

TOXICIDADE DE PESTICIDA A BASE DE CLORPIRIFÓS NÃO DEPENDE DE INGREDIENTE ATIVO EM CAENORHABDITIS ELEGANS

Eugênia Carla Kuhn¹

Mauricio Tavares Jacques²

Daiana Silva De Avila³

Resumo:

A utilização de pesticidas na agricultura aumenta a cada ano, e proporcionalmente elevam-se os níveis de contaminações aos solos e rios próximos às plantações, bem como, o número de intoxicações agudas e crônicas de seres humanos e animais, e todos os problemas decorrentes dessas exposições. Dentre os pesticidas mais usados destaca-se o clorpirifós. Pesticidas como o clorpirifós são utilizados na sua forma comercial, a qual apresenta em grande quantidade os chamados ingredientes inertes. Estes componentes não são especificados nos rótulos e estudos têm demonstrado que estes contribuem ainda mais para a toxicidade final da formulação. Diante desse cenário, estudos toxicológicos que investiguem a composição e a interação dos inertes com o princípio ativo são necessários. Com este fim, o seguinte trabalho propôs estudos comparativos de toxicologia entre clorpirifós e sua formulação comercial utilizando o modelo alternativo *Caenorhabditis elegans*. Para tal, foram realizados ensaios de letalidade (concentração letal 50%), reprodução (tamanho da ninhada), desenvolvimento (comprimento do verme). A neurotoxicidade foi avaliada pela morfologia anormal de neurônios colinérgicos, com o auxílio da cepa LX929 ((vsIs48)[unc-17::GFP]). Ainda, foi investigada a presença de metais pesados na formulação comercial. Os resultados observados demonstraram um padrão, no qual a formulação comercial foi significativamente mais tóxica ao *C. elegans* do que apenas o princípio ativo. Foram encontrados para a formulação comercial menor CL50, reduções no tamanho da ninhada e comprimento do verme, bem como, aumento de neurônios colinérgicos com morfologia alterada. Por fim, é preciso dar ênfase, que foram encontrados metais pesados na formulação comercial, porém sua presença não é discriminada no rótulo do produto. Entretanto, são necessários mais estudos para estabelecer uma relação entre os metais presentes na formulação comercial e a toxicidade observada, pois os metais foram constituintes minoritários dos inertes e não necessariamente exerceram papel nos efeitos observados. Contudo, ao comparar os efeitos da formulação comercial com seu ingrediente ativo, o primeiro apresentou grande toxicidade, demonstrando que a presença de ingredientes inertes exerce efeito sinérgico sob a toxicidade do ingrediente ativo

Palavras-chave: Toxicidade; Pesticidas; C elegans;

Modalidade de Participação: Iniciação Científica

TOXICIDADE DE PESTICIDA A BASE DE CLORPIRIFÓS NÃO DEPENDE DE INGREDIENTE ATIVO EM CAENORHABDITIS ELEGANS

¹ Aluno de graduação. eugeniakuhn95@gmail.com. Autor principal

² Aluno de pós-graduação. mtj_x@yahoo.com. Co-autor

³ Docente. daianaavila@unipampa.edu.br. Orientador



TOXICIDADE DE PESTICIDA A BASE DE CLORPIRIFÓS NÃO DEPENDE DE SEU INGREDIENTE ATIVO EM *Caenorhabditis elegans*

1. INTRODUÇÃO

Defensivos agrícolas ou pesticidas são compostos químicos usados com a intenção de prevenir, destruir ou controlar qualquer praga. Seu uso destaca-se na agricultura, onde se diferem, principalmente, em herbicidas, fungicidas e inseticidas. A utilização de pesticidas na agricultura aumenta a cada ano, e proporcionalmente elevam-se os níveis de contaminações aos solos e rios próximos às plantações, bem como, o número de intoxicações agudas e crônicas de seres humanos e animais, e todos os problemas decorrentes dessas exposições. Dentre os pesticidas mais usados destaca-se o clorpirifós (Duke e Powles, 2008; Boyd *et al.*, 2009; Samsel e Seneff, 2015), que é um dos inseticidas mais vendidos no Brasil, com cerca de 13.084,62 toneladas de ingrediente ativo vendidos no país em 2013 (Ibama, 2013). Sendo um organofosforado, seu mecanismo de ação consiste na inibição irreversível da acetilcolinesterase (Singh *et al.*, 2015). De maneira aguda, tal inibição resulta na acumulação de acetilcolina nas terminações nervosas, causando elevada estimulação em receptores muscarínicos e nicotínicos no sistema nervoso central e periférico (Thompson e Richardson, 2004; Rush *et al.*, 2010). Ainda, deve-se considerar que todos os organofosforados são neurotóxicos podendo ser relacionados com as doenças de Alzheimer e Parkinson (Muangphra *et al.*, 2015). Contudo, pesticidas como o clorpirifós são utilizados na sua forma comercial, a qual apresenta em grande quantidade os chamados ingredientes inertes. Estes componentes não são especificados nos rótulos e estudos têm demonstrado que estes contribuem ainda mais para a toxicidade final da formulação, podendo ser, em alguns casos, os principais fatores para determinada toxicidade (Negga *et al.*, 2011; Mesnage *et al.*, 2014). Diante desse cenário, estudos toxicológicos que investiguem a composição e a interação dos inertes com o princípio ativo são necessários. Com este fim, o seguinte trabalho propôs estudos comparativos de toxicologia entre clorpirifós e sua formulação comercial utilizando o modelo alternativo *Caenorhabditis elegans*. Estudos com o objetivo de determinar diferentes perfis de letalidade, reprodução, desenvolvimento e neurotoxicidade entre o princípio ativo e sua formulação comercial. Em adição, a composição de metais pesados na formulação comercial também foi analisada.

2. METODOLOGIA

Para investigar efeitos na letalidade (concentração letal 50%), reprodução (tamanho da ninhada) e desenvolvimento (comprimento corporal), vermes no estágio larval L1 foram expostos primeiramente em meio líquido por 30 minutos a diferentes concentrações do ingrediente ativo (clorpirifós - Sigma Aldrich) e sua formulação comercial. Em seguida, os vermes foram transferidos para um meio sólido, onde a exposição continuou por mais 48 horas. Ao fim desse período todas as análises foram feitas. Com o objetivo de investigar possível neurotoxicidade, a cepa LX929 ((vsls48)[unc-17::GFP]) foi utilizada, a qual possui todos os neurônios colinérgicos marcados com proteína verde fluorescente (GFP), permitindo análise microscópica a procura de neurônios mal formados (Harrison Brody *et al.*, 2013). Ainda, a composição de metais pesados na formulação comercial foi analisada através de

ICP-MS (Universitat Potsdam, Alemanha). Todos os experimentos foram realizados em duplicatas, repetidos no mínimo 3 vezes e os dados obtidos foram analisado com ANOVA de uma via seguido de post hoc de Tukey.

3. RESULTADOS e DISCUSSÃO

Para as exposições ao clorpirifós e sua formulação comercial foram encontrados os valores de CL50 0,06% e 0,004%, respectivamente. Nos ensaios de reprodução, os vermes expostos somente ao clorpirifós não mostraram nenhuma alteração significativa na viabilidade dos ovos ou tamanho da ninhada. Porém, nos vermes tratados com a formulação comercial foram observadas reduções significativas no tamanho da ninhada. Quando analisados os comprimentos dos vermes, não houve alterações significativas para os vermes expostos ao princípio ativo clorpirifós. Entretanto, ocorreram diminuições visíveis e significativas no tamanho dos vermes tratados com a formulação comercial. Quanto à neurotoxicidade, é possível observar na figura 1 o aumento de anormalidades na morfologia de neurônios colinérgicos dos vermes expostos apenas a formulação comercial de clorpirifós. Por fim, foram encontrados Mn, Fe e Zn na formulação comercial de clorpirifós. A formulação comercial de clorpirifós apresentou menor CL50, mostrando-se mais letal. De mesmo modo, apresentou maior toxicidade à reprodução, ao reduzir a viabilidade dos ovos e ao desenvolvimento, diminuindo o comprimento dos vermes. O ensaio com a cepa LX929 mostrou alteração na morfologia normal dos neurônios colinérgicos, com o aparecimento de ramificações e formatos em "Y" nos neurônios e comissuras. Os resultados observados demonstraram um padrão, no qual a formulação comercial foi significativamente mais tóxica ao *C. elegans* do que apenas o princípio ativo. Por fim, é preciso dar ênfase, que a presença de metais encontrados na formulação comercial não é especificada no rótulo do produto.

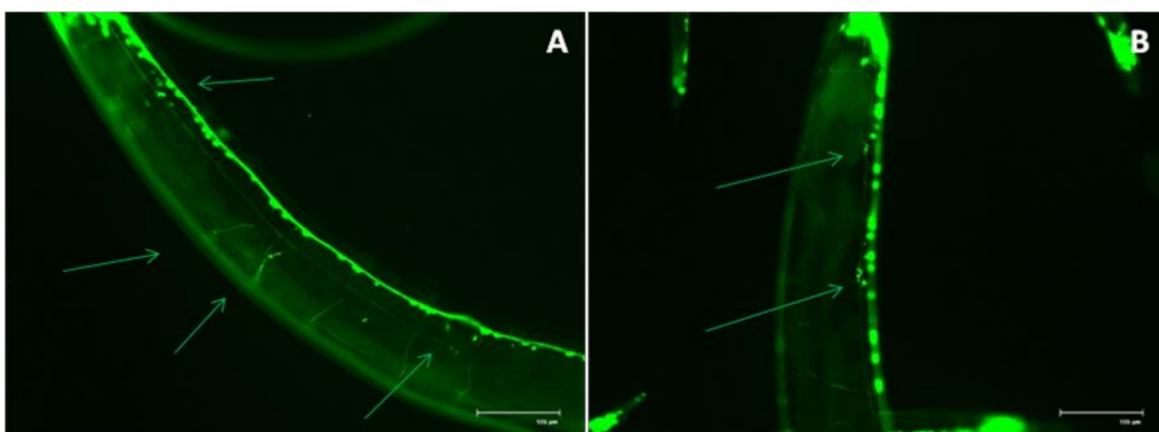


Figura 1. Morfologia anormal de neurônios em vermes expostos ao clorpirifós e sua formulação comercial. Clorpirifós comercial (A) aumentou significativamente o aparecimento de neurônios com morfologia anormal (setas verdes). * $p < 0.05$

4. CONSIDERAÇÕES FINAIS

Este trabalho demonstrou, por meio da utilização de um modelo alternativo e complementar, as diferenças toxicológicas entre princípio ativo e sua respectiva formulação comercial. Contudo, são necessários mais estudos para estabelecer uma relação entre os metais presentes na formulação comercial e a toxicidade observada, pois os metais foram constituintes minoritários dos inertes e não necessariamente exerceram papel nos efeitos observados. Contudo, ao comparar os efeitos da formulação comercial com seu ingrediente ativo, o primeiro apresentou grande toxicidade, demonstrando que a presença de ingredientes inertes exerce efeito sinérgico sob a toxicidade do ingrediente ativo.

5. REFERÊNCIAS

BOYD, W. A. et al. Application of a mathematical model to describe the effects of chlorpyrifos on *Caenorhabditis elegans* development. **PLoS One**, v. 4, n. 9, p. e7024, 2009. ISSN 1932-6203 (Electronic)

DUKE, S. O.; POWLES, S. B. Glyphosate: a once-in-a-century herbicide. **Pest Manag Sci**, v. 64, n. 4, p. 319-25, Apr 2008. ISSN 1526-498X (Print)

HARRISON BRODY, A. et al. Mancozeb-induced behavioral deficits precede structural neural degeneration. **NeuroToxicology**, v. 34, n. Supplement C, p. 74-81, 2013/01/01/ 2013. ISSN 0161-813X.

IBAMA. Os 10 ingredientes ativos mais vendidos. 2013. Disponível em: < http://ibama.gov.br/phocadownload/Qualidade_Ambiental/os_dez_ias_vendidos_2013.xls >. Acesso em: maio de 2015.

MESNAGE, R. et al. Major pesticides are more toxic to human cells than their declared active principles. **Biomed Res Int**, v. 2014, p. 179691, 2014. ISSN 2314-6141 (Electronic). Disponível em: <

MUANGPHRA, P. et al. Chronic toxicity of commercial chlorpyrifos to earthworm *Pheretima* *peguana*. **Environ Toxicol**, Apr 30 2015. ISSN 1522-7278 (Electronic)

NEGGA, R. et al. Exposure to Mn/Zn ethylene-bis-dithiocarbamate and glyphosate pesticides leads to neurodegeneration in *Caenorhabditis elegans*. **Neurotoxicology**, v. 32, n. 3, p. 331-41, Jun 2011. ISSN 1872-9711 (Electronic)

RUSH, T. et al. Mechanisms of chlorpyrifos and diazinon induced neurotoxicity in cortical culture. **Neuroscience**, v. 166, n. 3, p. 899-906, Mar 31 2010. ISSN 1873-7544 (Electronic)

SAMSEL, A.; SENEFF, S. Glyphosate, pathways to modern diseases III: Manganese, neurological diseases, and associated pathologies. **Surg Neurol Int**, v. 6, p. 45, 2015. ISSN 2229-5097 (Print)

SINGH, S. et al. The role of multifunctional drug therapy as an antidote to combat experimental subacute neurotoxicity induced by organophosphate pesticides. **Environ Toxicol**, Apr 10 2015. ISSN 1522-7278 (Electronic)

THOMPSON, C. M.; RICHARDSON, R. J. Anticholinesterase Insecticides. In: (Ed.). **Pesticide Toxicology and International Regulation**: John Wiley & Sons, Ltd, 2004. p.89-127. ISBN 9780470091678.