



DÉFICITS COMPORTAMENTAIS PRECEDEM ALTERAÇÕES BIOQUÍMICAS NA FASE EMBRIO-LARVAL DE ZEBRAFISH (*Danio rerio*) EXPOSTOS AO FUNGICIDA MANCOZEB

Maria Vitória Takemura Mariano, discente de graduação, Universidade Federal do Pampa, Campus São Gabriel

Luana Paganotto Leandro, discente de doutorado, Universidade Federal de Santa Maria

Karen Kich Gomes, discente de doutorado, Universidade Federal do Pampa

Thais Posser, docente, Universidade Federal do Pampa

Jeferson Luis Franco, docente, Universidade Federal do Pampa, Campus São Gabriel

mariamariano.aluno@unipampa.edu.br

O sistema de produção agrícola em larga escala impulsiona a expansão do mercado de agroquímicos, fato este que posicionou o Brasil como um dos líderes mundiais no consumo destas substâncias. O Mancozeb (MZ) é um fungicida amplamente utilizado no Brasil, apresentando baixa toxicidade aguda e persistência ambiental. Porém, seus produtos de degradação podem ser transportados para o lençol freático devido à sua alta mobilidade através do solo. Visto que estudos demonstram que o MZ já foi detectado em matrizes aquáticas e levando em consideração a sua alta capacidade pró-oxidante, a avaliação de diferentes biomarcadores se faz necessária para complementar evidências científicas sobre potenciais riscos ecotoxicológicos. A avaliação de biomarcadores bioquímicos é uma ferramenta importante nesse campo de estudo, no entanto, análises comportamentais têm se demonstrado mais eficientes em prever danos ecotoxicológicos, surgindo antes de alterações bioquímicas. O Zebrafish (*Danio rerio*), é um organismo modelo utilizado em estudos ecotoxicológicos devido suas particularidades como seu rápido desenvolvimento e a transparência dos embriões. Nesta perspectiva, o presente trabalho tem como objetivo a avaliação de biomarcadores bioquímicos e comportamentais na fase embrio-larval de zebrafish expostos a concentrações subletais do fungicida Mancozeb. Todos os protocolos experimentais utilizados neste trabalho foram aprovados pelo comitê de ética local (CEUA/UNIPAMPA protocolo n° 003/2016). Embriões de 4 horas pós fertilização (hpf) foram expostos ao MZ a 5, 10 e 20 µg/L e a toxicidade do composto foi avaliada por parâmetros comportamentais e bioquímicos em 24, 28, 72 e 168 hpf. Foram realizados testes de letalidade, avaliando a mortalidade (24 hpf) e taxa de eclosão (72 hpf); Avaliação de parâmetros bioquímicos, por meio da detecção dos níveis de espécies reativas de oxigênio (EROS) em 24, 72 e 168 hpf; Avaliação da atividade enzimática da acetilcolinesterase (AChE) em 28, 72 e 168 hpf, catalase (CAT), superóxido dismutase (SOD) e glutathione-S-transferase (GST) em 24, 72 e 168 hpf; Avaliação de parâmetros comportamentais, considerando os testes de movimento espontâneo (28 hpf), resposta motora de escape e a capacidade natatória (72 hpf) e comportamento exploratório (168 hpf). Como esperado, nenhuma das concentrações de MZ testadas causou mortalidade em embriões de zebrafish (24 hpf) sendo consideradas concentrações subletais. Embriões (28 hpf) expostos a 20 µg/L de MZ apresentaram diminuição no movimento espontâneo e aumento da atividade da AChE, podendo estar relacionado a danos no sistema de neurotransmissão colinérgico. Em todas as concentrações testadas de MZ em 24 hpf, os níveis de EROS e as atividades da GST e CAT não foram alteradas significativamente, com exceção da SOD, sugerindo

que os intervalos de concentração do MZ utilizados não foram suficientes para induzir uma resposta pró-oxidante neste estágio. Em 72 hpf, a diminuição na taxa de eclosão dos embriões foi observada na concentração mais alta, indicando prejuízos no desenvolvimento, visto que a eclosão é um indicador qualitativo do desenvolvimento larval. Além disso, as respostas motoras de escape e capacidade natatória e a atividade da AChE diminuíram. Em todas as concentrações testadas os níveis de EROS aumentaram, juntamente com a atividade da SOD, indicando que alterações nas espécies reativas de oxigênio e a expressão de enzimas antioxidantes começam após 72 hpf, como também, o aumento da SOD sugere uma maior eficiência na desintoxicação de ROS induzida pela exposição ao MZ. A atividade da GST foi aumentada nas concentrações de 5 e 10 µg/L, indicando a ativação de mecanismos de desintoxicação de fase II. A atividade da CAT foi diminuída em embriões expostos a 10 e 20 µg/L de MZ, justificando o acúmulo de ROS no desenvolvimento embrionário, uma vez que a CAT exerce papel fundamental na defesa antioxidante primária das células. Em 168 hpf, a exposição ao MZ resultou na diminuição do comportamento exploratório das larvas e a atividade da AChE, complementando nossos resultados de que a AChE desempenha um papel fundamental no comportamento padrão. Também foi observado um aumento nos níveis de EROS, na atividade da CAT e diminuição na atividade da GST, sugerindo o envolvimento do estresse oxidativo na toxicidade envolvida por MZ. Em conclusão, as mudanças comportamentais ocorreram antes das alterações bioquímicas em zebrafish na fase embrio-larval expostas ao MZ e essas mudanças no comportamento podem estar associadas a disfunção na transmissão colinérgica, envolvida em funções neurocomportamentais. A análise comportamental se mostrou uma ferramenta mais sensível para o biomonitoramento na avaliação de potenciais riscos ecotoxicológicos causados por MZ. Mais estudos são necessários para a compreensão das vias biológicas envolvidas nestas alterações, por motivo da grande relevância toxicológica com o crescimento da agricultura no Brasil.

Agradecimentos: CAPES, CNPq, FAPERGS e UNIPAMPA.

Palavras-chave: Zebrafish; Mancozeb; Estresse oxidativo; Biomarcadores; Ecotoxicologia.