

EFEITO CITÓXICO E GENOTÓXICO DO INSETICIDA IMIDACLOPRIDO UTILIZADO POR TRABALHADORES NA CULTURA DE UVA

Eduardo Calixto (PIBIC-AFIs/CNPq/FA/UEM), Alice Maria de Souza Kaneshima, Renata Sano Lini (Coorientador), Simone Aparecida Galerani Mossini (Orientador), e-mail: sagmossini@uem.br

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

Área: Farmácia (40300005) Subárea: análise toxicológica (40303004)

Palavras-chave: Inseticida, aberração cromossômica, citotoxicidade.

Resumo:

Avaliação dos efeitos citotóxicos e genotóxicos do imidacloprido usando teste de crescimento radicular e teste de aberrações cromossômicas no meristema radicular de *Allium cepa*. O método foi realizado em quadruplicata e com quatro concentrações de uso do inseticida. A citotoxicidade foi avaliada pela quantidade e tamanho das raízes e a genotoxicidade por meio de observação das células em microscópio. Com o aumento da dosagem do inseticida é notado a diminuição do crescimento radicular e o maior aumento da aparição de aberrações cromossômicas. Dentre as aparições de aberrações cromossômicas, é notório a presença de vacúolos, aderência cromossômica e micronúcleos. Os resultados demonstram a necessidade de maior cuidado no manuseio do agrotóxico devido a capacidade de indução de anomalias em organismos não-alvo, sendo obrigatório uso dos equipamentos de proteção individual recomendados.

Introdução

Entre diversos inseticidas registrados no Ministério da Agricultura, Pecuária e Desenvolvimento, o imidacloprido é recomendado para o controle de pragas que afetam diretamente culturas de alface, algodão, batata, cebola, couve, feijão, tomate, uva, entre outros. É classificado como inseticida de ação sistêmica, do grupo químico neonicotinóide, que tem como função se ligar de forma irreversível aos receptores nicotínicos de acetilcolina. Essa ligação interfere no sistema nervoso do inseto, impedindo a propagação de um estímulo do neurônio pré-sináptico, fazendo com que ocorra a deterioração do sistema nervoso (ADAPAR, 2020). Apesar de ser eficaz no controle de pragas nas culturas, esse ativo é classificado como perigoso ao meio ambiente e também tóxico para organismo não-alvo, como abelhas, minhocas e humanos. A alta toxicidade para polinizadores, ocasionou a decisão da União Europeia a proibir o uso e comercialização do inseticida imidacloprido em todo seu território (COMISSÃO EUROPEIA, 2018). O Brasil não estabeleceu nenhuma restrição, ocasionando ampla utilização devido a sua eficácia, estando assim presente entre os 10 inseticidas mais comercializados no Brasil (IBAMA, 2020).

A *Allium cepa* não é cultura alvo desse inseticida, porém é um biomarcador que permite avaliar a toxicidade provocada pelo inseticida. Um dos testes mais utilizados e recomendados com a *A. cepa* é o teste de crescimento radicular na presença do produto químico. Alterações citotóxicas afetam diretamente a síntese de DNA e conseqüentemente o ciclo celular normal, gerando alterações que podem ser identificadas pelo teste de aberrações cromossômicas em *A. cepa* (LEME E MARIN-MORALES, 2009). Devido a ampla utilização do inseticida imidacloprido, essa pesquisa serviu para a determinação da toxicidade do produto através do crescimento radicular e a identificação de aberrações cromossômicas no meristema da raiz da *A. cepa*.

Materiais e Métodos

Para este estudo utilizou-se o inseticida Provado 200 SC[®], utilizado pelos produtores de uva da região de Marialva-PR. As concentrações testadas foram definidas com base em pesquisa bibliográfica sobre o agrotóxico a ser testado. Foram selecionadas 4 concentrações de uso na viticultura (0,2ml/L; 0,25ml/L; 0,4ml/L; 0,5ml/L), sendo todas retiradas da bula do produto (ADAPAR, 2020). Como controle positivo, utilizou-se a concentração de 8,75ml/L, descrita no artigo de Fioresi et al. (2020) como potencialmente genotóxica para o imidacloprido.

Os bulbos foram mantidos em água destilada por 48 horas para estimular o desenvolvimento do meristema radicular. Após este período, os bulbos foram imersos nas soluções-teste do imidacloprido, água destilada foi utilizada como controle negativo. Os bulbos permaneceram imersos nestas soluções por um período de 72 horas. 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. Cada tratamento foi comparado com o controle negativo e a ocorrência de citotoxicidade foi considerada quando houve diferença significativa no comprimento das raízes submetidas ao crescimento nas soluções-teste em relação ao controle negativo.

Para a preparação das lâminas, as raízes foram submetidas à hidrólise ácida com 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 análise do crescimento radicular indicaram alteração em seu desenvolvimento, sendo mais significativo quando submetidos a maiores dosagens como 0,4ml/L e 0,5ml/L, possuindo uma diminuição de 73% e 78%, respectivamente, quando comparados com o controle negativo. Além da interferência do crescimento radicular, o inseticida provocou uma diminuição significativa no índice mitótico com o

aumento da dosagem, provocando uma queda de 14,77% e 18,3% para 0,5 ml/L e controle positivo, respectivamente (tabela 1).

Tabela 1 – Número e tamanho das raízes da cebola após 76 horas imersa em diluições de imidacloprido e água destilada como controle negativo.

Grupos	Número de raízes	Tamanho (cm)	Média do índice mitótico	Valor p
Controle –	13,5 (± 5,5)	4,23 (± 1,47)	53,06 %	< 0,05
0,2ml/L	7,75 (±4)	1,33 (± 0,51)	50,46%	< 0,05
0,25ml/L	6,25 (± 1,5)	1,86 (± 0,58)	45,02%	< 0,05
0,40ml/L	5,25(± 3)	1,30 (± 0,20)	39,61%	< 0,05
0,50ml/L	7,0 (± 2,5)	1,07 (±1,17)	34,85%	< 0,05
8,75 ml/L (Controle +)	6,0 (± 2,0)	0,91 (± 0,58)	25,29%	< 0,05

Número de raízes e tamanho são apresentados como média (± desvio padrão) e o valor de p foi calculado pelo teste de kruskal-wallis.

Além da queda do índice mitótico, demonstrando ser citotóxico, houve aumento do surgimento de aberrações cromossômicas conforme as dosagens foram aumentando. Essa ação genotóxica foi demonstrada, principalmente, pela aparição de vacúolos nucleares preferencialmente em prófase, aderência cromossômica e micronúcleos.

O imidacloprido possui um farmacóforo eletronegativo, assim podendo favorecer a ligação à molécula de DNA e podendo gerar danos através de seu ligamento. Esse dano ao DNA pode ocorrer através de estresse oxidativo, gerando espécies reativas de oxigênio em grande quantidade, sendo altamente tóxica ao organismo devido a capacidade de transformação de outras moléculas quando colididas. A condensação anormal de fibras leva a aderência das fibras cromossômicas, podendo ocasionar morte celular ou, se persistir até a anáfase, pode ocasionar rompimentos e ocasionar futuras aberrações cromossômicas, como micronúcleos por exemplo (FIORESI et al.,2020).

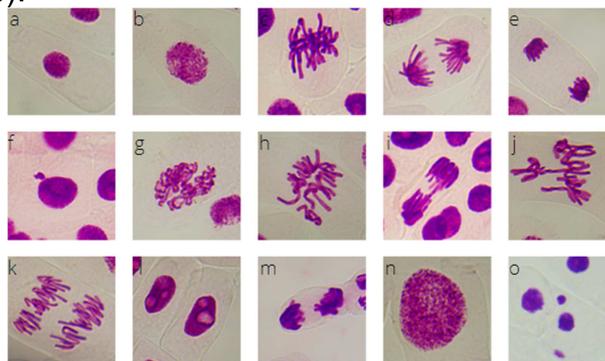


Figura 1 – Ciclo normal e aberrações cromossômicas comumente observadas na *A. cepa*. Ciclo celular normal da *A. cepa* de a-e e células após o tratamento com o inseticida de f-o. a- interfase, b-prófase, c-metáfase, d-anáfase, e-telófase, f- micronúcleo, g- aderência, h- c-metáfase, i- ponte em anáfase, j- ponte em anáfase com distribuição desigual, k- anáfase multipolar, l- vacúolo nuclear, m- aderência em telófase, n- núcleo aumentado, o- núcleo diminuído.

Os resultados demonstram que, mesmo em dose de uso, o inseticida tem capacidade genotóxica e citotóxica. Por isso, é indicado uso de equipamentos de proteção individual para o manuseio deste inseticida pela população de viticultores.

Conclusões

O estudo demonstrou que o imidacloprido tem capacidade genotóxica e citotóxica, o qual tem a capacidade de induzir a aderência cromossômica e provocar vacúolos no mesmo, provocando menor crescimento radicular.

Agradecimentos

Gostaria de agradecer à doutoranda Renata Sano Lini, à Profa. Simone, pela disponibilidade e toda paciência em me orientar e à Profa. Alice que proporcionou auxílio na leitura das lâminas durante o desenvolvimento do projeto, ao CNPq que forneceu incentivo à pesquisa e todo o departamento de toxicologia e patologia da Universidade Estadual de Maringá, pela infraestrutura disponibilizada para a realização desse PIBIC.

Referências

ADAPAR – Agência de Defesa Agropecuária do Paraná – Bula Provado 200 SC (2020).

https://www.adapar.pr.gov.br/sites/adapar/arquivos_restritos/files/documento/2020-10/provado200sc0920.pdf acessado em maio de 2022.

IBAMA – Instituto Brasileiro do Meio Ambiente e dos Recursos Naturais Renováveis - Boletins anuais de produção, importação, exportação e vendas de agrotóxicos no Brasil (2020).

http://ibama.gov.br/index.php?option=com_content&view=article&id=594&Itemid=54 acessado em maio de 2022.

Comissão Europeia (2018). Regulamento de Execução (UE) 2018/783 da Comissão, de 29 de maio de 2018, que altera o Regulamento de Execução (UE) n.º 540/2011 no que diz respeito às condições de aprovação da substância ativa imidaclopride

FIORESI, V.S., CÁSSIA RIBEIRO VIEIRA, B., CAMPOS, J.M.S. et al. Cytogenotoxic activity of the pesticides imidacloprid and iprodione on *Allium cepa* root meristem. *Environ Sci Pollut Res* 27, 28066–28076 (2020). <https://doi.org/10.1007/s11356-020-09201-5>

LEME DM, MARIN-MORALES MA (2009) *Allium cepa* test in environmental monitoring: a review on its application. *Mutat Res* 682:71–81. <https://doi.org/10.1016/j.mrrev.2009.06.002>