



**Embriotoxicidade da água de riachos sobre o peixe neotropical *Rhamdia quelen*,
em região agrícola do Paraná**
**Embryotoxicity of stream water on the neotropical fish *Rhamdia quelen*, in an
agricultural region of Paraná**

Nome Completo do Bolsista Principal: Carolaine Biavatti¹, Nome Completo do(s)
Coautor(es): Sandrieli Gonçalves², Douglas F. Zimmer³, Camila L. Comelli⁴, Nome
Completo do Orientador Principal: Elton C. Oliveira⁵, Nedia C. Ghisi⁶.

RESUMO

Em regiões agrícolas, os ambientes aquáticos são rotineiramente expostos à substâncias químicas com potencial efeito tóxico. Assim, buscou-se avaliar se a sobrevivência e deformidades no estágio embrio-larval de *Rhamdia quelen* foram afetadas pelas águas de riachos com diferentes níveis de uso agrícola. Selecionou-se um ponto amostral (P1) em riacho com nascentes protegidas, um ponto em riacho (P2) com grande influência agrícola e um ponto (P3) na área de confluência dos dois riachos. Para o controle negativo (CN) foi utilizada água reconstituída e para o controle positivo (CP) uma mistura de glifosato, 2,4-D e bifentrina. Cinco ovos viáveis/poço foram distribuídos em 7 microplacas e avaliados por 168h de exposição, em ensaio semiestático. A sobrevivência foi menor somente no CP e o índice de deformidade e o tamanho das larvas não foram afetados pelos tratamentos. Recomenda-se análises complementares com biomarcadores para melhor compreensão das interações.

PALAVRAS-CHAVE: bioensaio; larvas; sobrevivência; deformidades.

ABSTRACT

In agricultural regions, aquatic environments are exposed to chemicals with toxicological potential effects. Thus, we aimed to evaluate whether survival and deformities in the embryo-larval stage of *Rhamdia quelen* were affected by the waters of streams with different levels of agricultural use. The water was collected in: P1- stream with protected springs; P2- stream with great agricultural influence; P3- in the confluence area of the two streams. For the negative control (CN) reconstituted water was used and for the positive control (CP) a mixture of glyphosate, 2,4-D and bifenthrin. Five viable eggs/well were distributed in 7 microplates and evaluated for 168h of exposure, in a semi-static test. Survival was lower only in CP and the deformity index and larvae size were not affected by the treatments. Complementary analyzes with biomarkers are recommended to better understand the interactions.

KEYWORDS: bioassay; larvae; survival; deformities.

INTRODUÇÃO

Desde que os agrotóxicos começaram a ser utilizados em larga escala na década de 60, se iniciaram estudos para entender os seus mecanismos de interação com os

¹ Bolsista do(a) CNPQ. Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Dois Vizinhos, Paraná, Brasil. E-mail: carolainebiavatti@alunos.utfpr.edu.br. ID Lattes: 992028704794665.

² Bolsista da CAPES. Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Dois Vizinhos, Paraná, Brasil. E-mail: sandrieli@outlook.com. ID Lattes: 3814390263060559.

³ Bolsista da CAPES. Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Dois Vizinhos, Paraná, Brasil. E-mail: zimmer.2017@alunos.utfpr.edu.br. ID Lattes: 8637118694319200.

⁴ Bolsista do(a) CAPES. Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Dois Vizinhos, Paraná, Brasil. E-mail: milacomelli@gmail.com. ID Lattes: 9645540852476924.

⁵ Programa de Pós-Graduação em Agroecossistemas (PPGSIS). Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Dois Vizinhos, Paraná, Brasil. E-mail: eltonoliveira@utfpr.edu.br. ID Lattes: 6913303562015770.

⁶ Programa de Pós-Graduação em Biotecnologia (PPGBIOTEC). Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Dois Vizinhos, Paraná, Brasil. E-mail: nediaghisi@utfpr.edu.br. ID Lattes: 4542801151720873.



diferentes compartimentos ambientais, em especial sua capacidade em promover efeitos nocivos às espécies. Desde o início dessas pesquisas são relatadas diversas reclamações de feitos colaterais em agricultores. Em relação às espécies silvestres são encontrados efeitos letais e subletais consistentes em todos os grandes grupos de organismos vivos, tais como algas, plantas, invertebrados e vertebrados (MORAIS, 2023).

Atualmente, a utilização de agrotóxicos nas culturas anuais só aumenta, em função da crescente produção de commodities do agronegócio, que prospera a passos largos em países em desenvolvimento, que acabaram se especializando em produzir e exportar esses produtos, situação observada amplamente no Brasil e, em especial, no estado do Paraná; um dos maiores produtores agrícolas do país (DE ARAUJO et al., 2007).

Neste sentido, os estudos de embriotoxicidade tornaram-se ferramentas importantes para avaliar o potencial efeito de substâncias químicas potencialmente nocivas. Estes estudos preconizam a exposição de fases iniciais de desenvolvimento que, em geral, são mais susceptíveis à toxicidade e vitais para a manutenção das populações naturais. Para peixes esse ensaio é padronizado pela OECD e validado em diversos países da União Européia, estando em alta também nos laboratórios de pesquisa brasileiros (BRITO et al., 2018).

O peixe neotropical *Rhamdia quelen* é uma espécie de interesse econômico para a piscicultura e alimentação, sendo amplamente utilizado em criações comerciais. Estudos indicam que essa espécie é sensível à contaminantes químicos presentes na água e um excelente modelo biológico em bioensaios, uma vez que se adapta bem à condições controladas. A exposição desses peixes a substâncias tóxicas durante o desenvolvimento embrionário pode resultar em malformações morfológicas, baixa sobrevivência, crescimento atrasado e comportamentos anormais. Além disso, é possível analisar parâmetros mais específicos com o uso de biomarcadores genéticos, bioquímicos e fisiológicos (MORAIS, 2023).

O presente estudo objetivou avaliar se a água de riachos com diferentes níveis de perturbação induzem efeitos negativos sobre a sobrevivência, no desenvolvimento de teratologias e no crescimento embrio-larval do jundiá *Rhamdia quelen*.

MATERIAIS E METODOS

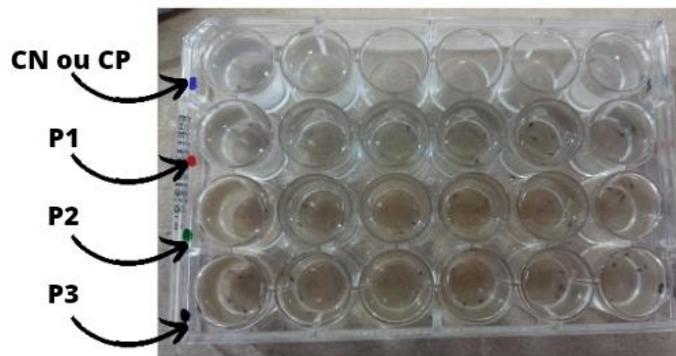
O projeto foi realizado na Universidade Tecnológica Federal do Paraná, campus de Dois Vizinhos (UTFPR-DV), e a água utilizada no bioensaio com *Rhamdia quelen* foi coletada a partir de dois riachos de 1ª e 2ª ordem que correm paralelamente dentro da área da universidade, sendo um com nascentes internas ao *campus*, em área de pouco uso agrícola (< 50% da ocupação), e majoritariamente preservadas com vegetação. O segundo riacho apresenta suas nascentes fora do perímetro do referido *campus* universitário, atravessando-o mais a jusante. Esse riacho corre em extensas áreas de agricultura intensiva, com pouca vegetação ciliar.

Neste sentido, foram estabelecidos três pontos amostrais para coleta de água: P1- local com bastante vegetação ciliar, tendo sua nascente dentro da trilha ecológica da UTFPR-DV e com pouca influência de áreas agrícolas; P2- sua nascente vem de uma área com pouca vegetação ciliar e com grande contato com áreas agrícolas; P3- local após a confluência dos dois pontos citados anteriormente.

Além disso, foram utilizados dois controles: positivo e negativo. No controle positivo (CP) foi utilizada uma mistura de agrotóxicos utilizados na região, sendo eles o glifosato,

2,4-D e bifentrina. A concentração dos pesticidas foi de 200ug/L de glifosato, 100ug/L de 2,4D, e 2ug/L de bifentrina, estabelecidos a partir dos padrões analíticos da Sigma-Andrich. Essas concentrações representaram o máximo permitido de cada substância na legislação brasileira para mananciais superficiais classe 2, a mais usual em território brasileiro. Para o controle negativo (CN) utilizou-se apenas a água reconstituída, a qual foi estabelecida da seguinte forma: 0,0065 g.L⁻¹ CaCl₂; 0,1335 g.L⁻¹ MgSO₄; 0,0004 g.L⁻¹ KCl; 0,0105 g.L⁻¹ NaHCO₃. A figura 1 representa a disposição dos tratamentos utilizados no presente estudo, em microplacas de 24 poços.

Figura 1- placa com as substâncias usadas.



Fonte: própria

Cinco ovos recém-fertilizados e viáveis da espécie modelo foram inseridos em cada poço com a substâncias-teste (tratamentos), em microplacas de 24 poços, 7 réplicas, em um ensaio com 168h de duração (7 dias). A cada 24 horas 50% do volume da solução-teste de cada poço era renovado. A partir de 96h após a fertilização (hpf) as larvas sobreviventes foram alimentadas com náuplios de *Artemia salina*.

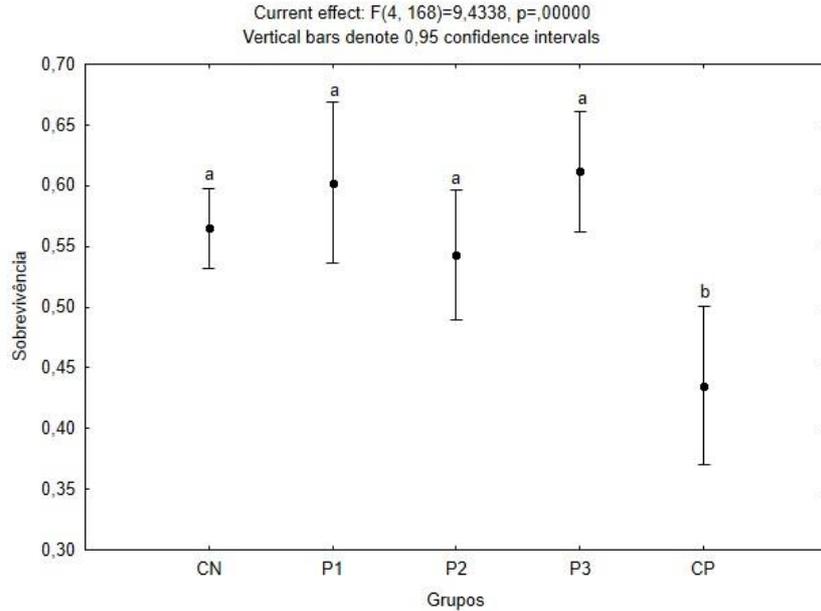
A sobrevivência foi avaliada a cada 24 horas durante toda a duração do experimento, enquanto que as deformidades morfológicas e o tamanho das larvas (área corporal em mm) foram avaliados apenas em 96hpf. Para análise das deformidades e do tamanho foram coletadas aleatoriamente 30 larvas por tratamento, as quais foram distribuídas em 6 tubos com 5 indivíduos/cada embebidos em formol 5% para preservação, com análises e resultados posteriores.

Para analisar os dados, utilizou-se um protocolo de ANOVA de medidas repetidas para comparar a sobrevivência entre os tratamentos e de ANOVA one-way no caso das deformidades e tamanho. Todos os procedimentos foram aprovados pelo Parecer CEUA nº 23064.036441/2021-33.

RESULTADOS E DISCUSSÕES

A análise da sobrevivência revelou um padrão semelhante em todos os pontos amostrais com o controle negativo. O controle positivo foi o único tratamento em que a sobrevivência das larvas foi reduzida significativamente (Gráfico 1), sugerindo um efeito toxicológico letal para a mistura de pesticidas, mesmo dentro dos limites estabelecidos pela legislação brasileira vigente para águas superficiais (CONAMA, 2005).

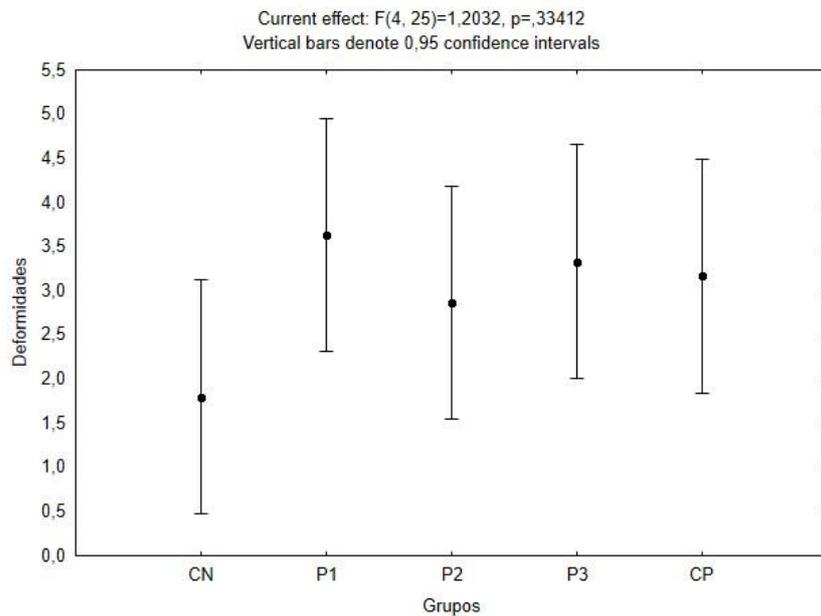
Gráfico 1- Sobrevivência da fase embrio-larval de *Rhamdia quelen* exposta às águas dos pontos amostrais e dos grupos controles por 168 horas pós-fertilização



Fonte: própria

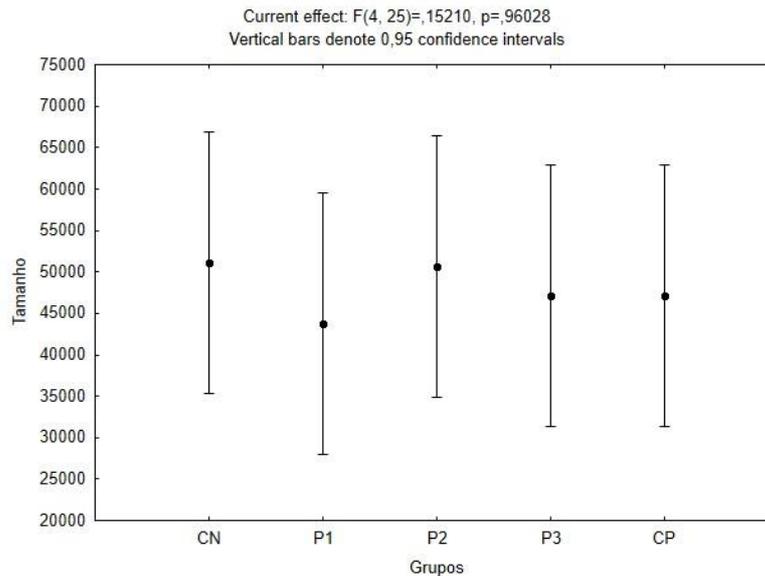
Os dados de deformidades e do tamanho das larvas apresentaram resultados similares entre os tratamentos, não apresentando diferenças significativas quando testados pela ANOVA (Gráficos 2 e 3)

Gráfico 2- Índice de deformidades da fase embrio-larval de *Rhamdia quelen* exposta às águas dos pontos amostrais e dos grupos controles por 96 horas pós-fertilização



Fonte: própria

Gráfico 3- Tamanho corporal, em milímetros, da fase embrio-larval de *Rhamdia quelen* exposta às águas dos pontos amostrais e dos grupos controles por 96 horas pós-fertilização



Fonte: própria

Primeiramente, vale destacar a importância dos recursos hídricos para o funcionamento, manutenção e conservação dos ecossistemas naturais. A contaminação da água por agrotóxicos utilizados na agricultura pode ter impactos diferentes conforme a fase ontogenética no desenvolvimento, comprometendo o ciclo de vida das espécies e, conseqüentemente, na sua viabilidade populacional em longo prazo (BRITO et al., 2018).

Apesar de não termos observado dados estatisticamente significativos durante o experimento para as águas dos pontos amostrais, constatou-se estatisticamente uma menor sobrevivência das larvas na mistura de pesticidas em concentrações legalmente aceitáveis pela legislação brasileira (CONAMA, 2005), mostrando a eficiência do protocolo de embriotoxicidade de peixes e a periculosidade desses produtos amplamente utilizados para o manejo agrícola.

Como os agrotóxicos são substâncias voláteis que não ficam presentes na água por um grande período de tempo, podemos sugerir que: 1- a coleta da água utilizada no experimento continha poucos resíduos dessas substâncias; e/ou 2- que nossos parâmetros de análise foram pouco responsivos para detectar sua interação com os organismos.

CONCLUSÃO

A mistura de agrotóxicos utilizada neste estudo para simular a aplicação de controle de pragas em ambiente agrícola, além de amplamente difundida no manejo agrônomo, esteve dentro dos limites estabelecidos pela legislação e, mesmo assim, promoveu efeitos letais em nosso modelo biológico. A água dos pontos de amostragem não apresentou efeito visível, sendo recomendada a análises de biomarcadores para uma melhor compreensão.



Agradecimentos

Agradeço ao CNPQ que me oportunizou a bolsa para que pudesse fazer esse experimento, sendo uma experiência incrível, e também a UTFPR que também ajudou a oportunizar essa experiência.

Conflito de interesse

Não há conflito de interesse.

REFERÊNCIAS

BRITO, I. A., et al. Ensaio de toxicidade embrionária na espécie de peixe *Rhamdia quelen* (Teleostei, Heptaridae) para avaliar a qualidade da água na bacia do Alto Iguaçu (Paraná, Brasil). Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2018.05.009>>. Acesso em: 22/09/2023

CONAMA. Resolução nº 357, de 17 de março de 2005 Publicada no DOU nº 053, de 18/03/2005, págs. 58-63. Disponível em: <<http://conama.mma.gov.br/atos-normativos-sistema>>. Acesso em: 01 maio de 2022.

DE ARAUJO, A. J, et al (2007) Exposição múltipla a agrotóxicos e efeitos à saúde: Estudo transversal em amostra de 102 trabalhadores rurais, Nova Friburgo, RJ. Disponível em: <<https://doi.org/10.1590/S1413-81232007000100015>>. Acesso em: 22/09/2023.

MORAIS, E. R. Toxicidade de cádmio para organismos aquáticos: revisão cenciométrica e bioensaios em concentrações realísticas. Dissertação (Mestrado). Programa de Pós-Graduação em Agroecossistemas, Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Dois Vizinhos-PR.