

Instituto Federal Goiano – Campus Rio Verde

Bacharelado em Ciências Biológicas

**Análise da frequência de micronúcleos em peixes *Astyanax bimaculatus*
(Linnaeus, 1758) (*Characiformes: Characidae*) após exposição ao
fungicida ELATUS®**

Itamar Dutra dos Santos Filho

Setembro/2022

Rio Verde – GO

Itamar Dutra dos Santos Filho

TÍTULO DO PROJETO Análise da frequência de micronúcleos em peixes *Astyanax bimaculatus* (Linnaeus, 1758) (*Characiformes: Characidae*) após exposição ao fungicida ELATUS®

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado ao Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia Goiano - Campus Rio Verde, como parte das exigências da disciplina TCC-215 – Trabalho de Curso II, do curso de Bacharelado em Ciências Biológicas.

Orientador (a): Prof^a Dr^a Lia Raquel de Souza Santos

Setembro/2022

Rio Verde – GO

Sistema desenvolvido pelo ICMC/USP
Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)
Sistema Integrado de Bibliotecas - Instituto Federal Goiano

FIT88a Filho, Itamar Dutra dos Santos
Análise da frequência de micronúcleos em peixes
Astyanax bimaculatus (Linnaeus, 1758)
(Characiformes: Characidae) após exposição ao
fungicida ELATUS®. / Itamar Dutra dos Santos Filho;
orientadora Lia Raquel de Souza Santos. -- Rio
Verde, 2020.
15 p.

TCC (Graduação em Bacharelado em Ciências
Biológicas) -- Instituto Federal Goiano, Campus Rio
Verde, 2020.

1. Micronúcleo. 2. Peixes. 3. Agroquímicos. 4.
Ecotoxicologia. I. Raquel de Souza Santos, Lia ,
orient. II. Título.

Responsável: Johnathan Pereira Alves Dintz - Bibliotecário-Documentalista CRB-1 n°2376

TERMO DE CIÊNCIA E DE AUTORIZAÇÃO PARA DISPONIBILIZAR PRODUÇÕES TÉCNICO-CIENTÍFICAS NO REPOSITÓRIO INSTITUCIONAL DO IF GOIANO

Com base no disposto na Lei Federal nº 9.610, de 19 de fevereiro de 1998, AUTORIZO o Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia Goiano a disponibilizar gratuitamente o documento em formato digital no Repositório Institucional do IF Goiano (RIIF Goiano), sem ressarcimento de direitos autorais, conforme permissão assinada abaixo, para fins de leitura, download e impressão, a título de divulgação da produção técnico-científica no IF Goiano.

IDENTIFICAÇÃO DA PRODUÇÃO TÉCNICO-CIENTÍFICA

- | | |
|--|---|
| <input type="checkbox"/> Tese (doutorado) | <input type="checkbox"/> Artigo científico |
| <input type="checkbox"/> Dissertação (mestrado) | <input type="checkbox"/> Capítulo de livro |
| <input type="checkbox"/> Monografia (especialização) | <input type="checkbox"/> Livro |
| <input checked="" type="checkbox"/> TCC (graduação) | <input type="checkbox"/> Trabalho apresentado em evento |

Produto técnico e educacional - Tipo:

Nome completo do autor:

Itamar Dutra dos Santos Filho

Matrícula:

2016102230530368

Título do trabalho:

Análise da frequência de micronúcleos em peixes *Astyanax bimaculatus* (Linnaeus, 1758) (Characiformes: Characidae) após exposição ao fungicida ELATUS®

RESTRIÇÕES DE ACESSO AO DOCUMENTO

Documento confidencial: Não Sim, justifique:

Informe a data que poderá ser disponibilizado no RIIIF Goiano: 27 /02 /2023

O documento está sujeito a registro de patente? Sim Não

O documento pode vir a ser publicado como livro? Sim Não

DECLARAÇÃO DE DISTRIBUIÇÃO NÃO-EXCLUSIVA

O(a) referido(a) autor(a) declara:

- Que o documento é seu trabalho original, detém os direitos autorais da produção técnico-científica e não infringe os direitos de qualquer outra pessoa ou entidade;
- Que obteve autorização de quaisquer materiais inclusos no documento do qual não detém os direitos de autoria, para conceder ao Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia Goiano os direitos requeridos e que este material cujos direitos autorais são de terceiros, estão claramente identificados e reconhecidos no texto ou conteúdo do documento entregue;
- Que cumpriu quaisquer obrigações exigidas por contrato ou acordo, caso o documento entregue seja baseado em trabalho financiado ou apoiado por outra instituição que não o Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia Goiano.

Rio Verde, GO

Local

02 /09 /2022

Data



Assinatura do autor e/ou detentor dos direitos autorais

Documento assinado digitalmente

Ciente e de acordo:



LIA RAQUEL DE SOUZA SANTOS BORGES

Data: 05/09/2022 11:16:52-0300

Verifique em <https://verificador.iti.br>



SERVIÇO PÚBLICO FEDERAL
MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO
SECRETARIA DE EDUCAÇÃO PROFISSIONAL E TECNOLÓGICA
INSTITUTO FEDERAL DE EDUCAÇÃO, CIÊNCIA E TECNOLOGIA GOIANO

Ata nº 61/2021 - UCPG-RV/CPG-RV/DPGPI-RV/CMPRV/IFGOIANO

ATA DE DEFESA DE TRABALHO DE CURSO

Ao vigésimo oitavo dia do mês de outubro de 2021, às 09 horas, reuniu-se a banca examinadora composta pelos docentes: Prafa. Dra. Lia Raquel de Souza Santos (orientadora), Dr. Fábio Martins Vilar de Carvalho (membro interno, IF Goiano) e Dr. Rinneu Elias Borges (membro externo, UniRV), para examinar o Trabalho de Curso intitulado: "Análise da frequência de micronúcleos em peixes *Astyanax bimaculatus* (Linnaeus, 1758) (Characiformes: Characidae) após exposição ao fungicida ELATUS®" apresentado pelo estudante Itamar Dutra Santos Filho, Matrícula nº 2016102230530368 do Curso de Bacharelado em Ciências Biológicas do IF Goiano - Campus Rio Verde. A palavra foi concedida ao estudante para a apresentação oral do Trabalho de Curso, e em seguida, houve arguição do candidato pelos membros da banca examinadora. Após tal etapa, a banca examinadora decidiu pela APROVAÇÃO do estudante. Ao final da sessão pública de defesa foi lavrada a presente ata que aprovada, segue assinada pelo orientador demais membros da banca.

(Assinado Eletronicamente)

Dra. Lia Raquel de Souza Santos

Orientador

(Assinado Eletronicamente)

Dr. Fábio Martins Vilar de Carvalho

Membro examinador interno

IF Goiano

(Assinado Eletronicamente)

Dr. Rinneu Elias Borges

Membro examinador externo

UniRV

Observação:

() O(a) estudante não compareceu à defesa do projeto.

Documento assinado eletronicamente por:

- Fabio Martins Vilar de Carvalho, PROFESSOR ENS BASICO TECN TECNOLOGICO, em 28/10/2021 10:35:24.
- Lia Raquel de Souza Santos Borges, PROFESSOR ENS BASICO TECN TECNOLOGICO, em 28/10/2021 10:33:24.

Este documento foi emitido pelo SUAP em 28/10/2021. Para comprovar sua autenticidade, faça a leitura do QRCode ao lado ou acesse <https://suap.ifgoiano.edu.br/autenticar-documento/> e forneça os dados abaixo:

Código Verificador: 324058

Código de Autenticação: aa27996e78



INSTITUTO FEDERAL GOIANO
Campus Rio Verde
Rodovia Sul Goiana, Km 01, Zona Rural, None, RIO VERDE / GO, CEP 75901-970
(64) 3620-5600



SERVIÇO PÚBLICO FEDERAL
MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO
SECRETARIA DE EDUCAÇÃO PROFISSIONAL E TECNOLÓGICA
INSTITUTO FEDERAL DE EDUCAÇÃO, CIÊNCIA E TECNOLOGIA GOIANO

Ofício nº 364/2021 - GGRAD-RV/DE-RV/CMPRV/IFGOIANO

Rio Verde, 9 de novembro de 2021.

A Maria Andréia Corrêa Mendonça
Medidora dos Trabalhos de Curso de Graduação em Bacharelado em Ciências Biológicas

Assunto: **Assinatura de membro externo em ata de defesa de TC**

Senhora Medidora

Em função da ausência de cadastro do professor Dr. Rinneu Elias Borges da Universidade de Rio Verde (UniRV), junto ao Sistema Unificado de Administração Pública (Suap) do IF Goiano, venho por meio deste informar que a Ata de Defesa (Ata nº 61/2021 - UCPG-RV/CPG-RV/DPGPI-RV/CMPRV/IFGOIANO) do aluno Itamar Dutra Santos Filho, meu orientado junto ao Curso de Bacharelado em Ciências Biológicas, não consta a assinatura do membro externo, professor Rinneu E. Borges. No entanto, durante o momento da leitura da Ata, o referido docente APROVA o discente em sua banca de Trabalho de Curso. Nesse sentido informo que a ata assinada por mim contam com os efeitos para validade do ato e manifestação pública do docente (gravação via meet da defesa de TC), membro externo.

Certa de contar com o vosso apoio e colaboração, agradeço.

Respeitosamente,

(Assinado Eletronicamente)
Lia Raquel de Souza Santos Borges
Professor EBTT

Documento assinado eletronicamente por:

■ Lia Raquel de Souza Santos Borges, PROFESSOR ENS BASICO TECN TECNOLOGICO, em 09/11/2021 16:56:58.

Este documento foi emitido pelo SUAP em 09/11/2021. Para comprovar sua autenticidade, faça a leitura do QRCode ao lado ou acesse <https://suap.ifgoiano.edu.br/autenticar-documento/> e forneça os dados abaixo:

Código Verificador: 328036

Código de Autenticação: 3dde806149



INSTITUTO FEDERAL GOIANO
Campus Rio Verde
Rodovia Sul Goiana, Km 01, Zona Rural, None, RIO VERDE / GO, CEP 75901-970
(64) 3620-5600

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO E JUSTIFICATIVA.....	9
2. OBJETIVOS	11
2.1.1 GERAL	11
2.1.2 ESPECÍFICOS.....	11
3. MATERIAL E MÉTODOS	11
4. RESULTADOS	12
5. DISCUSSÕES	15
6. CONCLUSÃO.....	17
7. REFERÊNCIAS	17

1. INTRODUÇÃO E JUSTIFICATIVA

A crescente atividade agrícola à nível global desencadeia um crescimento exponencial no uso de agrotóxicos (Carneiro, 2012). Desta forma, há grande preocupação a respeito das possíveis ações destes contaminantes em espécies que habitam ambientes inseridos em matrizes agrícolas, uma vez que não há conhecimento total quanto aos efeitos colaterais involuntários à vida selvagem (Köhler e Triebkorn, 2013). É apontando ainda que o uso intensivo de agrotóxicos, contribui para mudanças nas propriedades da água, o que pode refletir-se na saúde dos organismos que vivem nestes ambientes (González et al. 2017). Assim, a capacidade tóxica de alguns agrotóxicos permite que ocorra uma bioacumulação nos ecossistemas aquáticos o que pode levar a efeitos tóxicos tanto em espécies de animais desses habitats, quanto àquelas que dependem do solo (Milhorne et al, 2009).

Neste contexto, cita-se que a contaminação dos sistemas aquáticos tanto superficiais quanto subterrâneos por pesticidas tem causado preocupação por parte de pesquisadores (Dores & De-Lamonica-Freire, 2001). Estudos demonstram que o uso de pesticidas em práticas agrícolas pode estar contribuindo com o declínio populacional de indivíduos que dependem destes ambientes, uma vez que vestígios de agroquímicos têm sido encontrados em organismos que habitam áreas de monoculturas (Davidson et al., 2002).

Neste sentido, os peixes são comumente utilizados em estudos ecotoxicológicos, uma vez que demonstram grande potencial para indicar contaminantes mutagênicos em ambientes aquáticos, pois possuem a capacidade de concentrar e armazenar nutrientes (Al-Sabti, 1991). Esses organismos demonstram alterações fisiológicas a níveis ambientais baixos de xenobióticos, sendo, portanto, considerados bons bioindicadores da qualidade do ambiente e, portanto, modelos de estudos para toxicidade em vertebrados (Sancho et al., 2010). A espécie *Astyanax bimaculatus* é representada por animais de pequeno porte com hábitos diurnos e potamódromos, realizando migrações em diferentes massas de água doce (Ferraro, 2009). É encontrada em rios e zonas litorâneas, onde se alimenta de material vegetal, detritos, escamas de peixes, insetos e crustáceos (Arcifa et al., 1991). A espécie é encontrada em toda América do Sul e está bem adaptada às condições climáticas do país (Vilela & Hayashi., 2001).

Desta forma, considerando a lacuna de trabalhos para *A. bimaculatus*, se torna importante analisar sua sensibilidade toxicológica (Matsumoto & Cólus, 2000). Essa espécie possui forte movimento econômico por ser consumido amplamente no país e com seu uso intensivo na pesca, além de já ter sido apontada como um ótimo biomarcador

ecotoxicológico (Ferraro, 2009).

O uso indevido de pesticidas como o Thiodan, Dimilin entre outros, conduz alterações morfológicas em tecidos de peixes (Marcon et al., 2016). Sendo assim, alguns produtos químicos podem ser causadores eventuais de doenças e falhas reprodutivas nestes animais (Khan & Law., 2005), por atuar fortemente como desreguladores endócrinos (Jobling et al. 2006). Quantidades distintas de pesticidas que não possuem concentração suficiente para ocasionar altas taxas de mortalidade podem ser associadas a diversas alterações subletais evidenciadas em distúrbios fisiológicos nos indivíduos, prejudicando assim, a sobrevivência em peixes (Kegley et al., 1999).

As técnicas que utilizam bioindicadores para avaliação de impactos advindos de agrotóxicos podem ser divididas em duas linhas principais, sendo a primeira responsável pelo monitoramento de alterações em populações, comunidades e ecossistemas, e a segunda responsável pela avaliação de alterações individuais na taxa de crescimento, comportamento, malformações, reprodução e alterações bioquímicas e fisiológicas em nível celular (Rosenberg 1993; Tavera-Mendoza et al. 2002; Carr et al. 2003; Rohr e Palmer 2005). O teste do micronúcleo (MN) é uma ferramenta que marca danos citogenéticos em indivíduos que sofreram impactos por compostos genotóxicos (Naqvi et al., 2016). Os MNs são massas pequenas de cromatina citoplasmática externa ao núcleo de células, que podem ter origem de uma ruptura cromossômica (Heddle et al., 1991). Resultados de pesquisas mostram a importância e excelência do uso integrado do teste de micronúcleo e análise de estresse oxidativo para a avaliação do impacto que poluentes causam em ambientes aquáticos (Nwani et al., 2017). Além de micronúcleos, alguns autores observaram a ocorrência de outras anormalidades nucleares, tais como núcleos com brotos, células lobadas e células binucleadas, sugerindo que estas devem ser levadas em consideração como alterações nucleares (González et al., 2017) ao analisar sangue periférico.

Estudos apontam o efeito tóxico de fungicidas como uma das prováveis causas de mortes e doenças em peixes e aves (Vermeer et al., 1974). Sendo assim, considerando que pesticidas são suspeitos de proporcionar fatores que auxiliam o declínio de algumas populações de organismos que dependem do meio aquático (Khan & Law., 2005), estudos que avaliem os efeitos destes contaminantes em peixes se fazem necessários. Aliado a esta questão, o Elatus® é um fungicida de contato e sistêmico, usado em pulverizações preventivas, para o controle de doenças da parte aérea das culturas do algodão, amendoim, cana-de-açúcar, feijão, milho e soja (ELATUS, 2017). Esse produto possui classificação

toxicológica I (extremamente tóxico), e classificação do potencial de periculosidade ambiental classe II (produto muito perigoso ao meio ambiente) (ELATUS, 2017). Partindo desta questão, e considerando que não há até o momento, estudos que analisem os possíveis efeitos deste fungicida sobre peixes.

2. OBJETIVOS

2.1.1 OBJETIVO GERAL

Analisar os efeitos causados pelo fungicida Elatus® em peixes da espécie *Astyanax bimaculatus* através da análise de micronúcleos e outras alterações eritrocitárias nucleares (AENs).

2.1.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Análise das células sanguíneas para verificar possível formação de micronúcleos;
- Avaliar demais alterações nucleares, tais como, células anucleadas, binucleadas, com núcleo lobado e presença de broto nuclear;
- Verificar em qual concentração do agente xenobiótico (Fungicida) se observará maior efeito mutagênico.

3. MATERIAL E MÉTODOS

Delineamento experimental

Cinquenta e quatro (54) indivíduos foram dispostos em uma caixa d'água (500L) para aclimatação por sete dias. Após o período de aclimatação, os animais foram aleatoriamente distribuídos para os seguintes tratamentos: Exposição ao Elatus® em concentração de 10 µg/L (Grupo T2), concentração de 30 µg/L (Grupo T3) e grupo controle (Grupo T1; sem contaminante). Cada tratamento foi representado por três aquários (réplicas) com seis espécimes de *A. bimaculatus* cada, totalizando dezoito espécimes por tratamento. A concentração letal do experimento foi embasada com o fungicida Captan® tendo a CL50 0.2 (mg/l, 96h) (Choudhury, 2018). Os espécimes ficaram expostos às concentrações de Elatus® por 48 horas, e logo após o período de exposição, os indivíduos de todos os tratamentos foram eutanasiados em solução de benzocaína (5g/L) para o processamento do material.

Processamento do material

O sangue dos indivíduos para rotina histológica foi obtido através de secção caudal. As lâminas foram fixadas em metanol, coradas com solução de Giemsa a 7% e levadas ao microscópio óptico (aumento de 100x) para análise da presença de Micronúcleos (MNs) e de mais alterações eritrocitárias nucleares (AENs). Para identificação de micronúcleos, foram considerados pequenos corpos de cromatina, não-refrativos, circulares ou ovais, exibindo a mesma coloração e padrão de focalização do núcleo principal (Çavas e Ergene-Gözçakara, 2005). Para análise de outras alterações eritrocitárias nucleares (AENs), foram consideradas: células binucleadas, células com broto nuclear, cariorréxi, células anucleadas, células com núcleo entalhado e células segmentadas (Carrasco et al. 1990).

Procedimentos legais e acondicionamento do material

Todos os procedimentos foram aprovados pela Comissão de Ética no Uso de Animais do IF Goiano (CEUA/IF Goiano) (nº 8285210818). Os espécimes utilizados no experimento foram depositados na coleção ictiológica do Laboratório de Biologia Animal do IF Goiano.

Análises Estatísticas

Para as análises estatísticas, a homogeneidade das variâncias foi testada pelo teste de Levene. Quando paramétrico (dados transformados em \log_{10}) o teste One-Way-ANOVA foi aplicado seguido do teste Post-hoc de Tukey. Quando não paramétricos correremos um teste de Kruskal-Wallis, seguido pelo teste Dunn. Os resultados foram comparados entre as diferentes concentrações (concentração Controle, T2, T3). Um $p < 0,05$ foi considerado significativo.

4. RESULTADOS

A presença de anormalidades celulares foi avaliada em *Astyanax bimaculatus* expostos as concentrações de 10µg/L e 30 µg/L do fungicida Elatus®, em relação a uma população controle, (Figura 1). Após os períodos de exposição, foram observadas diferenças significativas sobre a frequência de anormalidades, em comparação ao controle. O grupo exposto a concentração de 10µg/L, apresentaram uma taxa significativa na frequência de micronúcleos ($p < 0,05$), em comparação ao grupo controle (Figura 2).

Foram realizadas análises individuais para as AENs e alteração significativa ($p < 0,05$) foi evidenciada para as células com núcleo segmentado, núcleo binucleado e núcleo entalhado, para os grupos de exposição a $10\mu\text{g/L}$ e $30\mu\text{g/L}$, em relação ao grupo controle. Foi analisado a junção de todas AENs e comparados ao controle, no qual foram apresentados resultados significativos ($F_{(2,27)} = 4.1182, p = 0.02$) para as duas exposições ($10\mu\text{g/L}$ e $30\mu\text{g/L}$) (Figura 3).

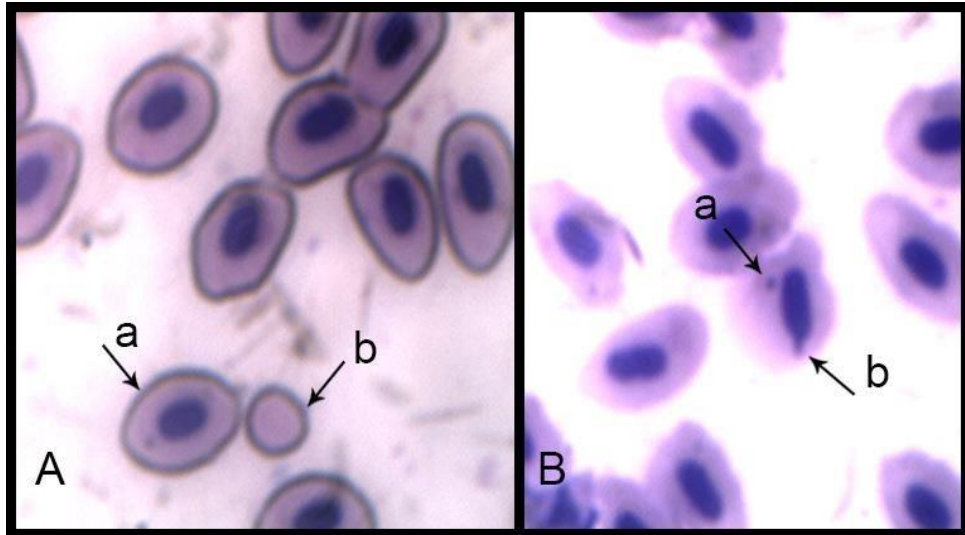


Figura 1: Células sanguíneas de *A. bimaculatus*. A: Célula padrão (a) e célula anucleada (b) de animais expostos ao tratamento de $30\mu\text{g/L}$ de fungicida. B: Micronúcleo (a) e broto nuclear (b); tratamento de $10\mu\text{g/L}$.

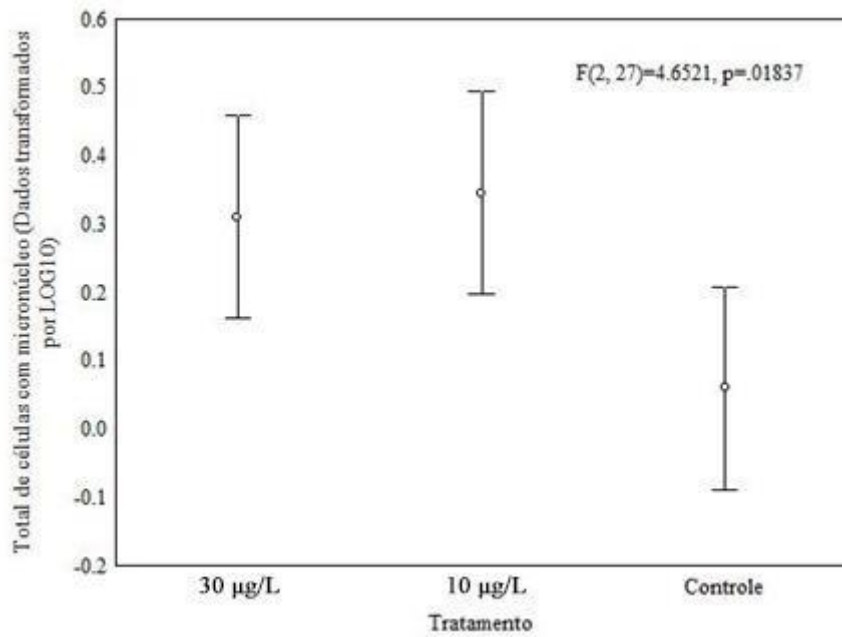


Figura 2: Frequência de micronúcleo em *Astyanax bimaculatus* expostos ao fungicida Elatus®. Os dados foram transformados por Log_{10} e são apresentados como média (círculos) e desvio padrão (barras verticais).

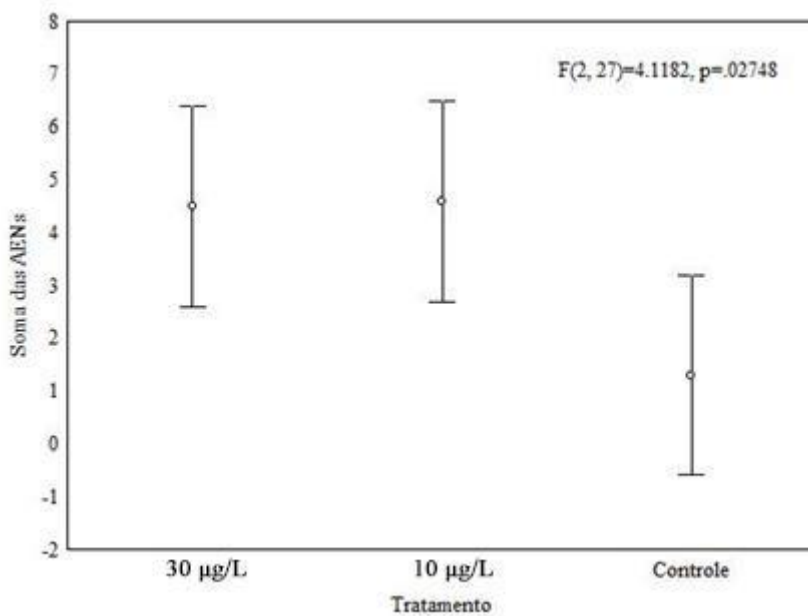


Figura 3: Frequência total de anormalidades eritrocitárias nucleares. A média é representado pelos círculos e desvio padrão pelas barras verticais.

Todas alterações encontradas durante experimento, podem ser interpretadas através de uma tabela de média e desvio padrão, classificando-as por grupo de exposição e tipo de alteração nuclear (Tabela 1). Foram destacadas as alterações na frequência de micronúcleos ($F_{(2, 27)} = 4.6521, p = 0.01$) para o tratamento de 10 µg/L, célula binucleada ($H_{(2, N=30)} = 2.230769, p = 0.02$) para o tratamento de 10 µg/L, célula com núcleo entalhado ($F_{(2, 27)} = 4.3429, p = 0.02$) para o tratamento de 10 µg/L e célula com núcleo segmentado ($H_{(2, N=30)} = 6.428571, p = 0.04$) para o tratamento de 30 µg/L.

Tabela 1: Média ± Desvio Padrão sobre a frequência das anormalidades nucleares por 1000 células de *Astyanax bimaculatus*.

MN e AENs	Controle (n10)	10µg/L (n10)	30µg/L (n10)
Micronúcleo	0,00±0,12	0,38±0,26*	0,30±0,26
Célula anucleada	0,00±0,12	0,00±0,12	0,00±0,00
Célula binucleada	0,00±0,00	0,15±0,22*	0,00±0,12
Núcleo lobado	0,00±0,69	0,00±0,69	0,00±1,13
Núcleo entalhado	0,00±1,05	3,00±2,20*	2,00±1,71
Broto nuclear	0,00±0,00	0,00±0,20	0,00±0,00
Núcleo Reniforme	0,00±0,00	0,00±0,00	0,00±0,16
Núcleo segmentado	0,00±0,00	0,00±0,00	0,00±0,25*

5. DISCUSSÕES

Os resultados observados descreveram a sensibilidade de *A. bimaculatus* ao fungicida Elatus®, uma vez que o experimento durou 48 horas e ambas as concentrações apresentaram taxa de mortalidade de aproximadamente 44%, diferente do grupo controle, onde não foi registrada mortalidade. Iturburu et al. 2016, descreveu que a partir das 48 horas de exposição, já é possível analisar alterações induzidas pelo estresse e segundo Shahi & Singh (2014), *Clarias batracu* expostos ao pesticida Mancozeb® nas concentrações subletais (80% de LC50 de 24h) por 24, 48, 72 e 96 horas, é descrito que a partir das 48h, a visualização de micronúcleo já é significante para esta espécie de peixe.

O micronúcleo pode ser segregado em duas origens, aneugênico e clastogênico (Iturburu et al. 2016), e a aparição significativa do micronúcleo e de outras anormalidades, pode ser proporcionada pelo estresse oxidativo (Oliveira et al. 2010). Este resultado é abordado também por Srivastava & Singh (2015), que abordaram estudos ecotoxicológicos com a espécie *Clarias batracus*, que foram

expostos ao fungicida Propiconazole® nas concentrações 1.11 e 2.23 mg/L. De acordo com Srivastava et al. (2016), os agentes químicos presentes no meio ambiente induzem genotoxicidade e a mortalidade em peixes e indivíduos em contato com agroquímicos podem sofrer alterações celulares, comportamentais e fisiológicas. Estas alterações que atingem os tecidos somáticos podem acarretar problemas, que a nível molecular, através de interações com oDNA, formam lesões de efeitos adversos, comprometendo os períodos reprodutivos e aumentando as taxas de mortalidade dos indivíduos contaminados (Iturburu et al. 2016).

Estudos que associam a genotoxicidade e mortalidade de peixes a condições de estresse induzidas por contaminantes agrícolas, mostram cenários que percorrem desde alterações nucleares, até a mortalidade e redução de populações de peixes em ambientes naturais (Hussain et al. 2018). Mas assim como observado por Ferraro (2009), antes de evidências de estresse macroscópicas (morte e alterações fisiológicas), os indivíduos contaminados apresentam alterações comportamentais e celulares.

A presença significativa de micronúcleo, núcleo entalhado e células binucleadas também foram evidenciadas no trabalho de Ghisi et al (2014), em peixes expostos a águas com resíduos agrícolas. Segundo Azevedo et al (2012), as células com núcleo entalhado são comprovadas como a anormalidade nuclear mais usual nos estresses causados por atividades antropogênicas. Células binucleadas e células com núcleo entalhado podem ser resultado de uma ação aneugênica consequente de substâncias tóxicas (Fernandes et al. 2007), em destaque das células binucleadas, esse desequilíbrio genético pode levar à carcinogênese (Rodilla, 1993).

A análise comportamental, não foi utilizada como foco da pesquisa e como avaliação adicional, foi observado que durante o experimento os indivíduos apresentaram alterações prejudiciais para a natação evidenciada pela orientação natatória do peixe no aquário, no qual alguns indivíduos portavam forrageio inviabilizado por não nadarem de forma usual como no grupo controle. Os animais expostos ao tratamento de 10µg/L, ficaram imóveis de forma oposta à superfície do aquário com curtos impulsos de natação, resultando em uma natação inviável para forrageio e alimentação. A partir da análise de todos os indivíduos expostos ao fungicida, ambos mostraram maior taxa de danos em relação ao grupo controle, porém, os que estavam no T2 (10µg/L), apresentaram maior frequência de anormalidades e micronúcleos, como também constatado por Ferraro (2009), que em seus estudos ecotoxicológicos com a espécie *A. bimaculatus*, demonstraram que menores concentrações e menor período de exposição apresentam danos ao DNA, e mesmo que os danos sejam passíveis de reparo é coerente pensar que alguns danos podem não ser reparados e consequentemente, e assim trazer algum prejuízo às células e ao indivíduo. Os estudos que abordam a exposição de peixes a fungicidas são escassos. Em relação ao Elatus®, até então, não há pesquisas sobre os diversos efeitos que este produto pode

proporcionara estes organismos aquáticos. Assim, pesquisas adicionais são encorajadas com outras doses, bem

como, determinação de dose letal, para finalmente compreender maiores respostas genotóxicas nesses animais.

6. CONCLUSÃO

Os peixes da espécie *Astyanax bimaculatus* são sensíveis à exposição ao fungicida ELATUS®, na qual foi testemunhado aumento na frequência de MNs e AENs nos indivíduos expostos em relação ao grupo controle. Além disso, a mortalidade dos indivíduos e alterações comportamentais natatórias também foram evidenciadas. Com isso, mais estudos sobre a toxicologia deste fungicida tornam-se necessários para compreender os riscos e impactos que podem causar a ictiofauna em ambientes naturais.

7. REFERÊNCIAS

Al-Sabti, K. Handbook of genotoxic effects and fish chromosomes. **Jozef Stefan Institute**. p. 221. 1991.

Arcifa, M.S; Northcote, T.G; Froehlich, O. Interactive ecology of two cohabiting characin fishes (*Astyanax fasciatus* and *Astyanax bimaculatus*) in an eutrophic Brazilian reservoir. **Journal of Tropical Ecology**. v. 07, p. 257-268. 1991.

Azevedo, J.D.S; Braga, E.D.S; Ribeiro, C.A.O. Nuclear abnormalities in erythrocytes and morphometric index in the Catfish *Cathorops spixii* (Ariidae) from different sites on the southeastern Brazilian coast. **Brazilian J Oceanogr**. v. 60, p. 323-330. 2012.

Carrasco, K.R; Tilbury, K.L; Myear, M.S. Assessment of the Piscine Micronucleus Teste as an in situ Biological indicator of Chemical Contaminant Effects. **Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences**. v. 74, p. 2123-2136. 1990.

Carneiro, F.F; Pignati, W; Rigotto, R.M; Augusto, L.G.S; Rizollo, A; Muller, N.M; Alexandre, V.P; Friedrich, K; Mello, M.S.C. *Dossiê ABRASCO*- Um alerta sobre os impactos dos agrotóxicos na saúde. ABRASCO, Rio de Janeiro, abril de 2012.

Cavaş, T; Ergene-Gözükara, S. Micronucleus Test in Fish Cells: A Bioassay for in situ Monitoring of Genotoxic Pollution in the Marine Environment. **Environmental and Molecular Mutagenesis**. v. 46, p. 64-70. 2005.

Choudhury, N. Ecotoxicology of Aquatic System: A Review on Fungicide Induced Toxicity in Fishes. **Progress in Aqua Farming and Marine Biology**. v. 1, p. 180001. 2018.

Davidson, C; Shaffer, H.B; Jennings, M.R. Spatial tests of the pesticide drift, habitat destruction, UV-B, and climate-change hypotheses for california amphibian declines. **Conservation Biology**. v. 16, p. 1588-1601. 2002.

Dores, E.F.G.C; De-Lamonica-Freire, E.M. Contaminação do ambiente aquático por pesticidas. Estudo de caso: águas usadas para consumo humano em Primavera do Leste, Mato Grosso- análise preliminar. **Quím. Nova.** v. 24, p. 27-36. 2001.

Fernandes, T.C.C; Mazzeo, D.E.C; Marvin-Morales, M.A. Mechanism of micronuclei formation in polyploidized cells of *Allium cepa* exposed to trifluralin herbicide. **Pestic Biochem Physiol.** v. 88, p. 252-259. 2007.

Ferraro, M.V.M. **Avaliação de três espécies de peixes *Rhamdia quelen*, *Cyprinus carpio* e *Astyanax bimaculatus*, como potenciais bioindicadores em sistemas hídricos através dos ensaios: cometa e dos micronúcleos.** Tese de Doutorado. 2009.

González, L.E.C; Larriera, A; Siroski, P.A; Poletta, G.L. Micronuclei and other nuclear abnormalities on *Caiman latirostris* (Broadsnouted caiman) hatchlings after embryonic exposure to different pesticide formulations. **Ecotoxicology and Environmental Safety,** v. 1, n. 36, p. 84-91. 2017.

Ghisi, N.C; Oliveira, E.C; Fávaro, L.F; Assis, H.C.S; Prioli, A.J. In Situ Assessment of Neotropical Fish to Evaluate Pollution in a River Receiving Agricultural and Urban Wastewater. **Bull Environ Contam Toxicol.** v. 93, p. 699-709. 2014.

Heddle, J.A; Cimino, M.C; Hayashi, M; Romagna, F; Shelby, M.D; Tucker, J.D; Vanparys, P.H; MacGregor, J.T. Micronucleus test as an index of cytogenetic damage: present, past and future. **Environmental and molecular mutagenesis.** v. 18, p. 277-291. 1991.

Hussain, B; Sultana, T; Sultana, S; Masoud, M.S; Ahmed, Z; Mahboob, S. Fish ecogenotoxicology: Comet and micronucleus assay in fish erythrocytes as in situ biomarker of freshwater pollution. **Saudi Journal of Biological Sciences.** v. 25, p. 393-398. 2018.

Iturburu, F.G; Zomisch, M; Panzeri, A.M; Crupkin, A.C; Contardo-Jara, V; Pflugmacher, S; Menone, M.L. Uptake, distribution in different tissues, and genotoxicity of Imidacloprid in the freshwater fish *Australoheros facetus*. **Environmental Toxicology.** v. 36, p. 699-708. 2016.

Jobling, S; Williams, R; Johnson, A; Taylor, A; Gross-Sorokin, M; Nolan, M. Predicted exposures to steroid estrogens in UK rivers correlate with widespread sexual disruption in wild fish populations. **Environ Health Perspect.** v. 114, p. 32-39. 2006.

Kegley, S; Neumeister, L; Martin, T. Ecological Impacts of Pesticides in California. **Pesticide Action Network.** p.99. 1999.

Khan, M.Z; Law, F.C.P. Adverse effects of pesticides and related chemicals on enzyme and hormone systems of fish, amphibians and reptiles: A review. **Department of Biological Sciences.** v. 42, p. 315-323. 2005.

Köhler, H.R; Triebkorn, R. Wildlife ecotoxicology of pesticides: can we track 2418 effects to the population level and beyond? **Science.** v. 341, p. 759. 2013.

Lemos, C.T; Iranço, F.A; Oliveira, N.C.D; Souza, G.D; Fachel, J.M.G. Biomonitoring of genotoxicity using micronuclei assay in native population of *Astyanax jacuhiensis*

(Characiformes: Characidae) at sites under petrochemical influence. **Science of The Total Environment.** v. 406, p. 337-343. 2008.

Marcon, L; Mouteer, A.H; Bazzoli, N; Benjamin, L.A. Effects of insecticide Thiodan® on the morphology and quantification of ovarian follicles in lambaris *Astyanax bimaculatus* (Linnaeus, 1758) in different treatments. **Aquaculture Research.** v. 47, p. 2407. 2016.

Matsumoto, F.E; Cólus, I.M.S. Micronucleus frequencies in *Astyanax bimaculatus* (characidae) treated with cyclophosphamide or vinblastine sulfate. **Genetics and Molecular Biology.** v. 23, p. 489-492. 2000.

Milhome, M.A.L; Sousa, D.O.B; Lima, F.A.F; Nascimento, R.F. Avaliação do potencial de contaminação de águas superficiais e subterrâneas por pesticidas aplicados na agricultura do Baixo Jaguaribe. **Engenharia Sanitária e Ambiental.** v. 14, p. 363-372. 2009.

Naqvi, G.E.Z; Shoaib, N; Ali, A.M. Genotoxic Potential of Pesticides in the Peripheral Blood Erythrocytes of fish (*Oreochromis mossambicus*). **Pakistan Journal of Zoology.**v. 48, p. 1643-1648. 2016.

Nwani, C.D; Somdare, P.O; Ogueji, E.O; Nwani, J.C; Ukonze, J.A; Nwadinigwe, A.O. Genotoxicity assessment and oxidative stress responses in freshwater African catfish *Clarias gariepinus* exposed to fenthion formulations. **Drug and Chemical Toxicology.** v. 40, p. 273-280. 2008.

Oliveira, M; Ahmad, I; Maria, V.L; Ferreira, C.S.S; Serafim, A; Bebianno, M.J; Pacheco, M; Santos, M.A. Evaluation of oxidative DNA lesions in plasma and nuclear abnormalities in erythrocytes of wild fish (*Liza aurata*) as an integrated approach to genotoxicity assessment. **Mutat Res.** v. 70, p. 83-89. 2010.

Rodilla, V. Origin and evolution of binucleated cells and binucleated cells with micronuclei in cisplatin-treated CHO cultures. **Mutat. Res.** v. 300, p. 281-291. 1993.

Rohr, J; Palmer, B. Aquatic herbicide exposure increases salamander desiccation risk eight months later in a terrestrial environment. **Environ. Toxicol. Chem.** v. 24, p. 1253-1258. 2005.

Sancho, E; Vilarroel, M.J; Fernández, C; Andreu, E; Ferrando, M.D. Short-term exposure to sublethal tebuconazole induces physiological impairment in male zebrafish (*Danio rerio*). **Ecotoxicology and Environmental Safety.** v.73, p. 370-376. 2010.

Shahi, J; Singh, A. Genotoxic and haematological effect of commonly used fungicide on fish *Clarias batracus*. **Journal of Biology and Earth Sciences.** v. 2, p. 137-143. 2014.

Srivastava, P; Singh, A; Pandley. A.K. Pesticides toxicity in fishes: Biochemical,

physiological and genotoxic aspects. **Biochem. Cell. Arch.** v. 16, p. 199-218. 2016.

Srivastava, P; Singh, A. Evidence of micronuclei in fish blood as a biomarker of genotoxicity due to surface run off agricultural fungicide (Propiconazole). **Journal of Toxicology and Environmental Health Sciences.** v. 7, p. 4-8. 2015.

Vermeer, K; Risebrough, R.W; Spaans, A.L; Reynolds, L.M. Pesticide effects on fishes and birds in rice field of Surinam, South America. **Environmental Pollution.** v. 07, p. 217-236. 1974.

Vilela, C; Hayashi, C. Desenvolvimento de juvenis de lambari *Astyanax bimaculatus* (Linnaeus, 1758), sob diferentes densidades de estocagem em tanques-rede. **Acta Scientiarum.** v.23, p. 491-496. 2001.