

O IMPACTO DO FUNGICIDA TEBUCONAZOL SOBRE A LONGEVIDADE DO NEMATÓDEO *Caenorhabditis elegans*

THIANA ALISSA ARISI¹; ADRIANA GAVA²

¹ Universidade Federal do Rio Grande - FURG – thiana.arisi@gmail.com

² Universidade Federal do Rio Grande - FURG – adriana.gava@gmail.com

1. INTRODUÇÃO

O Brasil é um dos maiores consumidores de produtos agrotóxicos no mundo. Em vista disso, torna-se importante o controle e o estudo do impacto ambiental dos agrotóxicos utilizados no país.

O tebuconazol, do grupo químico triazol, com fórmula molecular C₁₆H₂₂ClN₃O, é um fungicida sistêmico que inibe a síntese de ergosterol, um componente importante da membrana celular dos fungos (Copping; Hewitt, 1998). Na agricultura o tebuconazol é utilizado em diferentes culturas como arroz, batata, cevada, soja, trigo, uva entre outros.

Caenorhabditis elegans é um nematódeo de vida livre que vive no solo. Os vermes adultos podem ter de 1-1,5mm de comprimento. Na ausência de alimento *C. elegans* é capaz de entrar em um estágio larval alternativo, larva dauer, que não se alimenta e apresenta um baixo metabolismo. Possui um ciclo de vida bastante rápido, de ovo para adulto leva aproximadamente três dias a 20°C (Lindblom; Dodd, 2006, Hope, 1999). É considerado um organismo modelo por ser um animal pequeno, com ciclo de vida curto, com prole numerosa, manutenção fácil, de baixo custo e por possuir o genoma sequenciado (Li *et al.*, 2009, Kazuhiro *et al.*, 2002). Por essas características, atualmente o *C. elegans* tem sido usado com frequência em testes de toxicidade com diferentes tipos de tóxicos (metais pesados, pesticidas e toxinas) para avaliar possíveis riscos ambientais tanto no solo como no meio aquático (Leung *et al.*, 2008, Wu *et al.*, 2012).

O objetivo deste trabalho é avaliar o efeito do fungicida tebuconazol sobre o nematódeo *C. elegans*. Para tanto o *C. elegans* foi usado em experimentos de modo a analisar as alterações causadas pelo fungicida sobre a longevidade.

2. METODOLOGIA

O *C. elegans* utilizado é da linhagem selvagem (N2). Os nematódeos foram mantidos em placas de petri em meio de crescimento de nematódeo (NGM) em estufa a 20°C. O meio de crescimento foi suplementado com bactérias *Escherichia coli* cepa OP50 como alimento. Para evitar que a idade influenciasse no experimento os nematódeos utilizados foram sincronizados.

As larvas foram expostas a cinco concentrações diferentes do fungicida: 0, 1,0, 1,5, 2,0 e 2,5 mg/L durante dois dias.

Após a exposição, 30 nematódeos foram transferidos para placas com meio NGM e o tempo registrado como t = 0. A cada 24h foi feita a contagem de mortos e/ou vivos durante 25 dias. Os nematódeos foram considerados mortos quando não responderam ao estímulo repetido de toque. A cada dois dias os nematódeos foram

transferidos para uma nova placa com meio NGM para evitar que a prole se misturasse no teste de longevidade.

Análises estatísticas foram feitas através do software Graphpad® versão 5.0. Para analisar as variâncias foi utilizada a ANOVA seguida do teste de Tukey para verificar se ocorreram diferenças significativas entre os grupos. Para verificar diferenças entre as curvas de sobrevivência o teste Log-Rank foi realizado.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

No teste de longevidade do *C. elegans* exposto às diferentes concentrações do tebuconazol, as médias de sobrevivência dos animais expostos ao tebuconazol diminuíram em relação ao controle ($P < 0,0001$).

Apesar de ser encontrado no solo, *C. elegans* pode ser exposto agudamente a toxinas diluídas em meio líquido sem que isso resulte em morte dos vermes devido às condições de baixa tensão de oxigênio (Voorhies; Ward, 2000).

Estudos com diferentes tipos de agrotóxicos já foram realizados com o nematódeo *C. elegans*. Mancozeb, um fungicida, mostrou-se neurotóxico ao *C. elegans*, causando alterações na locomoção e na postura de ovos (Brody *et al.*, 2013). Hidreto de fósforo um inseticida provocou atraso no desenvolvimento (Leelaja; Rajini, 2012).

Em peixes foi visto que o tebuconazol causa alterações fisiológicas como mudanças nos níveis de colesterol, triglicerídeos, glicogênio, proteínas e aumento na demanda energética (Toni *et al.*, 2011, Ferreira *et al.*, 2010, Sancho *et al.*, 2010). Em *Daphnia magna* o tebuconazol diminuiu as reservas alimentares (Sancho *et al.*, 2009). O catabolismo lipídico inclui formação de lipoproteínas que podem ser utilizados para a reparação de danos celulares e membranas de organelas ou utilização direta das células como fonte de energia. Esta redução das reservas energéticas pode ter consequências a longo prazo nos níveis mais altos de organização biológica, como redução no crescimento, sobrevivência e reprodução. (Roex *et al.*, 2003)

Sugerimos que podem ocorrer alterações fisiológicas similares com o *C. elegans*. É possível que essa demanda energética necessária para o reparo de algum dano estrutural ou fisiológico induzido pelo tebuconazol diminua as reservas energéticas do nematódeo e isto leve a uma redução na longevidade do nematódeo.

4. CONCLUSÕES

Os resultados obtidos nesse estudo indicam que o fungicida tebuconazol possui efeito tóxico sobre o *C. elegans*, apesar de existir a necessidade de também avaliar o efeito do tebuconazol sobre outras características como locomoção, tamanho corporal, alimentação e reprodução, para obter mais informações sobre seu efeito tóxico no nematódeo *C. elegans*.

5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Copping, L.G.; Hewitt, H.G. **Chemistry and Mode of Action of Crop Protection Agents**. Cambridge: The Royal Society of Chemistry, 1998.

- Ferreira, D.; Motta, A.C.; Kreutz, L.C.; Toni, C.; Loro, V.L.; Barcellos, L.J.G. Assessment of oxidative stress in *Rhamdia quelen* exposed to agrichemicals. **Chemosphere**, v.79, p.914–921, 2010.
- Hope, I.A. **C. elegans: A practical approach**. New York: Oxford University Press, 1999.
- Kazuhiro, U.; Toshinori, K.; Sachiko, S.; Taisen, I.; Koji, A. Aquatic Acute Toxicity Testing Using the Nematode *Caenorhabditis elegans*. **Journal of Health Science**, v.48, p.583-586, 2002.
- Leelaja, B.C.; Rajini, P.S. Impact of phosphine exposure on development in *Caenorhabditis elegans*: Involvement of oxidative stress and the role of glutathione. **Pesticide Biochemistry and Physiology**, v.104, p.38–43, 2012.
- Leung, M.C.K.; Williams, P.L.; Benedetto, A.; Au, C.; Helmcke, K.J.; Aschner, M.; Meyer, J.N. *Caenorhabditis elegans*: An emerging model in biomedical and environmental toxicology. **Toxicological Sciences**, v.106, p.5–28, 2008.
- Li, Y.; Wang, Y.; Yin, L.; Pu, Y.; Wang, D. Using the nematode *Caenorhabditis elegans* as a model animal for assessing the toxicity induced by microcystin-LR. **Journal of Environmental Sciences**, v.21, p.395-401, 2009.
- Lindblom, T.H.; Dodd, A.K. Xenobiotic Detoxification in the Nematode *Caenorhabditis elegans*. **Journal of Experimental Zoology**, v.305, p.720–730, 2006.
- Roex, E.W.M.; Keijzers, R.; VanGestel, C.A.M. Acetylcholinesterase and increased food consumption rate in the zebrafish, *Danio rerio*, after chronic exposure to parathion. **Aquatic Toxicology**, v.64, p.451–460, 2003.
- Sancho, E.; Villarroel, M.J.; Fernández, C.; Andreu, E.; Ferrando, M.D. Short-term exposure to sublethal tebuconazole induces physiological impairment in male zebrafish (*Danio rerio*). **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v.73, p.370–376, 2010.
- Sancho, E.; Villarroel, M.J.; Andreu, E.; Ferrando, M.D. Disturbances in energy metabolism of *Daphnia magna* after exposure to tebuconazole. **Chemosphere**, v.74, p.1171–1178, 2009.
- Toni, C.; Ferreira, D.; Kreutz, L.C.; Loro, V.L.; Barcellos, L.J.G. Assessment of oxidative stress and metabolic changes in common carp (*Cyprinus carpio*) acutely exposed to different concentrations of the fungicide tebuconazole. **Chemosphere**, v.83, p.579–584, 2011.
- Voorhies, W.A.V.; Ward, S. Broad oxygen tolerance in the nematode *Caenorhabditis elegans*. **Journal of Experimental Biology**, v.203, p.2467–2478, 2000.
- Brody, A.H.; Chou, E.; Gray, J.M.; Pokyrwka, N.J.; Raley-Susman, K.M. Mancozeb-induced behavioral deficits precede structural neural degeneration. **NeuroToxicology**, v.34, p.74–81, 2013.
- Wu, Q.; Qu, Y.; Li, X.; Wang, D. Chromium exhibits adverse effects at environmental relevant concentrations in chronic toxicity assay system of nematode *Caenorhabditis elegans*. **Chemosphere**, v.87, p.1281-1287, 2012.