

Impactos da exposição ao Diuron sobre espermatozoides de Zebrafish (*Danio rerio*)

THAINÃ MORALES ACOSTA¹; IZANI BONEL ACOSTA²; MARCIANA RUBIRA
DA SILVA MACIEL³ CARINE DAHL CORCINI⁴

¹UNIVERSIDADE FEDERAL DE PELOTAS – acostathaina22@gmail.com

² UNIVERSIDADE FEDERAL DE PELOTAS - izanibonel@hotmail.com

³ UNIVERSIDADE FEDERAL DE PELOTAS - marcianamaciel@yahoo.com.br

⁴ UNIVERSIDADE FEDERAL DE PELOTAS - corcinicd@gmail.com

1. INTRODUÇÃO

O Brasil é o terceiro maior consumidor de agrotóxicos no mundo, ficando atrás apenas dos Estados Unidos e da China, de acordo com dados da FAO em 2022. Além disso, o censo agropecuário de 2017 do IBGE revelou que 32% das propriedades rurais no país utilizavam esses produtos, representando um aumento de 20,5% em comparação com o censo de 2006. O uso descontrolado de fertilizantes e herbicidas nas plantações contribui para a poluição do solo e a liberação desses compostos em corpos d'água por meio de escoamento superficial e lixiviação (PARK et al., 2017).

Além de seu emprego na agricultura, herbicidas e biocidas são amplamente usados como algicidas e anti-incrustantes em tintas para embarcações e estruturas marítimas, mesmo diante de evidências de sua toxicidade para várias espécies aquáticas (DINIZ et al., 2014). Um exemplo é o biocida Diuron, que, por sua alta solubilidade em água (42 mg/L) e longa meia-vida aquática de fotólise, é frequentemente encontrado em rios, córregos, lagos e no mar, afetando diferentes espécies de peixes (FOLADOR et al., 2010; AKCHA et al., 2021).

Peixes são essenciais em estudos de toxicidade ambiental, pois servem como modelos de biomonitoramento, capturando e acumulando contaminantes aquáticos. Eles apresentam uma grande diversidade taxonômica e funcional e ocupam diferentes posições na cadeia alimentar dos ecossistemas aquáticos (DI GIULIO e HINTON, 2008). Contudo, embora estudos sobre a toxicidade do Diuron tenham sido realizados em diversos organismos invertebrados, os dados sobre seus efeitos nos espermatozoides de peixes ainda são escassos.

Dante disso, o objetivo deste estudo é investigar a toxicidade do Diuron em diferentes concentrações sobre as células espermáticas do peixe zebrafish (*Danio rerio*).

2. METODOLOGIA

Neste experimento foram utilizados cinco indivíduos da espécie Zebrafish (*Danio rerio*), adquiridos comercialmente, que passaram por um período de aclimatação de 15 dias. Nessa etapa, foram mantidos em caixas plásticas contendo água potável, descolorada, com aeração constante, temperatura de $23 \pm 2,0^{\circ}\text{C}$, salinidade $\geq 0,5$ (água doce), foto período 12C/12E, e alimentados com ração comercial, duas vezes ao dia. Ao final do experimento, os peixes serão eutanasiados através de choque térmico (gelo), procedimento este aprovado no Comitê de Ética da UFPel sob número 7836.

As gônadas foram retiradas e colocadas individualmente em tubos Eppendorf contendo 500 μ L de Beltsville Thawing Solution (BTS) em pH 7,4 e uma osmolaridade de 360 mOsm e seccionados para auxiliar a liberação dos espermatozoides. Cada amostra de sêmen foi diluída em uma proporção de 1:1 (v/v) com duas concentrações diferentes de Diuron (10 e 20 μ g/L) e um controle com BTS.

Após o período de incubação,(10 minutos) as amostras foram avaliadas. Para determinar os parâmetros cinéticos 1 μ L de amostra de sêmen e 3 μ L de água foram colocados em lâminas sob lamínulas e analisados usando o sistema Computer-Assisted Sperm Analyses (CASA) combinado com um microscópio óptico.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resultados obtidos pela leitura no sistema Computer-Assisted Sperm Analyses (CASA) foram submetidos a análises estatísticas no software Statistix 10TM. Para as comparações, utilizou-se o Teste U de Mann-Whitney, enquanto as médias foram avaliadas por meio de Análise de Variância (ANOVA) e comparadas pelo teste de Tukey, com um intervalo de confiança de 95%.

Tabela 1: Comparação entre as variáveis nos diferentes tratamentos de diuron.

Análises	Tratamentos		
	T1(Controle)	T2(10 μ g/L)	T3(20 μ g/L)
Mottotal	50,092 \pm 1,7820 ^A	11,847 \pm 0,9945 ^B	10,126 \pm 0,8225 ^B
Motpro	38,555 \pm 1,7765 ^A	6,9112 \pm 0,8127 ^B	5,9826 \pm 0,5181 ^B

*A letra que se difere na linha, significa que houve uma diferença significativa entre os tratamentos.

*Mottotal: Motilidade total, indica os espermatozóides que estão se movendo de alguma forma.

*Motpro: Motilidade progressiva, indica os espermatozóides que estão se movendo em linha reta.

Os resultados deste estudo trazem informações importantes sobre os efeitos do Diuron nos espermatozoides de zebrafish (*Danio rerio*). Uma observação interessante foi a diferença entre o grupo controle e os grupos expostos ao Diuron, onde se verificou uma redução na quantidade de células espermáticas, evidenciando que maiores concentrações de Diuron acentuam os danos celulares. Essa descoberta está em concordância com estudos anteriores que apontaram efeitos genotóxicos do Diuron em outros organismos, como o trabalho de AKCHA et al. (2012) com ostras. Esses resultados ressaltam a relevância de compreender o impacto do Diuron na homeostase oxidativa das células germinativas dos peixes.

4. CONCLUSÕES

Conclui-se que, nas condições deste estudo, o Diuron demonstrou ser prejudicial às células espermáticas de zebrafish, sugerindo que essa substância pode dificultar tanto a reprodução quanto a sobrevivência da espécie quando em contato com o herbicida.

5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AKCHA, F.; BARRANGER, A.; BACHÈRE, E. Genotoxic and epigenetic effects of diuron in the Pacific oyster: in vitro evidence of interaction between DNA damage and DNA methylation. *Environmental Science and Pollution Research*, v. 28, p. 8266-8280, 2021.

AKCHA, F.; SPAGNOL, C.; ROUXEL, J. Genotoxicity of diuron and glyphosate in oyster spermatozoa and embryos. *Aquatic Toxicology*, v. 106, p. 104-113, 2012. DOI: 10.1016/j.aquatox.2011.10.018.

DI GIULIO, R. T.; HINTON, D. E. (Eds.). *The Toxicology of Fishes*. 1. ed. CRC Press, 2008. DOI: 10.1201/9780203647295.

DINIZ, L. G. R. et al. First Appraisal of Water Contamination by Antifouling Booster Biocide of 3rd Generation at Itaqui Harbor (São Luiz - Maranhão - Brazil). *Journal of the Brazilian Chemical Society*, v. 25, n. 2, p. 380-388, 2014. DOI: 10.5935/0103-5053.20130289.

FAO. FAO Soils Portal. Food and Agriculture Organization of the United Nations, 2022. Disponível em: <https://www.fao.org/soils-portal/about/all-definitions/en/>. Acesso em: 10 out. 2024.

FOLADOR, Alexandre et al. Qual o impacto do uso de herbicidas para anfíbios? Avaliação da sensibilidade de anfíbios aos efeitos letais de herbicidas. *Jornada de Iniciação Científica e Tecnológica*, v. 1, n. 9, 2019.

IBGE. Censo Agro 2017. IBGE - Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística, 2017. Disponível em: <https://censoagro2017.ibge.gov.br/2013-agencia-de-noticias/releases/25789-censo-agro-2017-populacao-ocupada-nos-estabelecimentos-agropecuarios-cai-8-8.html>. Acesso em: 10 out. 2024.

PARK, J. et al. Comparing the acute sensitivity of growth and photosynthetic end points in three *Lemna* species exposed to four herbicides. *Environmental Pollution*, v. 220, p. 818-827, 2017.