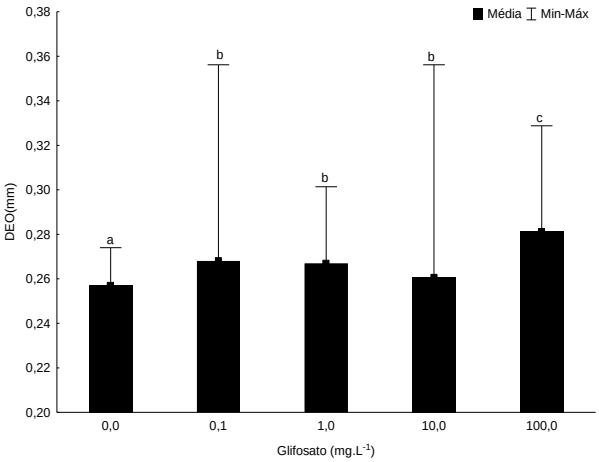

Figura 3 - Distância entre os olhos (DEO) de larvas do peixe-rei *Odontesthes argentinensis* expostos por 96h à concentrações de 0,1, 1, 10 e 100 mg.L^{-1} de Roundup transorb® e grupo controle. Média±desvio padrão (ANOVA; Tuckey; n=30; p≤0,05); letras diferentes indicam diferenças significativas entre as médias.

4. CONCLUSÃO

Os resultados levam a conclusão de que o Roundup Transorb® em concentrações ambientalmente relevantes prejudica o desenvolvimento

embrionário do peixe-rei marinho *Odontesthes argentinensis*, reduzindo seu tamanho corpóreo e promovendo alterações morfológicas cefálicas com redução do tamanho dos olhos e aumento da distância entre eles. Tal conclusão sugere que RT pode impactar a população desta espécie, e reduzir biodiversidade.

5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ANNETT, R.; HABIBI, H.R.; HONTELA, A. Impact of glyphosate and glyphosate based herbicides on the fresh water environment. **Journal of Applied Toxicology**, 34, 458-479, 2014.

BEMVENUTI, M.A. Diferenciação morfológica das espécies de peixes-rei, *Odontesthes,* Evermann & Kendall (Osteichthyes, Atherinopsidae) no extremo sul do Brasil: morfometria multivariada. **Revista brasileira de Zoologia**, 19 (1), 251-287, 2002.

BRIDI D.; ALTENHOFEN S.; GONZALEZ J.B.; REOLON G.K.; BONAN, C.D. Glyphosate and Roundup® alter morphology and behavior in zebrafish. **Toxicology**, 392:32–39, 2017.

CUHRA, M.; BOHN, T.; CUHRA, P. **Glyphosate: too much of a good thing?** Front EnvironSci 4. 2016. Acessado em 25 abr 2020. Disponível em: https://doi.org/10.3389/fenvs.2016.00028.

FIORINO, E.; SEHONOVA, P.; PLHALOVA, L.; BLAHOVA, J.; SVOBODOVA, Z.; FAGGIO, C. Effects of glyphosate on early life stages: comparison between Cyprinus carpio and Danio rerio. **Environmental Science and Pollution Research**, 25, 8542-8549, 2018.

KELLY, D.W.; POULIN, R.; TOMPKINS, D.M.; TOWNSEND, C.R. Synergistic effects of glyphosate formulation and parasite infection on fish malformations and survival. **Journal of Applied Ecology**, 47, 498–504, 2010.

LAURIANO, E.R.; PERGOLIZZI, S.; CAPILLO, G.; KUCIEL, M.; ALESCI, A.; FAGGIO, C. Immuno histochemical characterization of Toll-like receptor 2 in gut epithelial cells and macrophages of gold fish Carassius auratus fed with a high-cholesterol diet. **Fish and Shell fish Immunology**, 59, 250–255, 2016.

SAMPAIO, L.A.; PIEDRAS, S.R.N. Cultivo de peixe-rei marinho (*Odontesthes argentinensis*) e de água doce (*Odontesthes bonariensis*). In: BALDISSEROTTO, B.; GOMES, L.C. (Org.). **Espécies nativas para piscicultura no Brasil**. 2ed. Santa Maria: UFSM, 2010, p. 383-400.

SEHONOVA, P.; PLHALOVA, L.; BLAHOVA, J.; BERANKOVA, P.; DOUBKOVA, V.; PROKES, M.; TICHY, F.; VECEREK, V.; SVOBODOVA, Z. The effect of tramadol hydrochloride on early life stages of fish. **Environmental Toxicology and Pharmacology**, 44, 151–157, 2016.

ZHANG, S.; XU, J.; KUANG, X.; LI, S.; LI, X.; CHEN, D.; ZHAO, X.; FENG, X., 2017. Biological impacts of glyphosate on morphology, embryo biomechanics and larval behavior in zebrafish (Danio rerio). **Chemosphere**, 181, 270–280, 2017.

ZANUNCIO, J.C.; LACERDA, M.C.; ALCÁNTARA-DE LA CRUZ, R.; BRÜGGER, B.P.; PEREIRA, A.I.A.; WILCKEN, CF.; SERRÃO, J.E.; SEDIYAMA, C.S. Glyphosate-based herbicides toxicity on life history parameters of zoophytophagous *Podisus nigrispinus* (Heteroptera: Pentatomidae). **Ecotoxicology and Environmental Safety**, 147,245– 250, 2018.

ZEBRAL, Y.D.; COSTA, P.G.; KNOPP, B.C.; LANSINI, L.R.; ZAFALON-SILVA, B.; BIANCHINI, A.; ROBALDO, R.B. Effects of a glyphosate based herbicide in pejerrey *Odontesthes humensis* embryonic development. **Chemosphere**, 185, 860-867, 2017.