

EFEITOS DA EXPOSIÇÃO CRÔNICA POR HERBICIDA À BASE DE GLIFOSATO EM PEIXE *Poecilia reticulata* (PETER, 1859), COM ÊNFASE EM MORTALIDADE E MARCADORES BIOQUÍMICOS

**ANDRE LUIS CAIGARO DA LUZ¹, CAROLAINA MARIA DINIZ², MILENA CIA
RETCHESKI³, RAFAELA ANDRADE BECHER⁴, SILVIA ROMÃO⁵**

1 Introdução

O Brasil é considerado um dos países com maior produção e exportação agropecuária do mundo, sendo fundamental para a economia local. A elevada demanda de produção estimula o uso intensivo de sementes transgênicas, fertilizantes e pesticidas (PIGNATI et al., 2017).

Na atual Legislação (BRASIL, 2002), são caracterizados por agrotóxicos, as substâncias, ou mistura de substâncias químicas que tem por objetivo a prevenção, destruição ou ação repelente dos agentes patogênicos ou vida animal/vegetal que possam vir a ser nocivos para plantas, animais, produtos, e aos seres humanos. Essa definição indica que estes compostos são capazes de destruir a vida animal ou vegetal (PERES et al., 2003).

Os herbicidas à base de glifosato são os mais comercializados mundialmente, com cerca de 750 produtos comerciais diferentes, utilizados não só na agricultura, como em usos urbanos e domésticos (GUYTON et al., 2015). Esse status está associado ao fato do glifosato oferecer um amplo espectro de ação (ANDRIGHETTI et al., 2014) aliada a baixa toxicidade para mamíferos (DUKE; POWLES, 2008).

Alterações na saúde animal em ambientes aquáticos podem estar relacionadas a efeitos da exposição ao glifosato. Neste contexto, é objetivo do estudo a avaliação de possível interferência do glifosato na reprodução de *P. reticulata*, assim como a análise de marcadores fisiológicos de efeitos neurotóxicos e defesa antioxidante na prole de parentais expostos ao glifosato.

¹ Bolsista de iniciação científica. Graduando em Engenharia de Agronomia, Universidade Federal da Fronteira Sul, *campus* Laranjeiras do Sul-PR, grupo de pesquisa: Agroecologia; contato: andrecaigaro16@gmail.com

² Graduanda em Engenharia de Agronomia, Universidade Federal da Fronteira Sul, *campus* Laranjeiras do Sul-PR.

³ Mestranda em ciência e tecnologia de alimentos – PPGCTAL; Universidade Federal da Fronteira Sul, *campus* Laranjeiras do Sul-PR.

⁴ Graduanda em Engenharia de Agronomia, Universidade Federal da Fronteira Sul, *campus* Laranjeiras do Sul-PR.

⁵ Doutora em Ciências; Universidade Federal da Fronteira Sul, *campus* Laranjeiras do Sul-PR.

2 Objetivos

Identificar alterações na saúde de peixes da espécie *P. reticulata* após exposição crônica por ROUNDUP® WG, por meio de dados sobre a reprodução dos animais e alterações metabólicas na prole.

3 Metodologia

A metodologia aplicada nesse experimento de peixes da espécie *P. reticulata* submetidos à exposição por ROUNDUP® WG foi aprovada pela CEUA- Comissão de Ética no Uso de Animais da Universidade Federal da Fronteira Sul.

O experimento foi conduzido no laboratório de Experimentação Animal da Universidade Federal da Fronteira Sul - Campus Laranjeiras do Sul. Os ensaios do experimento consistiram em duas fases para análise de peixes da espécie *P. reticulata* submetidos à exposição por glifosato (produto comercial: ROUNDUP® WG). Na primeira fase espécimes foram expostos a 1 mg/L de glifosato durante período de crescimento, desenvolvimento e reprodutivo. Os animais foram separados em 6 aquários de 10 L (18 animais por aquário), sendo 3 aquários controles e 3 aquários com glifosato. Na segunda fase, os descendentes destes parentais expostos ao contaminante foram registrados e mantidos por 30 dias em ambiente livre de glifosato. Os animais foram mantidos em temperatura média de 26,7°C, com um aquecedor com termostato em cada aquário, oxigenação constante, pH e amônia monitorados semanalmente. Foram alimentados diariamente com ração comercial e realizada a troca de 30% da água, duas vezes por semana, mantendo a mesma concentração de glifosato semanalmente. Foi realizada a coleta de animais juvenis logo após ao nascimento, identificados como RN controle e RN glifosato e após 30 dias identificados como controle e glifosato.

Os registros dos nascimentos foram utilizados para o cálculo do número de nascidos por fêmeas. Os juvenis foram eutanasiados por aprofundamento de anestesia com benzocaína (100 mg/L) e congelados a -85 °C. As análises bioquímicas foram executadas no laboratório de Bioquímica/Genética da Universidade Federal da Fronteira Sul, Campus Laranjeiras do Sul. As amostras foram homogeneizadas em tampão tris 50 mM e realizadas análises da atividade enzimática da colinesterase e catalase, assim como determinação de GSH.

Amostras normais e homocedásticas foram analisadas pela ANOVA (CAT, GSH). Na ausência de atendimento desses pressupostos teóricos foi estabelecido o uso do teste de Kruskal-Wallis, (1952) para análise não paramétrica (colinesterase). Também foi realizado o

teste de Qui-quadrado para os grupos controle e glifosato.

4 Resultados e Discussão

As variáveis de qualidade de água de pH (7,60), temperatura (26,7°C) e amônia (NH₃) (0.006 mg/L) foram monitoradas e mantiveram-se dentro de padrões para o cultivo dos animais.

Não foram observadas alterações do número de nascidos por fêmeas no grupo exposto ao glifosato (6,24 ± 1,93), quando comparado ao controle (8,13 ± 3,24).

Não foi observada variação da atividade das colinesterases de juvenis filhos de parentais expostos ao glifosato, quando comparado ao controle (tabela 1 e 2). A colinesterase é caracterizada por ser uma enzima importante na transmissão do impulso nervoso (MOTA, 2012). A indução ou inibição da colinesterase pode influenciar no processo de neurotransmissão colinérgica e promover efeitos de letargia ou nado errático (MIRON et al., 2005).

Não foi observado variação na concentração de GSH em juvenis filhos de parentais expostos ao glifosato, quando comparado ao controle (tabela 1 e 2). A GSH é importante molécula da defesa antioxidante por participar das reações com enzimas antioxidantes e detoxificantes, (LUSHCHAK, BAGNYUKOVA, 2006).

Não foi observado alteração da atividade da catalase em juvenis descendentes de parentais expostos ao glifosato (tabela 1 e 2). O sistema de defesa antioxidante está presente em todos os organismos (HERMESLIMA, 2004) e reúne um conjunto de enzimas que operam numa transformação, oxidação e redução do peróxido de hidrogênio, uma delas é a catalase que neutraliza o H₂O₂ formando H₂O (AEBI, 1984).

Tabela 1. Atividade enzimática e Concentração de GSH em juvenis de *P. reticulata* recém-nascidos

	Controle RN	Glifosato RN
GSH (μM/ mg proteína)	4,69 ± 1,69	3,05 ± 0,80
Colinesterase (mmoles/min./mg de prot.)	28,55 ± 6,61	19,58 ± 5,41
CAT (M/min/mg de prot.)	238 ± 72	185 ± 59

Tabela 2. Atividade enzimática e Concentração de GSH em juvenis de *P. reticulata*, após 30 dias de vida em ambiente livre de glifosato.

	Controle 30 dias	Glifosato 30 dias
--	------------------	-------------------

GSH ($\mu\text{M}/\text{mg}$ proteína)	$0,46 \pm 0,29$	$1,03 \pm 0,31$
Colinesterase (mmoles/min./mg de prot.)	$4,75 \pm 3,45$	$4,22 \pm 1,96$
CAT (M/min./mg de prot.)	$29,04 \pm 24,55$	$33,41 \pm 22,61$

5 Conclusão

A exposição crônica por ROUNDUP® WG de parentais, peixes da espécie *Poecilia reticulata*, em período de reprodução e gestação, não resultou em alterações nas atividades da enzima da defesa antioxidante Catalase, assim como no marcador GSH na prole. A exposição dos pais também não influenciou a atividade da enzima Colinesterase da prole. Não houve também diferença significativa no número de nascidos por fêmea no grupo glifosato comparado com o controle.

Referências Bibliográficas

BRASIL. DECRETO No 4.074, 4 DE JANEIRO DE 2002. Decreto dos Agrotóxicos. Brasília, DF, 2002.

DUKE, S. O.; POWLES, S. B. Glyphosate: a once-in-a-century herbicide. Pest Management Science, v. 64, n. 1, p. 319–325, 2008

ELLMAN, G. L. et al. A new and rapid colorimetric determination of acetylcholinesterase activity. Biochemical Pharmacology, [s. l.], v. 7, ed. 2, p. 88-95, Julho 1961. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/0006295261901459?via%3Dihub>. Acesso em: 28 Ago. 2022.

GUYTON, K. Z. et al. Carcinogenicity of tetrachlorvinphos, parathion, malathion, diazinon, and glyphosate. The Lancet Oncology, v. 16, p. 490–491, 2015.

MODESTO, Kathya Assmann. Efeitos de dois herbicidas à base de glifosato para um peixe neotropical, com enfoque nos biomarcadores bioquímicos. 2009 80f. Dissertação (Mestrado em Ciências Biológicas – Área de Concentração Zoologia). Universidade Estadual de Londrina: Paraná, 2009.

MIRON, D. et al. Effects of the herbicides clomazone, quinclorac, and metsulfuron methyl on acetylcholinesterase activity in the silver catfish (*Rhamdia quelen*) (Heptapteridae). Ecotoxicol Environ. Saf, v. 61, p. 398-403, 2005.

Palavras-chave: agrotóxico, pesticida, toxicidade, lebetes

Nº de Registro no sistema Prisma: PES-2021-0276

Financiamento: Fundação Araucária