

AVALIAÇÃO DO EFEITO CITOTÓXICO E GENOTÓXICO DO FUNGICIDA MANCOZEBE UTILIZADO POR VITICULTORES DE MARIALVA-PARANÁ.

Lucas Eduardo Massucato (PIBIC-AFIs/CNPq/FA/UEM), Alice Maria de Souza Kaneshima, Renata Sano Lini (Co-orientador), Simone Aparecida Galerani Mossini (Orientador), e-mail: simonegmossini@yahoo.com.br.

Universidade Estadual de Maringá / Centro de Ciências da Saúde / Maringá, Paraná.

Área: 40300005 FARMÁCIA Subárea: 40303004 ANÁLISE TOXICOLÓGICA

Palavras-chave: citotoxicidade, genotoxicidade, mancozebe.

Resumo:

O mancozebe é um fungicida sistêmico largamente utilizado no plantio de uva. O volume de uso torna importante a avaliação de toxicidade, como por exemplo, estudos de citotoxicidade e genotoxicidade, para conhecer o risco à saúde do produtor que aplica esse agrotóxico. O fungicida em questão foi avaliado quanto ao efeito citotóxico e genotóxico em raízes *Allium cepa*. Para efeitos comparativos foi utilizado um controle negativo, onde as raízes ficaram em água destilada, enquanto as amostras ficaram em determinadas concentrações do fungicida. Para avaliar a citotoxicidade, foi averiguado se houve prejuízo no crescimento das raízes em comparação com o controle negativo, a diferença entre o controle e as amostras foi notória, e em relação a genotoxicidade também foi observado alterações crescentes com o aumento da concentração do fungicida, as alterações mais comumente observadas foram: vacúolos nucleares, metáfase com aderência, C-metáfase, anáfase com ponte, brotos e ponte em telófase. A avaliação foi feita através da observação de aberrações cromossômicas e também a taxa de morte celular.

Introdução

O Brasil está em uma crescente no consumo de agrotóxicos, em 2010 foram vendidas 383.570,14 toneladas de ingrediente ativo (Ton IA), já em 2020, foram registrados 686.349,87 Ton IA, representando um crescimento de 78,93% em 10 anos. Os fungicidas representam 15,80% de todo agrotóxico vendido e, dentro dessa classe o mancozebe, ocupa o terceiro lugar de ativo mais vendido do ano de 2020 (IBAMA, 2021).

O praguicida da marca Curzate[®] é da classe dos fungicidas de ação sistêmica, pertencendo ao grupo químico alquilenobis, a formulação dessa marca contém o ativo mancozebe. O produto consiste em um pó amarelo, que para sua aplicação deve ser acrescentado água. Sua classificação toxicológica é III-mediamente tóxico, e sua classificação quanto ao potencial de periculosidade ambiental é: III – Perigoso ao meio ambiente. O Curzate[®] pode ser utilizado nas culturas de: Batata, Tomate, Uva e Cebola, com a finalidade de combater *Plasmopara viticola* (MÍLDIO).

A *Allium cepa* é amplamente utilizada como um biomarcador para citotoxicidade e genotoxicidade, podendo ser utilizada em pesquisas de avaliação de toxicidade. A germinação e o crescimento radicular em contato com o composto a ser estudado pode mostrar o potencial tóxico do produto químico, sendo uma metodologia já bem consolidada e de baixo custo (LEME; MARIN-MORALES, 2009). Com isso, o objetivo deste trabalho foi realizar o teste com *Allium cepa* como biomarcador de citotoxicidade e genotoxicidade do fungicida Curzate® utilizado na viticultura da região de Marialva no Paraná.

Materiais e Métodos

Para este estudo utilizou-se o ativo mancozebe de nome comercial Curzate®, utilizado na viticultura da região de Marialva-Paraná (PR). As concentrações testadas foram definidas com base em pesquisa bibliográfica sobre o agrotóxico a ser testado, foram selecionadas 2 concentrações de uso na viticultura (1,8g/L e 2,5g/L). Como controle positivo, utilizou-se a concentração de 3,5 g/L, descrita no artigo Fatma et al. (2022).

Foram utilizados bulbos de *Allium cepa* adquiridos comercialmente de um mesmo fornecedor com tamanho de aproximadamente 3 centímetros. Inicialmente os bulbos foram colocados em água destilada durante 48 horas a temperatura ambiente, para estimular o desenvolvimento do meristema radicular. Após este período, os bulbos foram retirados da água destilada e imersos nas soluções-teste do mancozebe, água destilada foi utilizada como controle negativo. Os bulbos permaneceram imersos nestas soluções por um período de 72 horas, conforme descrito por Rank et al. (1997).

Foi medida a quantidade e o comprimento das raízes, para determinar a citotoxicidade. Cada tratamento foi comparado com o controle negativo e a ocorrência de citotoxicidade será considerada quando ocorrer a diferença significativa no comprimento das raízes submetidas às soluções-teste em relação ao controle negativo. As raízes foram coletadas e fixadas em etanol:ácido acético (3:1) durante 6 horas e armazenadas em etanol 70 % em geladeira (4 °C) para posterior preparação e observação de lâminas.

Para a preparação das lâminas, as raízes foram submetidas à hidrólise ácida com ácido clorídrico (HCl) 1N durante 8 minutos a 60°C e coradas com Reativo de Shiffé por 45 minutos no escuro, para então ser preparada em uma lâmina de citologia por meio de esmagamento manual. Este experimento foi realizado em quadruplicata e foram analisadas 2.000 células para cada replicata. Além disso, foi analisado o número de anormalidades em 100 anáfases-telófases e foram calculados índice mitótico e índice de aberrações cromossômicas para cada concentração testada.

Resultados e Discussão

Os resultados da tabela 1 são apresentados como média \pm desvio padrão do crescimento das raízes em centímetros, sendo este a avaliação de citotoxicidade, e também foi avaliado a genotoxicidade, mostrando o índice de aberrações cromossômicas e morte celular. Observando-se o número de raízes é possível notar

que não houve um prejuízo em questão de quantidade de raízes das concentrações de uso na lavoura, já na maior concentração houve uma queda de mais de 50% no número médio de raízes.

Tabela 1: Resultado da avaliação citotóxica e genotóxica do ativo mancozebe em raízes de *Allium cepa*.

	Citotoxicidade				Genotoxicidade		
	Número de raízes	Tamanho de raízes (cm)	Índice Mitótico	Valor P	Índice de morte celular	Total de aberrações cromossômicas	Aberrações cromossômicas em divisão
C-	36 ($\pm 19,42$)	2,4 ($\pm 1,42$)	16,69%	<0,05	0%	2,10%	0,39%
1,8g/L	37 ($\pm 8,96$)	0,7 ($\pm 0,57$)	2,90%	<0,05	38,65%	31,31%	9,05%
2,5g/L	32 ($\pm 2,98$)	0,8 ($\pm 0,90$)	3,60%	<0,05	32,51%	38,93%	15,91%
3,5g/L	17,5 ($\pm 18,74$)	0,6 ($\pm 0,45$)	3,00%	<0,05	51,33%	31,48%	21,05%

C- = controle negativo. Para calcular o valor de P, foi utilizado o teste de Kruskal-Wallis.

Com relação ao tamanho médio das raízes pode-se notar que ocorreu uma redução significativa no tamanho. As concentrações de uso na lavoura ficaram abaixo de 1 centímetro. É nítido o efeito do fungicida atuando nas células, impedindo que a raiz cresça normalmente. Além disso, para destacar ainda mais a citotoxicidade, o índice mitótico apresentou redução de 16,69% para 2,90% na menor concentração, indicando um prejuízo na divisão celular.

Já na genotoxicidade ocorreu uma crescente nos números de aberrações cromossômicas, além disso no controle negativo não havia sido observada cariólise e cariorexe, indicativos de morte celular. As aberrações cromossômicas vistas no controle negativo foram: metáfase com aderência, ponte em anáfase, núcleo alongado e cariomegalia. Aberrações essas que estão discretas nas células, podendo ser pelo fato de a cebola ter tido algum contato com agrotóxico na lavoura do fornecedor. Nas concentrações testadas as aberrações mais vistas foram: o aparecimento de vacúolos nucleares, metáfase com aderência, C-metáfase, poliploidia, anáfase com ponte, núcleo picnótico, célula binucleada, brotos, ponte em telófase, conforme será apresentado na Figura 1. Além dos fatos expostos foi observado também diferenças nos citoplasmas das células, sendo que algumas células, apresentavam o citoplasma liso e contínuo, e outros tinham um aspecto mais granuloso “grosseiro”, alteração essa que poderá ser alvo de estudos futuros. Ao observar os resultados de genotoxicidade listados na tabela 1, é possível perceber que as aberrações cromossômicas aumentam quando as concentrações do ativo também aumentam.

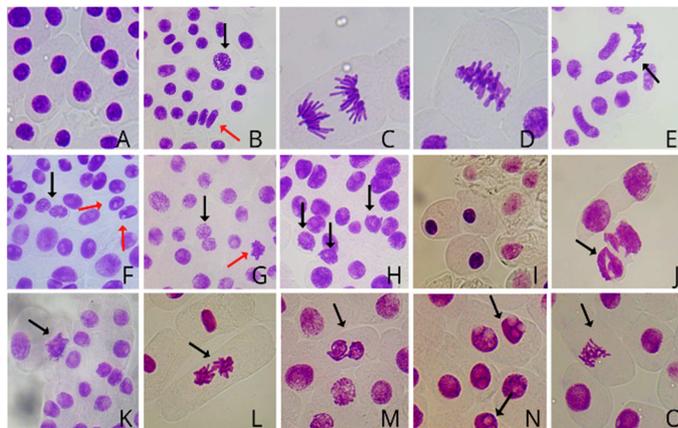


Figura 1: Células do controle negativo e células sobre ação do fungicida Curzate®.

A: células em intérfase normais; B: seta preta - célula em prófase normal, seta vermelha - células com núcleo alongado; C: célula em anáfase normal; D: célula em metáfase normal; E: seta preta - C-Metáfase; F: seta preta - célula binucleada, seta vermelha - vacúolo nuclear e núcleos com tamanhos diferentes; G: seta preta - célula binucleada e seta vermelha - metáfase com aderência; H: seta preta - brotos; I: células normais na presença de células em processo de morte; J: seta preta - cariorexe; K: seta preta - metáfase com aderência; L: seta preta - ponte em anáfase; M: seta preta - ponte em telófase; N: seta preta - vacúolos nucleares; O: seta preta - metáfase com aderência e cromossomo desorientado.

Conclusões

Com base nos resultados e na discussão expostos acima, pode-se concluir que o ativo mancozebe, da marca Curzate®, apresentou um efeito citotóxico e genotóxico, na parte meristemal das raízes de cebola da espécie *Allium cepa*.

Agradecimentos

Agradeço a Fundação Araucária e CNPq, pelo financiamento da bolsa, a professora Alice pelo apoio e minha namorada.

Referências

IBAMA. Consolidação de dados fornecidos pelas empresas registrantes de produtos técnicos, agrotóxicos e afins, conforme art. 41 do Decreto nº 4.074/2002.

FATMA, F.; VERMA, S.; KAMAL, A.; SRIVASTAVA, A. Monitoring of morphotoxic, cytotoxic and genotoxic potential of mancozeb using Allium assay. **Chemosphere**. Volume 195, Pages 864-870, 2018.

LEME, D. M.; MARIN-MORALES, M. A. Allium cepa test in environmental monitoring: A review on its application. **Mutation Research**, v. 682, p. 71-81, 2009.

RANK, J. Determination of sample concentrations for the allium anaphase chromosome aberration assay. **Mutation Research**, v. 379, n. S1, p. S96-S96, 1997.