

ATIVIDADE COLINESTERASÀSICA NO POLIQUETA *LAONEREIS ACUTA* (NEREIDIDAE): EFEITO DA EXPOSIÇÃO AO ROUNDUP

Autores: Godoi, Filipe Guilherme Andrade de; Tarouco, Fábio de Melo; Geihs, Marcio Alberto; Rosa, Carlos Eduardo

Orientador: Rosa, Carlos Eduardo da
filipe_godoi92@hotmail.com

Evento: Congresso de Iniciação Científica

Área de conhecimento: Ciências Biológicas - Fisiologia Animal Comparada

Palavras-chave: ecotoxicologia, herbicidas, inibição enzimática.

INTRODUÇÃO

O ROUNDUP, uma mistura de surfactantes e glifosato (princípio ativo), é um herbicida utilizado no controle de plantas indesejáveis e tem sido um dos principais métodos utilizados para o aumento da produtividade agrícola. No entanto, agentes carreadores como a água dispersam estes produtos para ambientes naturais. Estudos realizados indicam que este produto causa efeitos nocivos nos animais alterando a funcionalidade de enzimas como a acetilcolinesterase (AChE). No presente estudo foi avaliado o efeito deste herbicida no poliqueto *Laeonereis acuta*, um anelídeo bentônico estuarino, comumente utilizado em testes toxicológicos, dada a sua importância como bioindicador ambiental. A atividade enzimática colinesterásica foi determinada e pela primeira vez empregando-se a análise da capacidade de clivagem de dois substratos, a acetilcolina e a propionilcolina, este último importante em espécies de invertebrados.

REFERENCIAL TEÓRICO

Os trabalhos realizados com o ROUNDUP demonstram que efeitos deste contaminante ao nível enzimático. Estudos feitos com o peixe *Rhamdia quelen* reportaram a redução da atividade da AChE, o aumento da peroxidação lipídica e alterações em outros parâmetros bioquímicos (Gluszczak *et al.*, 2007). Ensaios *in vitro* da atividade da acetilcolinesterase no molusco *Perna perna* e nos peixes *Danio rerio* e *Jenynsia multidentata* frente ao glifosato resultaram na inibição da enzima, com variado grau de inibição, de acordo com a sensibilidade do organismo e tecido específico. Neste sentido, a exposição *in vitro* de eritrócitos humanos frente ao glifosato apresentou inibição da atividade da acetilcolinesterase em 20% com concentrações do xenobiótico entre 0,25 mM e 5 mM (Kwiatkowska *et al.*, 2014).

MATERIAIS E MÉTODOS

Os poliquetas foram coletados no Saco do Justino. Os animais foram aclimatados em laboratório por 7 dias (20 °C; salinidade 10, pH 8,0, 12C:12E). Posteriormente, foram divididos em três grupos (Controle, e duas concentrações de ROUNDUP- C₁=3,25 mg/L e C₂= 5,35 mg/L) nos tempos de 24h e 96h. Após a exposição ao contaminante foram preparadas pools de quatro partes anteriores de cada organismo por amostra. Estas foram homogeneizadas com uma solução

tampão fosfato de sódio 20 mM + 20% de glicerol, centrifugadas (9000g, 4°C por 30 m). O sobrenadante foi retirado (fração solúvel -FS) e o pellet foi resuspenso com a solução utilizada anteriormente acrescido de 0,5% de Triton X-100. Este pellet foi homogeneizado e centrifugado e o sobrenadante retirado para as análises (fração de membrana - FM). Para a análise da atividade foram empregados os substratos iodeto de acetilcolina ou o iodeto de propionilticolina para a determinação da atividade acetilcolinesterásica (AChE) e propionilcolinesterásica (PChE), respectivamente, seguindo o protocolo de Ellman e colaboradores (1961). O DTNB reage com o produto da clivagem, a tiocolina, cujo produto apresenta a absorvância no comprimento de onda de 412 nm. A atividade enzimática foi expressa como mmoles/mg prot./min. Os resultados foram analisados por ANOVA de uma via e teste *a posteriori* de Newman-Keuls ($p < 0,05$).

RESULTADOS e DISCUSSÃO

Foram observadas diferenças significativas ($p < 0,05$) na atividade AChE e PChE na F.M dos animais expostos ao ROUNDUP em ambas as concentrações por 96h. A atividade AChE foi reduzida em ambos os tratamentos, 3,25mg/L ($0,071 \pm 0,005$) e 5,35mg/L ($0,072 \pm 0,005$), quando comparados a atividade do grupo controle ($0,107 \pm 0,009$). Com relação a atividade PChE, a mesma foi reduzida em cerca de 28,5% em ambos os tratamentos, 3,25mg/L ($0,066 \pm 0,004$) e 5,35mg/L ($0,063 \pm 0,004$), quando comparados a atividade do grupo controle ($0,09 \pm 0,00$). No tempo de 24 hrs não foram observadas diferenças significativas na F.S e F.M para ambos substratos ($p > 0,05$). Este estudo realizado corrobora com os demais estudos no qual foram observadas reduções na atividade AChE em outras espécies animais expostas ao ROUNDUP e a outras formulações a base de glifosato (Gluszczak *et al.*, 2007). Além disso, pela primeira vez foi demonstrado que este herbicida também é capaz de inibir outras formas de colinesterases presentes nos tecidos animais, como a PChE.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

O presente estudo mostra que esta espécie estuarina também é sensível a ação do contaminante ROUNDUP, apresentando um mecanismo semelhante aos estudos já relatados anteriormente.

REFERÊNCIAS

- Ellman, G.L., Courtney, K.D., Andres Jr., V., Featherstone, R.M., 1961. A new and rapid colorimetric determination of acetylcholinesterase activity. **Biochemical Pharmacology** 7, 88–95.
- Kwiatkowska, M., Nowacka-Krukowska, H., Bukowska, B., 2014. The effect of glyphosate, its metabolites and impurities on erythrocyte acetylcholinesterase activity. **Environmental toxicology and pharmacology** 37, 1101 - 1108.
- Gluszczak, L., Miron, D.S., Moraes, B.S., Simões, R.R., Schetinger, M.R.C., Morsch, V.M., Loro, V.L., 2007. Acute effects of glyphosate herbicide on metabolic and enzymatic parameters of silver catfish (*Rhamdia quelen*). **Comparative Biochemistry and Physiology**, Part C 146 (2007) 519–524
- Sandrini, J.Z., Rola, R.C., Lopes, F.M., Buffon, H.F., Freitas, M.M., Martins, C.M.G., Rosa, C.E., 2013. Effects of glyphosate on cholinesterase activity of the mussel *Perna perna* and the fish *Danio rerio* and *Jenynsia multidentata*: in vitro studies. **Aquatic Toxicology**, v. 130, p. 171-173.