

UNIVERSIDADE DE PASSO FUNDO
INSTITUTO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS AMBIENTAIS

**Resíduos de agrotóxicos prejudicam o comportamento anti predatório
em peixes**

Aline Pompermaier

Passo Fundo

2019

Aline Pompermaier

Resíduos de agrotóxicos prejudicam o comportamento anti predatório em peixes

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Ambientais do Instituto de Ciências Biológicas da Universidade de Passo Fundo, como requisito parcial para obtenção do título de Mestra em Ciências Ambientais.

Orientador:
Prof. Dr. Leonardo José Gil Barcellos

Passo Fundo

2019

CIP – Catalogação na Publicação

P788r Pompermaier, Aline
Resíduos de agrotóxicos prejudicam o comportamento
anti predatório em peixes / Aline Pompermaier. – 2019.
[60] f.: il. color. ; 30 cm.

Orientação: Dr. Leonardo Jose Gil Barcellos.
Dissertação (Mestrado em Ciências Ambientais) –
Universidade de Passo Fundo, 2019.

1. Recursos hídricos – Contaminação. 2. Peixes –
Comportamento. 3. *Danio rerio*. 4. Produtos químicos
agrícolas. I. Barcellos, Leonardo Jose Gil, orientador.
II. Título.

CDU: 504:37

ATA DE DEFESA DE DISSERTAÇÃO



PPG Ciamb
Programa de Pós-Graduação
em Ciências Ambientais

ATA DE DEFESA DE DISSERTAÇÃO

A Banca Examinadora, abaixo assinada, aprova a Dissertação:

"Resíduos de agrotóxicos prejudicam o comportamento anti predatório em peixes"

Elaborada por

ALINE POMPERMAIER

Como requisito parcial para a obtenção do grau de
"Mestre em Ciências Ambientais"

Aprovado em: 22/07/2019
Pela Banca Examinadora


Prof. Dr. Leonardo Jose Gil Barcellos
Presidente da Comissão Examinadora – UPF/PPG CiAmb


Profa. Dr. Luiz Carlos Kreutz
Universidade de Passo Fundo – UPF/ PPGBioexp


Prof. Dra. Luciane Maria Colla
Universidade de Passo Fundo – UPF/PPGCTA/PPGEng

AGRADECIMENTOS

Agradeço à Fapergs (Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado do Rio Grande do Sul) e a CAPES (Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior) pela bolsa de mestrado e a Universidade de Passo Fundo por meio do Programa de Pós-Graduação em Ciências Ambientais pela oportunidade de cursar o mestrado.

RESUMO

Pompermaier, Aline. Resíduos de agrotóxicos prejudicam o comportamento anti predatório em peixes. 60f. Dissertação (Mestrado em Ciências Ambientais) – Universidade de Passo Fundo, Passo Fundo, 2019.

A contaminação dos corpos hídricos e das águas subterrâneas é uma realidade. As atividades antrópicas são responsáveis pela presença de resíduos de agrotóxicos na água. Essa presença se dá pelo descarte incorreto das embalagens, lixiviação das lavouras, aplicação direta, além dos processos naturais de degradação. Aliado a isso, o Brasil é o maior consumidor de agrotóxicos do mundo e os herbicidas são a classe mais vendida no país. Os efeitos dessas substâncias nos organismos não-alvo ainda são desconhecidos. Utilizando o modelo experimental Zebrafish (*Danio rerio*) tivemos por objetivo simular a exposição de um organismo não-alvo a resíduos de agrotóxicos e mitigar a ação de um predador para avaliar a resposta anti predatória dos peixes. O presente estudo foi realizado no Laboratório de Fisiologia de Peixes da Faculdade de Agronomia e Medicina Veterinária da Universidade de Passo Fundo. Os peixes foram expostos por 30 minutos em 10% da CL 50 dos agrotóxicos 2,4-D, Atrazina+Simazina, Glifosato e Metilbenzoato. Após a exposição os peixes foram colocados, individualmente, no aparato para aclimatação por 5 minutos, logo em seguida foi realizado o primeiro estímulo predatório e acompanhada a resposta dos peixes por 5 minutos. Uma segunda simulação foi realizada e a reação dos peixes foi observada por mais 5 minutos. Dois grupos controles foram utilizados para comparar as respostas dos peixes, NSC (controle sem estímulo), que não recebeu nenhum estímulo, ficou apenas explorando o aparato e SC (controle com estímulo) que recebeu o mesmo estresse que o grupo exposto. Os peixes expostos aos herbicidas 2,4-D e Glifosato tiveram a sua resposta anti predatória prejudicada. Esses animais ficaram mais tempo na área de risco o que demonstra que os agrotóxicos interferiram na sua capacidade de percepção de risco. Nossos resultados destacam os perigos e as consequências ambientais da contaminação de corpos hídricos por resíduos de agrotóxicos que podem afetar a vida aquática e prejudicar o equilíbrio ecológico.

Palavras-chave: 1. *Danio rerio*. 2. Relação presa-predador. 3. Resíduos de agrotóxicos. 4. 2,4-D. 5. Glifosato.

ABSTRACT

Pompermaier, Aline. Waterborne agrichemicals impair anti-predatory behavior in fish. 60f. Dissertation (Masters in Environmental Sciences) – University of Passo Fundo, Passo Fundo, 2019.

Contamination of water bodies and groundwater is a reality. Anthropogenic activities are responsible for the presence of pesticide residues in the water. This presence is due to the incorrect disposal of the packaging, leaching of the crops, direct application, besides the natural processes of degradation. Allied to this, Brazil is the largest consumer of pesticides in the world and herbicides are the best-selling class in the country. The effects of these substances on non-target organisms are still unknown. Using the experimental model Zebrafish (*Danio rerio*) we aimed to simulate the exposure of a non-target organism to pesticide residues and to mitigate the action of a predator to evaluate the anti-predatory response of the fish. The present study was carried out at the Laboratory of Fish Physiology of the Faculty of Agronomy and Veterinary Medicine of the University of Passo Fundo. The fish were exposed for 30 minutes in 10% of the CL 50 of the 2,4-D pesticides, Atrazine + Simazine, Glyphosate and Methylbenzoate. After the exposure the fish were placed individually in the acclimatization apparatus for 5 minutes, after which the first predatory stimulus was performed and the fish response was followed for 5 minutes. A second simulation was performed and the fish response was observed for another 5 minutes. Two control groups were used to compare the responses of the fish, NSC (No stimulus control), that received no stimulus, was only exploring the apparatus and SC (stimulus control) that received the same stress as the exposed group. Fish exposed to 2,4-D and glyphosate herbicides had their anti-predatory response impaired. These animals stayed longer in the area of risk, which shows that pesticides interfered in their ability to perceive risk. Our results highlight the dangers and environmental consequences of the contamination of water bodies by pesticide residues that can affect aquatic life and damage the ecological balance.

Key words: 1. *Danio rerio*. 2. Prey-predator relationship. 3. Pesticide residues. 4. 2,4-D. 5. Glyphosate.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Compilado das publicações do laboratório de fisiologia de peixes	15
Figura 2 - Cardume de peixe-zebra	21
Figura 3 - Aparato experimental.....	39
Figura 4 - Resultados GBH	41
Figura 5 - Resultados DBH	43
Figura 6 - Resultados ASBH	45
Figura 7 - Resultados MBH.....	47

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Agrotóxicos utilizados na pesquisa	38
---	----

LISTA DE SIGLAS E ABREVIATURAS

2,4-D: Ácido diclorofenóxiacético

AChE: Acetilcolinesterase

Agecom: Agência de Comunicação e Marketing

ANOVA: Análise de Variância

CaCo: Carbonato de Cálcio

CAS Number: número único de registro dos compostos químicos no banco de dados do Chemical Abstracts Service.

CEUA: Comissão de Ética no Uso de Animais

CL 50: Concentração Letal Média

cm: Centímetro

CONCEA: Comissão de Ética no Uso de Animais

DDT: Diclorodifeniltricloroetano

DNA: Ácido desoxirribonucleico

g: Grama

h: Hora

IBAMA: Instituto Brasileiro do Meio Ambiente e dos Recursos Naturais Renováveis

l/L: Litro

mg: miligrama

min: Minuto

pH: Potencial de Hidrogênio

Sisgen: Sistema Nacional de Gestão do Patrimônio Genético e do Conhecimento Tradicional Associado

SNC: Sistema Nervoso Central

UPF: Universidade de Passo Fundo

µg: Micrograma

LISTA DE SÍMBOLOS

®: Marca registrada

%: Por Cento

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	13
2	PRODUÇÃO CIENTÍFICA I	34
2.1	<i>Introduction</i>	35
2.2	<i>Materials and Methods</i>	37
2.2.1	Ethical and legal note	37
2.2.2	Study strategy	37
2.2.3	Animals and housing conditions	37
2.3	<i>Experimental procedures</i>	38
2.3.1	Agrichemicals and concentrations tested	38
2.3.2	Apparatus	38
2.3.3	Behavioral testing – Prey predator test (PPT)	39
2.4	<i>Statistics</i>	40
2.5	<i>Results</i>	40
2.5.1	Apparatus validation	40
2.5.2	GBH experiment	41
2.5.3	DBH experiment	43
2.5.4	ASBH experiment	45
2.5.5	MBH experiment	47
2.6	<i>Discussion</i>	48
2.7	<i>Conclusion</i>	50
3	CONSIDERAÇÕES FINAIS	58

1 INTRODUÇÃO

Tanto na primeira quanto na segunda guerra mundial, alguns princípios químicos dos produtos que hoje conhecemos como agrotóxicos, foram utilizados como arma química. Esses produtos eram utilizados nas câmaras de gás e nos ataques às tropas. O exército dos Estados Unidos utilizou largamente durante a guerra do Vietnã o agente laranja, que hoje conhecemos como 2,4-D (ácido 2,4 diclorofenoxiacético). Esse herbicida era despejado por aviões sobre as florestas para causar o desfolhamento das árvores e permitir o acompanhamento das tropas em movimento.

Na segunda guerra mundial um importante marco mudou o rumo da indústria dos agrotóxicos, a descoberta do DDT (diclorodifeniltricloroetano) como inseticida (D'AMATO et al., 2002). Além disso, durante as guerras, diferentes formulações foram desenvolvidas para serem utilizadas como arma química. Ao final desses conflitos mundiais estudos demonstraram que essas substâncias, projetadas para matar seres humanos, poderiam ser modificadas para controlar as chamadas “pragas agrícolas” (TAVELLA et al., 2011; BRAIBANTE & ZAPPE, 2012). Assim, iniciou-se um ramo industrial que vem crescendo até hoje e tem como impulso o crescente aumento populacional e a necessidade por alimentos (LOPES & ALBUQUERQUE, 2018).

Conhecidos por diferentes nomenclaturas como agrotóxicos, agroquímicos, produtos fitossanitários, defensivos agrícolas, praguicidas e biocidas, essas substâncias vêm sendo utilizadas para garantir rendimento nas culturas agrícolas (BRAIBANTE & ZAPPE, 2012). Os agrotóxicos são classificados de acordo com o seu modo de ação, seja o controle de plantas invasoras (herbicidas), insetos (inseticidas), fungos (fungicidas), bactérias (bactericidas), ácaros (acaricidas), ratos (rodenticidas), reguladores de crescimento, dessecantes, entre outros e também pela sua toxicologia: Classe I: Extremamente tóxico (rótulo vermelho), classe II: Altamente tóxico (rótulo amarelo),

classe III: Medianamente tóxico (rótulo azul) e classe IV: Pouco tóxico (rótulo verde) (LONDRES, 2011).

Desde 2008 o Brasil é o maior consumidor de agrotóxicos do mundo (CASSAL et al., 2014). No ano de 2017 o consumo atingiu um total de 539.944,94 toneladas de ingrediente ativo (IBAMA, 2019). A classe que aparece como mais vendida é a dos herbicidas. Os ingredientes ativos mais vendidos foram Glifosato e 2,4-D, em primeiro e segundo lugar, respectivamente (IBAMA, 2019).

Pelo descarte incorreto das embalagens, aplicação direta, lixiviação das lavouras e até mesmo processos naturais de degradação, essas substâncias acabam por entrar em contato com os corpos hídricos e ficam disponíveis na água e no sedimento dos rios e lagos (RODIL et al. 2012; ENSMINGER et al. 2013; WIJNJA et al. 2014; TSABOULA et al. 2016; BERMAN et al. 2018; DEMONTE et al. 2018; FERNANDES et al. 2019).

Com os resultados demonstrados por nosso grupo de pesquisa, se pode perceber que as exposições agudas a fármacos e agrotóxicos são capazes de bloquear a resposta ao estresse e alterar o comportamento exploratório dos animais, ou ainda a resposta a estímulos externos, como a exposição a predadores e ambiente novo (Figura 1).



Figura 1 - Compilado das publicações do laboratório de fisiologia de peixes (UPF) sobre efeitos dos fármacos e agrotóxicos.

Fonte: A autora (2019)

Para o presente estudo foram escolhidos quatro herbicidas muito utilizados atualmente, Glifosato, 2,4-D, Atrazina+Simazina e Metil benzoato. Esses que vem sendo relatados na literatura como causadores de efeitos adversos nos organismos não-alvo.

O Glifosato (C₃H₈NO₅P), CAS Number 1071-83-6, é um herbicida pós-emergente, de amplo espectro, sistêmico, não seletivo do grupo químico glicina substituída. É absorvido pelas folhas das plantas e atua sobre a atividade enzimática inibindo a fotossíntese, a síntese dos ácidos nucleotídeos e estimulando a produção de etileno. No Brasil, sua classificação toxicológica é III (ANNETT et al., 2014; MONSANTO, 2019).

O Glifosato (Roundup®) vem sendo reportado como causador de diversos efeitos para os organismos não-alvo como problemas na embriogênese de peixes relacionados à incapacidade da bexiga natatória inflar (PANETTO et al., 2019), induz efeitos no desenvolvimento, reprodução e epigenética (SMITH et al., 2019), causa dano histológico ao fígado, brânquias e cérebro (SÁNCHEZ et al., 2019), causa alterações no sistema antioxidante e efeitos neurotóxicos (SOBJAK et al., 2017). O Glifosato também foi reportado como genotóxico para brânquias e eritrócitos (MORENO et al., 2014), causador de perda de memória (BRIDI et al., 2017), induz alteração na locomoção e no comportamento aversivo em larvas, provoca diminuição da distância ocular (BRIDI et al., 2017), reduz o tamanho dos olhos dos embriões e causa mortalidade (ZEBRAL et al., 2017), perda de ventrículos cerebrais delineados e reduções nas regiões cefálica e ocular dos embriões (ROY et al., 2016).

Os peixes expostos ao Glifosato também apresentaram atrasos no desenvolvimento, morte embrionária e elevação significativa das atividades locomotoras (ZHANG et al., 2017), anomalias no desenvolvimento dos embriões, eclosão e sobrevivência diminuída (YUSOF et al., 2014) diminuição da tolerância térmica embrionária (ZEBRAL et al.,

2018). O glifosato afeta a eclosão, frequência cardíaca, induz malformações e aumenta a mortalidade dos embriões (LANZARIN et al., 2019).

Os casais de peixe expostos ao glifosato produziram menos embriões, e os embriões que produziram tiveram tamanho maior que o normal (ZEBRAL et al., 2018). No comportamento, os peixes expostos ao Glifosato apresentaram perda de equilíbrio, aumento na frequência de movimentos operculares, natação rápida e saltos, exaustão e letargia, natação vertical e sangramento na base dos globos oculares (KHAN et al., 2016).

Os peixes expostos tiveram redução na locomoção e no comportamento agressivo (BRIDI et al., 2017), danos histopatológicos (SANTOS et al., 2017), inibição da atividade AChE (GLUSCZAK et al., 2007; MODESTO & MARTINEZ., 2010; SANDRINI et al., 2013; MOTA et al., 2015), apresentaram estresse oxidativo (LUSHCHAK et al., 2009; MODESTO & MARTINEZ., 2010; GUILHERME et al., 2012; SEYEDKOLAEI et al., 2013; NWANI et al., 2013; SINHORIN et al., 2014), imunossupressão (KREUTZ et al., 2010, 2011; MA et al., 2015) diminuição da expressão gênica (ROY et al., 2016) e redução da fertilidade masculina (LOPES et al., 2014), e feminina (SOSO et al., 2007). A exposição ao Glifosato afetou negativamente a reprodução (HARAYASHIKI et al., 2013), causou redução na função hepática (SHIOGIRI et al., 2012), dano histopatológico regressivo, vascular e progressivo (ROCHA et al., 2015) e inibição da enzima anidrase carbônica nos peixes (SULUKAN et al., 2017).

O ácido diclorofenoxiacético, 2,4-D (C₈H₆Cl₂O₃, CAS Number 94-75-7) é um herbicida sistêmico de pós-emergência, seletivo do grupo químico ácido ariloxialcanóico. É absorvido pelas folhas das plantas e atua inibindo a enzima responsável pela biossíntese da parede celular (NORTOX, 2019). No Brasil, sua classificação toxicológica é I (OLIVEIRA JR, 2011; SONG, 2014). O 2,4-D (U 46®) vem sendo reportado como causador de efeitos para os organismos não-alvo, como alteração no desenvolvimento e na

função dos circuitos neurais subjacentes à visão das larvas de peixes (DEHNERT et al., 2019).

Os peixes expostos ao 2,4-D também apresentaram comportamento ansioso, perda de equilíbrio, natação de maneira invertida ou vertical, dificuldades respiratórias, secreção excessiva de mucosa, clareamento em cores, e no comportamento em grupo, se reuniam na superfície para respirar e acabavam se batendo nas paredes laterais dos aquários (SARIKAYA & YILMAZ, 2003). Foi observado nos peixes que foram expostos ao 2,4-D permanência no fundo do aquário, lentidão no movimento, reação lenta e natação anormal (ARCAUTE et al., 2016). O 2,4-D também causou estresse oxidativo (ORUC & UNER, 2004; JIN et al., 2010; GAAIED et al., 2019), alteração na expressão gênica (GAAIED et al., 2019; ARCAUTE et al., 2016, 2018) e diminuição da atividade da AChE nos peixes expostos (FONSECA et al., 2008; CATTANEO et al., 2008).

O Herbimix®, combinação de 6-chloro-N2-ethyl-N4-isopropyl-1,3,5-triazine-2,4-diamine (Atrazina) e 6-chloro-N2, N4-diethyl-1,3,5-triazine-2,4-diamine (Simazina), (CAS Number 1912-24-9), é um herbicida pré e pós-emergente precoce, seletivo do grupo químico triazina. Atua inibindo a fotossíntese II nas plantas. No Brasil, sua classificação toxicológica é IV (ADAMA, 2019). A atrazina+simazina vem sendo reportada como causadora de efeitos nos peixes, como imunossupressão (KREUTZ et al., 2010, 2012), hepatotoxica e nefrotoxicidade (MELA et al., 2013), além de causar a inibição da anidrase carbônica (PAULINO et al., 2012).

Os peixes expostos a atrazina tiveram a resposta ao estresse prejudica (CERICATO et al., 2008; NASCIMENTO et al., 2012), apresentaram efeitos teratogênicos e genotóxicos (ADEYEMI et al., 2015) foi observado estresse oxidativo (BLAHOVÁ et al., 2013; ADEYEMI et al., 2015; TOUGHAN et al., 2018; WANG et al., 2019), alteração na expressão gênica (JIN et al., 2010), alteração na atividade locomotora (LIU et al., 2016) e alteração na resposta imune das larvas (LIU et al., 2017). No comportamento os peixes

expostos ao tóxico apresentaram perda de equilíbrio, aumento na frequência de movimentos operculares, natação rápida e saltos, exaustão e letargia, natação vertical e sangramento na base dos globos oculares (KHAN et al., 2016).

Os peixes expostos a Atrazina tiveram redução na expressão de genes imunológicos (KIRSTEN et al., 2017), exibiram cortisol plasmático significativamente elevado, diminuição de linfócitos e aumento de monócitos nos periféricos do sangue, com supressão de processos precoces do sistema imunológico aparentes em nível molecular (SHELLEY et al., 2012), bioacumulação dos compostos tóxicos (WANG et al., 2013), imunotoxicidade (XING et al., 2015), inibição (XING et al., 2010, LIU et al., 2016) e redução na atividade da AChE (SCHMIDEL et al., 2014), desregulação da expressão de citocinas pró/anti-inflamatórias (CHEN et al., 2014) e tiveram a qualidade do esperma afetada reduzindo a taxa de fertilidade (BAUTISTA et al., 2018).

Foi observado nos peixes expostos à atrazina, que ela se comporta como inibidor enzimático, prejudicando o metabolismo hepático e produz dano genotóxico a diferentes tipos de células (SANTOS & MARTINEZ, 2012). Os peixes expostos a atrazina apresentaram anormalidade gonodais, redução na produção de ovos (TILLITT et al., 2010), diminuição do comportamento de interação social e o comportamento defensivo (SCHMIDEL et al., 2014), alteração na expressão gênica (WIRBISKY et al., 2015, 2016, 2017) e estresse oxidativo (CHEN et al., 2015).

Como efeito da simazina, foi possível identificar que a exposição crônica da carpa comum à simazina causou mudanças significativas nos perfis hematológico, bioquímico e biométrico e alterações histopatológicas (VELISEK et al., 2012) além de estresse oxidativo (STARA et al., 2012).

O Metil benzoato (4-methoxy-6-methyl-1,3,5-triazin-2-ylcarbamoylsulfamoyl), Metsulfurom Metilico, CAS Number 93-58-3 é um herbicida seletivo, sistêmico, do grupo

químico das Sulfoniluréias. O Metill benzoato (Ally®) age inibindo a enzima acetolactato sintase (ALS). No Brasil, sua classificação toxicológica é I (DUPONT, 2019). Não foram encontrados relatos sobre o tóxico na literatura pesquisada.

O comportamento é a relação entre os processos fisiológicos internos de um animal e a sua interação com o ambiente (Orger e Polavieja 2017; Clift et al. 2014). Sendo assim, um repertório comportamental intacto é crucial para a sobrevivência dos peixes. A relação presa-predador é um dos comportamentos mais conhecidos na natureza e é a base das teias alimentares, pois a partir dela o fluxo de energia se propaga (GIACOMINI & JUNIOR, 2010).

A necessidade de um desempenho anti predatório satisfatório inicia-se cedo na vida dos animais. Nos processos evolutivos, os animais foram desenvolvendo comportamentos anti predatórios (KELLEY & MAGURRAN, 2003). Os peixes têm como resposta anti predatória comportamentos que incluem a camuflagem e a preferência por áreas ou ambientes escuros. Para evitar predadores os animais podem exibir movimentos erráticos, dificultando a predição dos predadores (SERRA et al., 1999) ou podem se unir em cardume para intimidar o predador (HERBERT-READ et al., 2018).

Quando ocorre uma falha nessa resposta anti predatória pode ocorrer o favorecimento do predador, diminuindo a aptidão das espécies de presas e, conseqüentemente, afetando a cadeia alimentar (KELLEY & MAGURRAN, 2003; STEWART, CARDENAS & MCHENRY, 2013).

O *Danio rerio* conhecido também como peixe-zebra, *zebrafish* ou paulistinha, pertence a família *Cyprinidae* e é um pequeno teleósteo de 3-4 cm (Figura 2). Sua similaridade com os mamíferos e as facilidades de cultivo, reprodução, manejo e alimentação, aliados a sensibilidade a fatores farmacológicos, genéticos e seu comportamento muito bem descrito na literatura, são as suas principais vantagens e o

fazem ser um modelo amplamente utilizado nas pesquisas científicas (KALUEFF et al., 2013).



Figura 2- Imagem de um cardume de zebrafish (*Danio rerio*) no Laboratório de Fisiologia de Peixes da Universidade de Passo Fundo, RS.
Foto: Gelsoli Casagrande, Agecom, UPF (2016)

Sabendo que os agrotóxicos chegam aos corpos d'água e que os seus efeitos sob os organismos não alvo ainda são pouco conhecidos, esse estudo objetivou verificar as possíveis alterações provocadas por essas substâncias no comportamento anti predatório do peixe-zebra.

A presente dissertação está composta por resumo, introdução ao estudo proposto e os resultados obtidos nos experimentos e as discussões acerca destes, foram dispostas no capítulo que constitui um artigo científico intitulado “Waterborne agrichemicals impair anti-predatory behavior in fish”. Por fim são descritas as considerações finais com perspectivas para estudos futuros.

REFERÊNCIAS

ABREU, M.S; GIACOMINI, A.C.V.V; GUSSO, D; KOAKOSKI, G; OLIVEIRA, T.A; MARQUEZE, A; EGYDIO, R. **Behavioral responses of zebrafish depend on the type of threatening chemical cues.** Rev. Journal of Comparative Physiology. Vol. 202. p. 895-901. 2016.

ADAMA. **Herbimix SC.** Disponível em:
<<http://www.adapar.pr.gov.br/arquivos/File/defis/DFI/Bulas/Herbicidas/herbimixsc.pdf>>
Acesso em 02 Mai. 2019.

ADEYEMI, J.A; MARTINS-JUNIOR, A da C; BARBOSA Jr. F. **Teratogenicity, genotoxicity and oxidative stress in zebrafish embryos (*Danio rerio*) co-exposed to arsenic and atrazine.** Rev Comparative Biochemistry and Physiology, Part C. Vol. 172-173. p. 7-12. 2015.

ANNETT, R; HABIBI, H.R; HONTELA, A. **Impact of glyphosate and glyphosate-based herbicides on the freshwater environment.** Rev. Journal of Applied Toxicology. Vol. 34. p. 458-479. 2014.

ARCAUTE, C.R. de; SOLONESKI, S; LARRAMEDY, M.L.
Toxic and genotoxic effects of the 2,4-dichlorophenoxyacetic acid (2,4-D)-based herbicide on the Neotropical fish *Cnesterodon decemmaculatus*. Rev. Ecotoxicology and Environmental Safety. Vol. 128. p. 222-229. 2016.

ARCAUTE, R. de; LARRAMENDY, M.L; SOLONESKI, S. **Genotoxicity by long-term exposure to the auxinic herbicides 2,4-dichlorophenoxyacetic acid and dicamba on *Cnesterodon decemmaculatus* (Pisces: Poeciliidae).** Rev. Environmental Pollution. Vol. 243. p. 670-678. 2018.

BARCELLOS, H.H.A; KALICHAK, F; ROSA, J.G.S; OLIVEIRA, T.A; KOAKOSKI, G; IDALÊNCIO, R; ABREU, M.S; GIACOMINI, A.C.V.V; FAGUNDES, M; VARIANI, C; ROSSINI, M; PIATO, A.L; BARCELLOS, L.J.G. **Waterborne aripiprazole blunts the stress response in zebrafish.** Rev. Scientific Reports. 2016.

BARCELLOS, H.H.A; POMPERMAIER A; SOARES, S.M; MAFFI, V.C; FERNANDES, M; KOAKOSKI, G; KIRSTEN, K; OLIVEIRA, T.A; BALDISSEROTTO, B; BARCELLOS, L.J.G. **Waterborne Aripiprazole alters zebrafish behavior.** Sob revisão. 2018.

BAUTISTA, F.E.A; JUNIOR, A.S.V; CORCINI, C.D; ACOSTA, I.B; CALDAS, S.S; PRIMEL, E.G; ZANETTE, J. **The herbicide atrazine affects sperm quality and the**

- expression of antioxidant and spermatogenesis genes in zebrafish testes.** Rev. Comparative Biochemistry and Physiology. Part C Vol. 206-207. p. 17-22. 2018.
- BERMAN, M.C; MARINO, D.J.G; QUIROGA, M.V; ZAGARESE, H. **Occurrence and levels of glyphosate and AMPA in shallow lakes from the Pampean and Patagonian regions of Argentina.** Rev. Chemosphere. Vol. 200. p. 513-522. 2018.
- BLAHOVÁ, J; PLHALOVA,L; HOSTOVSKY', M; DIVIŠOVA, L; DOBŠIKOVA, R; MIKULIKOVA, I; PANOVA, S.S. ET AL., **Oxidative stress responses in zebrafish *Danio rerio* after subchronic exposure to atrazine.** Rev. Food and Chemical Toxicology. Vol. 61. p. 82-85. 2013.
- BRAIBANTE, M.E.F & ZAPPE, J.A. **A química dos agrotóxicos.** Rev. Química Nova na Escola. Vol. 34. n.1. p.10-15. 2012.
- BRIDI, D; ALTENHOFEN, S; GONZALEZ, J.B; REOLON, G. K; BONAN, C.D. **Glyphosate and Roundup® alter morphology and behavior in zebrafish.** Rev. Toxicology. Vol. 392. p. 32-39. 2017.
- CASSAL, V.B; AZEVEDO, L.F; FERREIRA, R.P; SILVA, D.G; SIMÃO, R.S. **Agrotóxicos: uma revisão de suas consequências para a saúde pública.** Rev. Eletrônica em Gestão, Educação e Tecnologia Digital. Vol. 18. n.1 p. 437-445. 2014.
- CATTANEO, R; LORO, V.L; SPANEVELLO, R; SILVEIRA, F.A; LUZ, L; MIRON, D.S; FONSECA, M.B; MORAES, B.S; CLASEN, B. **Metabolic and histological parameters of silver catfish (*Rhamdia quelen*) exposed to commercial formulation of 2,4-dichlorophenoxyacetic acid (2,4-D) herbicide.** Rev. Pesticide Biochemistry and Physiology. Vol. 92. p. 133-137. 2008.
- CERICATO, L; NETO, J.G.M; FAGUNDES, M; KREUTZ, L.C; QUEVEDO, R.M; FINCO, J; ROSA, J.G.S; KOAKOSKI, G; CENTENARO, L; POTKER, E; ANZILIERO, D; BARCELLOS, L.J.G. **Cortisol response to acute stress in jundiá *Rhamdia quelen* acutely exposed to sub-lethal concentrations of agrichemicals.** Comparative Biochemistry and Physiology. Part C. Vol. 148. p. 281-286. 2008.
- CHAULET, F.C; BARCELLOS, H.H.A; FIOR, D; POMPERMAIER, A; KOAKOSKI, G; ROSA, J.G.S; FAGUNDES, M; BARCELLOS, L.J.G. **Glyphosate and fipronil based agrochemicals and their associations change zebrafish behavior.** Sob revisão. 2018.
- CHEN, D; ZHANG, Z; YAO, HAIDONG, Y; CAO, Y; XING, H; XU, S. **Pro-and anti-inflammatory cytokine expression in immune organs of the common carp exposed to atrazine and chlorpyrifos.** Rev. Pesticide Biochemistry and Physiology. Vol. 114. p. 8-15. 2014.
-

CHEN, D; ZHANG, Z; YAO, H; YANG, L; XING, H; XU, S. **Effects of atrazine and chlorpyrifos on oxidative stress-induced autophagy in the immune organs of common carp (*Cyprinus carpio L.*)** Rev. Fish & Shellfish Immunology. Vol. 44. p. 12-20. 2015.

CLIFT D, RICHENDRFER H, THORN RJ, et al. **Análise de alto rendimento do comportamento em larvas de peixe-zebra:** 11: 455-461. 2014.

D'AMATO, C; TORRES, J.P; MALM, O. **DDT (Dicloro Difenil Tricoloroetano): Toxicidade e Contaminação Ambiental – Uma revisão.** Revista Química Nova. Vol. 25, n.6. 995-1002.

DEHNERT, G.K; KARASOV, W.H; WOLMAN, M.A. **2,4-Dichlorophenoxyacetic acid containing herbicide impairs essential visually guided behaviors of larval fish.** Rev. Aquatic Toxicology. Vol. 209. p.1-12. 2019.

DEMONTE, L.D; MICHLIG, N; GAGGIOTTI, M; ADAM, C.G; BELDOMÉNICO, H.R; REPETTI, M.R. **Determination of glyphosate, AMPA and glufosinate in dairy farm water from Argentina using a simplified UHPLC-MS/MS method.** Rev. Science of the Total Environment. Vol. 645. p. 34-43. 2018.

DUPONT. **Ally.** Disponível em:
<http://www.dupont.com.br/content/dam/dupont/products-and-services/crop-protection/documents/pt_br/Ally_Bula.pdf> Acesso em: 02 Mai. 2019.

ENSMINGER, M.P; BUDD, R; KELLEY, K.C; GOH, K.S. **Pesticide occurrence and aquatic benchmark exceedances in urban surface waters and sediments in three urban areas of California, USA, 2008–2011.** Rev. Environ Monit Assess. Vol. 185. p. 3697-3710. 2013.

FERNANDES, G; APARICIO, V.C; BASTOS, M.C; GERONIMO, E; LABANOWSKI, J; PRESTES, O.D; ZANELLA, R; SANTOS, D.R. **Indiscriminate use of glyphosate impregnates river epilithic biofilms in southern Brazil.** Rev. Science of the Total Environment. Vol. 651. p. 1377-1387. 2019.

FONSECA, M.B; GLUSCZAK, L; MORAES, B. S; MENEZES, C.C; PRETTO, A; TIerno, M.A; ZANELLA, R. GONÇALVES, F.F; LORO, V.L. **The 2,4-D herbicide effects on acetylcholinesterase activity and metabolic parameters of piava freshwater fish (*Leporinus obtusidens*).** Rev. Ecotoxicology and Environmental Safety. Vol. 69. p. 416-420. 2008.

GAAIED, S; OLIVEIRA, M; BIHANIC, F.L; CACHOT, J; BANNI, M. **Gene expression patterns and related enzymatic activities of detoxification and oxidative**

stress systems in zebrafish larvae exposed to the 2,4-dichlorophenoxyacetic acid herbicide. Rev. Chemosphere. Vol. 224. p. 289-297. 2019.

GIACOMINI, H.C. & JUNIOR, M.P. **A estrutura de teias tróficas.** Rev. Boletim da Sociedade Brasileira de Limnologia. Vol. 38. 2010.

GIACOMINI, A.C.V.V; ABREU, M.S; KOAKOSKI, G; IDALÊNCIO,R; KALICHAK, F; OLIVEIRA, T.A; ROSA, J.G.S; GUSSO,D; PIATO, A.L; BARCELLOS, L.J.G. **My stress, our stress: Blunted cortisol response to stress in isolated housed zebrafish.** Rev. Physiology & Behavior. Vol. 139. p. 182-187. Accept: 2014. 2015.

GLUSCZAK, L; MIRON, D.S; MORAES, B.S; SIMÕES, R.R; SCHETINGER, M.R.C; MORSCH, V.M; LORO, V.L. **Acute effects of glyphosate herbicide on metabolic and enzymatic parameters of silver catfish (*Rhamdia quelen*).** Rev. Comparative Biochemistry and Physiology, Part C. Vol. 146. p. 519-524. 2007.

GUILHERME, S; GAIVÃO, I; SANTOS, M.A; PACHECO, M. **DNA damage in fish (*Anguilla anguilla*) exposed to a glyphosate-based herbicide – Elucidation of organ-specificity and the role of oxidative stress.** Rev. Mutation Research/Genetic Toxicology and Environmental Mutagenesis. Vol. 743. p. 1-9. 2012.

HARAYASHIKI, C.A.Y; JUNIOR, A.S.V; MACHADO, A.A.S; CABRERA, L.C; PRIMEL, E.G; BIANCHINI,A; CORCINI, C.D. **Toxic effects of the herbicide Roundup in the guppy *Poecilia vivipara* acclimated to fresh water.** Rev. Aquatic Toxicology. Vol. 142-143. p. 176-184. 2013.

HERBERT-READ, J.; ROSEN, E.; SZORKOVSKY, A; IOANNOU, C.C; ROGELL, B; PERNA, A; RAMNARINE, I.W; KOTRSCHAL, A; KOLM, N; KRAUSE, J; SUMPTER, D.J.T. **How predation shapes the social interaction rules of shoaling fish.** Rev. Proc R Soc B. Vol. 284: 20171126. 2018.

IBAMA. Instituto Brasileiro do Meio Ambiente e dos Recursos Naturais Renováveis. **Boletim de Comercialização de Agrotóxicos e Afins.** Histórico de Vendas – 2000 a 2012. Disponível em: <http://www.ibama.gov.br/phocadownload/qualidadeambiental/relatorios/boletim%20de%20comercializacao_2000_2012.pdf> Acesso em 08 Mar. 2019.

_____. **Vendas por classes de usos dos produtos formulados – 2017.** Disponível em: <<http://www.ibama.gov.br/agrotoxicos/relatorios-de-comercializacao-de-agrotoxicos#boletinsanuais>> Acesso em 08 Mar. 2019.

_____. **Os 10 ingredientes ativos mais vendidos – 2017.** Disponível em: <<http://www.ibama.gov.br/agrotoxicos/relatorios-de-comercializacao-de-agrotoxicos#boletinsanuais>> Acesso em 08 Mar. 2019.

IDALENCIO R.; KALICHAK F.; ROSA J.G.S. ,OLIVEIRA, T.A; KOAKOSKI, G; GUSSO, D; ABREU, M.S; GIACOMINI, A.C.V.G; BARCELLOS, H.H.A; PIATO, A.L; BARCELLOS, L.J.G. **Waterborne risperidone decreases stress response in zebrafish.** Rev. PLoS One. 2015.

_____. KALICHAK, F; ROSA, J.G.S; OLIVEIRA, T.A; KOAKOSKI, G; GUSSO, D; ABREU, M.S; GIACOMINI, A.C.V; BARCELLOS, H.H.A; PIATO, A.L; BARCELLOS, L.J.G. **Waterborne Risperidone Decreases Stress Response in Zebrafish.** Rev. Plos One. 2015.

JIN, Y; ZHANG, X; SHU, L; CHEN, L; SUN, L; QIAN, H; LIU, W; FU, Z. **Oxidative stress response and gene expression with atrazine exposure in adult female zebrafish (*Danio rerio*).** Rev. Chemosphere. Vol. 78. p. 846-852. 2010.

KALICHAK F; IDALENCIO R; DA ROSA J.G.S; OLVEIRA, T.A; KOAKOSKI, G; GUSSO, D; ABREU, M.S; GIACOMINI, A.C.V.V; BARCELLOS, H.H.A; FAGUNDES, M; PIATO, A. L; BARCELLOS, L.J.G. **Waterborne psychoactive drugs impair the initial development of Zebrafish.** Rev. Environmental Toxicology and Pharmacology. Vol. 41. p. 89-94. 2016.

KALICHAK F; IDALENCIO R; DA ROSA J.G.S; BARCELLOS, H.H.A; FAGUNDES, M; PIATO, A; BARCELLOS, L.J.G. **Psychotropic in the environment: Risperidone residues affect the behavior of fish larvae.** Rev. Scientific Reports. 2017.

KALICHAK, F; BARCELLOS, H.H.A; IDALÊNCIO, R; KOAKOSKI, G; SOARES, S.M; POMPERMAIER,A; ROSSINI, M; BARCELLOS, L.J.G. **Persistent and transgenerational effects of risperidone in zebrafish.** Sob revisão. 2018

KALUEFF, A.V. et al. **Towards a comprehensive catalog of zebrafish behavior 1.0 and beyond.** Zebrafish. Vol. 10 (1). p. 70-86. 2013.

KELLEY, J.L; MAGURRAN, A.E. **Learned predator recognition and antipredator responses in fish.** Rev. Fish and Fisheries. Vol. 4. p. 216-226. 2003.

KHAN, A; SHAH, N; GUL, A; SARAH, N.U; ISMAIL, A; et al., **Comparative Study of Toxicological Impinge of Glyphosate and Atrazine (Herbicide) on Stress Biomarkers; Blood Biochemical and Hematological Parameters of the Freshwater Common Carp (*Cyprinus carpio*).** Rev. Pol. J. Environ. Stud. Vol. 25. Nº 5. p. 1995-2001. 2016.

KIRSTEN, K.S; CANOVA, R; SOVERAL, L.F; FRIEDRICH, M.T; FRANDOLOSO, R; KREUTZ, L.C. **Reduced expression of selective immune-related genes in silver catfish**

(*Rhamdia quelen*) monocytes exposed to atrazine. Rev. Fish & Shellfish Immunology. Vol. 64. p. 78-83. 2017.

KREUTZ, L.C; BARCELLOS, L.J.G; MARTENINGHE, A, DOS SANTOS E.D; ZANATTA, R. **Exposure to sublethal concentration of glyphosate or atrazine-based herbicides alters the phagocytic function and increases the susceptibility of silver catfish fingerlings (*Rhamdia quelen*) to *Aeromonas hydrophila* challenge.** Rev. Fish Shellfish Immunol 29:694e7. 2010.

KREUTZ, L.C; BARCELLOS, L.J.G; VALLE, S.F; SILVA, T.O; ANZILIERO, D; SANTOS, E.D; PIVATO, M; ZANATTA, R. **Altered hematological and immunological parameters in silver catfish (*Rhamdia quelen*) following short term exposure to sublethal concentration of glyphosate.** Rev. Fish & Shellfish Immunology. Vol. 30. p. 51-57. 2011.

KREUTZ, L.C; BARCELLOS, L.J.G; SANTOS, E.D; PIVATO, M; ZANATTA, R. **Innate immune response of silver catfish (*Rhamdia quelen*) exposed to atrazine.** Rev. Fish & Shellfish Immunology. Vol. 33. p. 1055- 1059. 2012.

LANZARIN, G.A.B; FÉLIX, L.M; SANTOS, D; VENÂNCIO, C.A.S; MONTEIRO, S.M. **Dose-dependent effects of a glyphosate commercial formulation e Roundup® UltraMax - on the early zebrafish embryogenesis.** Rev. Chemosphere. Vol. 223. p. 514-522. 2019.

LIU, Z; WANG, Y; ZHU, Z; YANG, E; FENG, X; FU, Z; JIN, Y. **Atrazine and its main metabolites alter the locomotor activity of larval zebrafish (*Danio rerio*).** Rev. Chemosphere. Vol. 148. p. 163-170. 2016.

_____; FU, Z; JIN, Y. **Immunotoxic effects of atrazine and its main metabolites at environmental relevant concentrations on larval zebrafish (*Danio rerio*).** Rev. Chemosphere. Vol. 166. p. 212-220. 2017.

LONDRES, F. **Agrotóxicos no Brasil: um guia para ação em defesa da vida.** Agência Nacional de Agroecologia. 2011.

LOPES, C.V.A & ALBUQUERQUE, G.S.C. **Agrotóxicos e seus impactos na saúde humana e ambiental: uma revisão sistemática.** Rev. Saúde Debate. Vol. 42. n. 117. p. 518-534. 2018.

LOPES, F.M; JUNIOR, A.S.V; CORCINI, C.D; SILVA, A.C; GUAZZELLI, V.G; TAVARES, G; ROSA, C.E. **Effect of glyphosate on the sperm quality of zebrafish *Danio rerio*.** Rev. Aquatic Toxicology. Vol. 155. p. 322- 326. 2014.

LUSHCHAK, O.V; KUBRAK, O. I; STOREY, J.M; STOREY, K.B; LUSHCHAK, V.I. **Low toxic herbicide Roundup induces mild oxidative stress in goldfish tissues.** Rev. Chemosphere. Vol. 76. p. 932-937. 2009.

MA, J & LI, X. **Alteration in the cytokine levels and histopathological damage in common carp induced by glyphosate.** Rev. Chemosphere. Vol. 128. p. 293-298. 2015.

MELA, M; GUILOSKI, I.C; DORIA, H.B; RANDI, M.A.F; RIBEIRO, C.A. de O; PEREIRA, L; MARASCHI, A.C; PRODOCIMO, V; FREIRE, C.A; SILVA DE ASSIS, H.C. **Effects of the herbicide atrazine in neotropical catfish (*Rhamdia quelen*).** Rev. Ecotoxicology and Environmental Safety. Vol. 93. p. 13-21. 2013.

MODESTO, K.A & MARTINEZ, C.B.R. **Effects of Roundup Transorb on fish: Hematology, antioxidant defenses and acetylcholinesterase activity.** Rev. Chemosphere. Vol. 81. p. 781- 787. 2010.

MONSANTO. **Roundup Original.** Disponível em:
<<http://www.adapar.pr.gov.br/arquivos/File/defis/DFI/Bulas/Herbicidas/rounduporiginaldi190118.pdf>> Acesso em 02 Mai. 2019.

MORENO, N.C; SOFIA, S.H; MARTINEZ, C. B.R. **Genotoxic effects of the herbicide Roundup Transorb® and its active ingredient glyphosate on the fish *Prochilodus lineatus*.** Rev. Environmental Toxicology and Pharmacology. Vol. 37. p. 448-454. 2014.

MOTA, S.B; HENRIQUE, H.S; DUARTE, R.M; VAL, A.L; VAL, V.M.F.A. **Roundup exposure promotes gills and liver impairments, DNA damage and inhibition of brain cholinergic activity in the Amazon teleost fish *Colossoma macropomum*.** Rev. Chemosphere. Vol. 135. p. 53-60. 2015.

NASCIMENTO, C. R.B; SOUZA, M.M; MARTINEZ, C.B.R. **Copper and the herbicide atrazine impair the stress response of the freshwater fish *Prochilodus lineatus*.** Rev. Comparative Biochemistry and Physiology, Part C. Vol. 155. p. 456-461. 2012.

NORTOX. **2,4-D.** Disponível em:
<<http://www.adapar.pr.gov.br/arquivos/File/defis/DFI/Bulas/Herbicidas/24dnortox.pdf>> Acesso em 02 Mai. 2019.

NWANI, C.D; NAGPURE, N.S; KUMAR, R; KUSHWAHA, B; LAKRA, W.S. **DNA damage and oxidative stress modulatory effects of glyphosate-based herbicide in freshwater fish, *Channa punctatus*.** Rev. Environmental Toxicology and Pharmacology. Vol. 36. p. 539-547. 2013.

OLIVEIRA, JR, R.S. **Mecanismo de ação de Herbicidas**. Rev. Biologia de Plantas Daninhas. 2011.

OLIVEIRA, T.A; IDALENCIO, R; KALICHAK, F; ROSA, J.G.S; KOAKOSKI, G; ABREU, M.S; GIACOMINI, A.C.V.V; GUSSO, D; ROSEMBERG, D. B; BARRETO, R.E; BARCELLOS, L.J.G. **Stress responses to conspecific visual cues of predation risk in zebrafish**. Rev. PeerJ. 2017.

ORDER, M.B., DE POLAVIEJA GG. **Zebrafish behavior: opportunities and challenges**. Annu Rev Neurosci 40:125–147. 2017.

ORUC, E.O; UNER, S.N. **Tissue-specific oxidative stress responses in fish exposed to 2,4-D and azinphosmethyl**. Rev. Comparative Biochemistry and Physiology Part C. Vol. 137. p. 43-51. 2004.

PANETTO, O.S; GOMES, H.F; GOMES, D.S.F; CAMPOS, E; ROMEIRO, N.C; COSTA, E.P; CARMO, P.R.L; FEITOSA, N.M; MORAES, J. **The Effects of Roundup® in Embryo Development and Energy Metabolism of the zebrafish (*Danio rerio*)**. Rev. Comparative Biochemistry and Physiology, Part C. 2019.

PAULINO, M.G; SAKURAGUI, M.M; FERNANDES, M.N. **Effects of atrazine on the gill cells and ionic balance in a neotropical fish, *Prochilodus lineatus***. Rev. Chemosphere. Vol. 86. p. 1-7. 2012.

ROCHA, T.L; SANTOS, A.P.R; YAMADA, A.T; SOARES, C.M.A; BORGES, C.L; BAILÃO, A.M; MORAIS, S.M.T.S. **Proteomic and histopathological response in the gills of *Poecilia reticulata* exposed to glyphosate-based herbicide**. Rev. Environmental Toxicology and Pharmacology. Vol. 40. p. 175-186. 2015.

RODIL, R; QUINTANA, J.B; GRANÃ, E.C; MAHÍA, P.L; LORENZO, S.M; RODRÍGUEZ, D.P. **Emerging pollutants in sewage, surface and drinking water in Galicia (NW Spain)**. Rev. Chemosphere. Vol. 86. p. 1040-1049. 2012.

ROSA, J.G.S da; ABREU, M.S. de; GIACOMINI, A.C.V; KOAKOSKI, G; KALICHAK, F; OLIVEIRA, T.A; BARCELLOS, H.H.A; BARRETO, R.E; BARCELLOS, L.J.G. **Fish aversion and Attraction to Selected Agrichemicals**. Rev. Environmental Contamination and Toxicology. Vol. 71, n. 3, october 2016.

_____; BARCELLOS, H.H.A; FAGUNDES, M; VARIANI, C; ROSSINI, M; KALICHAK, F; KOAKOSKI, G; OLIVEIRA, T.A; IDALENCIO, R; FRANDOLOSO, R; PIATO, A; BARCELLOS, L.J.G. **Muscarinic receptors mediate the endocrine-disrupting effects of an organophosphorus insecticide in Zebrafish**. Environmental Toxicology. Vol. 32 (7). p. 1964-1972. 2017.

ROY, N.M; CARNEIRO, B; OCHS, J. **Glyphosate induces neurotoxicity in zebrafish.** Rev. Environmental Toxicology and Pharmacology. Vol.42. p. 45-54. 2016.

SÁNCHEZ, J.A.A; KLOSTERHOFF, M.C; ROMANO, L.A; MARTINS, C.M.G. **Histological evaluation of vital organs of the livebearer *Jenynsia multidentata* (Jenyns, 1842) exposed to glyphosate: A comparative analysis of Roundup® formulations.** Rev. Chemosphere. Vol. 217. p. 914-924. 2019.

SANDRINI, J. Z; ROLA, R.C; LOPES, F. M; BUFFON, H.F; FREITAS, M.M; MARTINS, C.M.G; ROSA, C.E. **Effects of glyphosate on cholinesterase activity of the mussel *Perna perna* and the fish *Danio rerio* and *Jenynsia multidentata*: In vitro studies.** Rev. Aquatic Toxicology. Vol. 130-131. p. 171-173.2013.

SANTOS, A.P.R; ROCHA, T.L; BORGES, C.L; BAILÃO, A.M; SOARES, C.M.A; MORAIS, S.M.T.S. **A glyphosate-based herbicide induces histomorphological and protein expression changes in the liver of the female guppy *Poecilia reticulata*.** Rev. Chemosphere. Vol. 168. p. 933-943. 2017.

SANTOS, T.G; MARTINEZ, C.B.R. **Atrazine promotes biochemical changes and DNA damage in a Neotropical fish species.** Rev. Chemosphere. Vol. 89. p. 1118-1125. 2012.

SARIKAYA, R & YILMAZ, M. **Investigation of acute toxicity and the effect of 2,4-D (2,4-dichlorophenoxyacetic acid) herbicide on the behavior of the common carp (*Cyprinus carpio* L., 1758; Pisces, Cyprinidae).** Rev. Chemosphere. Vol. 52. p. 195-201. 2003.

SCHMIDEL, A.S; et al. **Subchronic atrazine exposure changes defensive behaviour profile and disrupts brain acetylcholinesterase activity of zebrafish.** Rev. Neurotoxicology and Teratology. Vol. 44. p. 62-69. 2014.

SEYEDKOLAEI, S.J.G; MIRVAGHEFI, A; FARAHMAND, H; KOSARI, A.A. **Effect of a glyphosate-based herbicide in *Cyprinus carpio*: Assessment of acetylcholinesterase activity, hematological responses and serum biochemical parameters.** Rev. Ecotoxicology and Environmental Safety. Vol. 98. p. 135-141. 2013.

SERRA,E.L; MEDALHA C.C; MATTIOLI, R.**Natural preference of zebrafish (*Danio rerio*) for a dark environment.**Vol. 32. p.1551–1553. 1999.

SHELLEY, L.K; ROSS, P.S; MILLER, K.M; KAUKINEN, K.H; KENNEDY, C.J. **Toxicity of atrazine and nonylphenol in juvenile rainbow trout (*Oncorhynchus***

mykiss): Effects on general health, disease susceptibility and gene expression. Rev. Aquatic Toxicology. Vol. 124-125. p. 217-226. 2012.

SHIOGIRI, N.S; PAULINO, M.G; CARRASCHI, S.P; BARALDI, F.G; CRUZ, C; FERNANDES, M.N. **Acute exposure of a glyphosate-based herbicide affects the gills and liver of the Neotropical fish, *Piaractus mesopotamicus*.** Rev. Environmental Toxicology and Pharmacology. Vol. 34. p. 388-396. 2012.

SINHORIN, V.D.G; SINHORIN, A.P; TEIXEIRA, J.M.S; MILÉSKI, K. M. L; HANSE, P.C; MOREIRA, P. S.A; KAWASHITA, N.H; BAVIERA, A.M; LORO, V. L. **Effects of the acute exposition to glyphosate-based herbicide on oxidative stress parameters and antioxidant responses in a hybrid Amazon fish surubim (*Pseudoplatystoma sp*).** Rev. Ecotoxicology and Environmental Safety. Vol. 106. p. 181-187. 2014.

SMITH, C.M; VERA, M.K.M; BHANDARI, R.K. **Developmental and epigenetic effects of Roundup and glyphosate exposure on Japanese medaka (*Oryzias latipes*).** Rev. Aquatic Toxicology. Vol. 210. p. 215-226. 2019.

SOBJAK, T. M; ROMÃO, S; NASCIMENTO, C.Z; SANTOS, A.F.P; VOGEL, L; GUIMARÃES, A.T.B. **Assessment of the oxidative and neurotoxic effects of glyphosate pesticide on the larvae of *Rhamdia quelen* fish.** Rev. Chemosphere. Vol. 182. p. 267-275. 2017.

SONG, Y. **Insight into the mode of action of 2,4-dichlorophenoxyacetic acid (2,4-D) as an herbicide.** Rev. Journal of Integrative Plant Biology. Vol. 56. p. 106-113. 2014.

SOSO, A. B; BARCELLOS, L.J.G; PAIVA, M.J.R; KREUTZ, L.J.G; QUEVEDO, R.M; ANZILIERO, D; LIMA, M; SILVA, L.B; RITTER, F; BEDIN, A.C; FINCO, J.A. **Chronic exposure to sub-lethal concentration of a glyphosate-based herbicide alters hormone profiles and affects reproduction of female Jundia (*Rhamdia quelen*).** Rev. Environmental Toxicology and Pharmacology. Vol. 23. p. 308-313. 2007.

STARA, A; MACHOVA, J; VELISEK, J. **Effect of chronic exposure to simazine on oxidative stress and antioxidant response in common carp (*Cyprinus carpio* L.).** Rev. Environmental Toxicology and Pharmacology. Vol. 33. p. 334-343. 2012.

STEWART, W.J; CARDENAS, G.S; MCHENRY, M.J. **Zebrafish larvae evade predators by sensing water flow.** Rev. The Journal of Experimental Biology. Vol. 216. p. 388-398. 2013.

SULUKAN, E; KÖKTÜRK, M; CEYLAN, H; BEYDEMIR, S; ISIK, M; ATAMANALP, M; CEYHUM, S.B. **An approach to clarify the effect mechanism of glyphosate on body malformations during embryonic development of zebrafish (*Danio rerio*).** Rev. Chemosphere. Vol. 180. p. 77-85. 2017.

TAVELLA, L.B; SILVA, I.N; FONTES, L.O; DIAS, J.F.M; SILVA, M.I.L. **O uso de agrotóxicos na agricultura e suas consequências toxicológicas e ambientais.** Rev. ACSA - Agropecuária Científica no Semi-Árido. Vol. 07. Nº 02. 2011.

TILLITT, D.E; PAPOULIAS, D.M; WHYTE, J.J; RICHTER, C.A. **Atrazine reduces reproduction in fathead minnow (*Pimephales promelas*).** Rev. Aquatic Toxicology. Vol. 99. p. 149-159. 2010.

TOUGHAN, H; KHALIL, S.R; GHONEIMY, A.A; AWARD, A; SEDDEK, A.S.H. **Effect of dietary supplementation with *Spirulina platensis* on Atrazine induced oxidative stress- mediated hepatic damage and inflammation in the common carp (*Cyprinus carpio* L.).** Rev. Ecotoxicology and Environmental Safety. Vol.149. p. 135-142. 2018.

TSABOULA, A; PAPADAKIS, E.M; VRYZAS, Z; KOTOPOULOU, A; KINTZIKOGLU, K; MOURKIDOU, E.P. **Environmental and human risk hierarchy of pesticides: A prioritization method, based on monitoring, hazard assessment and environmental fate.** Rev. Environemntal International. Vol. 91. p. 78-93. 2016.

VELISEK, J; STARA, A; MACHOVA, J; SVOBODOVA, Z. **Effects of long-term exposure to simazine in real concentrations on common carp (*Cyprinus carpio* L.).** Rev. Ecotoxicology and Environmental Safety. Vol.76. p. 79-86. 2012.

WANG, X; XING, H; JIANG, Y; WU, H; SUN, G; XU, Q; XU, S. **Accumulation, histopathological effects and response of biochemical markers in the spleens and head kidneys of common carp exposed to atrazine and chlorpyrifos.** Rev. Food and Chemical Toxicology. Vol. 62. p. 148-158. 2013.

WANG, S; ZHANG, Q; ZHENG, S; CHEN, M; ZHAO, F; XU, S. **Atrazine exposure triggers common carp neutrophil apoptosis via the CYP450s/ROS pathway.** Rev. Fish and Shelfish Immunology. Vol. 84. p. 551-557. 2019.

WIJNJA, H; DOHERTY, J. J; SAFIE, S.A. **Changes in Pesticide Occurrence in Suburban Surface Waters in Massachusetts, USA, 1999–2010.** Rev. Bull Environ Contam Toxicol. Vol. 93. p. 228-232. 2014.

WIRBISKY, S.E; WEBER, G.J; SEPÚLVEDA, M.S; XIAO, C; CANNON, J.R; FREEMAN, J.L. **Developmental origins of neurotransmitter and transcriptome alterations in adult female zebrafish exposed to atrazine during embryogenesis.** Rev. Toxicology. Vol. 333. p. 156-167. 2015.

WIRBISKY, S.E; WEBER, G.J; SCHLOTMAN, K.E; SEPÚLVEDA, M.S; FREEMAN, J.L. **Embryonic atrazine exposure alters zebrafish and human miRNAs associated with angiogenesis, cancer, and neurodevelopment.** Rev. Food and Chemical Toxicology. Vol. 98. p. 25-33. 2016.

WIRBISKY, S.E; FREEMAN, J.L. **Atrazine exposure elicits copy number alterations in the zebrafish genome.** Rev. Comparative Biochemistry and Physiology, Part C. Vol. 194. p. 1-8. 2017.

XING, H; HAN, Y; LI, S; WANG, J; WANG, X; XU, S. **Alterations in mRNA expression of acetylcholinesterase in brain and muscle of common carp exposed to atrazine and chlorpyrifos.** Rev. Ecotoxicology and Environmental Safety. Vol. 73. p. 1666-1670. 2010.

XING, H; LIU, T; ZHANG, Z; WANG, X; XU, S. **Acute and subchronic toxic effects of atrazine and chlorpyrifos on common carp (*Cyprinus carpio* L.): Immunotoxicity assessments.** Rev. Fish and Shelfish Immunology. Vol. 45. p. 327-333. 2015.

YUSOF, S; ISMAIL, A; ALIAS, M.S. **Effect of glyphosate-based herbicide on early life stages of Java medaka (*Oryzias javanicus*): A potential tropical test fish.** Rev. Marine Pollution Bulletin. Vol. 85. p. 494-498. 2014.

ZEBRAL, Y. D; COSTA, P.G; KNOPP, B.C; LANSINI, L.R; SILVA, B.Z; BIANCHINI, A; ROBALDO, R.B. **Effects of a glyphosate-based herbicide in pejerrey *Odontesthes humensis* embryonic development.** Rev. Chemosphere. Vol. 185. p. 860-867. 2017.

ZEBRAL, Y. D; LANSINI, L.R; COSTA, P.G; ROZA, M; BIANCHINI, A; ROBALDO, R.B. **A glyphosate-based herbicide reduces fertility, embryonic upper thermal tolerance and alters embryonic diapause of the threatened annual fish *Austrolebias nigrofasciatus*.** Rev. Chemosphere. Vol.196. p. 260-269. 2018.

ZHANG, S; XU, J; KUANG, X; LI, S; LI, X; CHEN, D; ZHAO, X, FENG, X. **Biological impacts of glyphosate on morphology, embryo biomechanics and larval behavior in zebrafish (*Danio rerio*).** Rev. Chemosphere. Vol. 181. p. 270-280. 2017.

3 CONSIDERAÇÕES FINAIS

A contaminação dos corpos hídricos por resíduos de agrotóxicos representa um enorme desafio para a saúde pública. Alternativas que visem a diminuição do uso dessas substâncias merecem incentivo e atenção, assim como o monitoramento dos efeitos dessas substâncias presentes no ambiente sob os organismos não-alvo.

No presente estudo demonstramos que, mesmo em baixas concentrações e um tempo de exposição relativamente curto, os agrotóxicos Glifosato e 2,4-D prejudicaram a resposta anti predatória dos peixes, o que pode os deixar susceptíveis a ação dos predadores. Uma falha na resposta anti predatória pode favorecer o predador e causar um desequilíbrio ecológico comprometendo diversos níveis tróficos, e em casos extremos, levar até mesmo a extinção de espécies.

Estudos futuros para avaliar a resposta dos peixes frente a exposição aguda e crônica com concentrações detectadas no ambiente estão sendo projetados. Ainda, planeja-se seguir com os testes da relação presa-predador e avaliar se os efeitos das contaminações com agrotóxicos são persistentes e se passam para as futuras gerações tendo efeito transgeracional.

ANEXOS ou APÊNDICES

Anexo A. Declaração comitê de ética



UNIVERSIDADE DE PASSO FUNDO
VICE-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO
COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS - CEUA

CERTIFICADO

Certificamos que a proposta intitulada "**Impactos de agrotóxicos em comportamentos chave da relação presa-predador em peixes**", registrada com o nº008/2018 sob a responsabilidade de **Leonardo José Gil Barcellos** e que envolve a utilização de animais pertencentes ao filo Chordata, subfilo Vertebrata (exceto humanos) para fins de pesquisa, encontra-se de acordo com os preceitos da Lei nº 11.794 de 8 de outubro de 2008, do Decreto nº 6.899 de 15 de julho de 2009, e com as normas editadas pelo Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal (CONCEA), e foi **aprovado** pela COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS DA UNIVERSIDADE DE PASSO FUNDO (CEUA-UPF), em reunião de 08/05/2018.

Finalidade: Pesquisa

Nº de animais: 1300


Espécie/linhagem/raça: *Danio Rerio (peixe zebra)*

Peso/idade: 0,5 g

Sexo: *Macho e Fêmea* Origem: Laboratório de fisiologia de peixes da FAMV-UPF

Resumo: A contaminação dos corpos hídricos e das águas subterrâneas é um incessante desafio. A agricultura tradicional impulsiona o uso cada vez maior de agrotóxicos para sustentar a produção de alimentos. A utilização dessas substâncias é altamente prejudicial para o meio ambiente, pois causa impactos à fauna e flora ainda desconhecidos. O Brasil, atualmente é o maior consumidor de agrotóxicos do mundo, e o Rio Grande do Sul é o segundo estado que mais consome esses tóxicos no país. A contaminação dos corpos hídricos pelos agrotóxicos tem vários caminhos, desde a aplicação direta em açudes ou rios, Lixiviação das lavouras e lavagem ou descarte incorreto das embalagens. Com isso, os organismos não alvos, como peixes, acabam por ser afetados por essas substâncias. O peixe-zebra tem sido um modelo de ascensão no campo científico, pela sua facilidade de reprodução, alimentação e por 70% dos seus genes serem similares aos mamíferos. Tem sido usado para vários testes em várias áreas do conhecimento desde estudos toxicológicos, neurológicos, farmacológicos, fisiológicos, genéticos e oncológicos. Com o objetivo de avaliar o efeito da contaminação por diferentes agrotóxicos sobre as relações interespecíficas em peixe-zebra, o experimento será realizado no Laboratório de fisiologia de peixes do Hospital Veterinário da Faculdade de Agronomia e Medicina Veterinária (FAMV), na Universidade de Passo Fundo (UPF), campus Passo Fundo. O primeiro experimento se baseará na exposição dos embriões aos agrotóxicos e acompanhamento do seu desenvolvimento inicial com análises dos padrões de mortalidade e eclosão, movimentação espontânea, frequência cardíaca e comportamento. A segunda etapa do projeto será a exposição dos adultos às mesmas concentrações dos embriões e análise do seu repertório comportamental na relação presa-predador. A hipótese a ser testada pelo presente projeto é que os principais agrotóxicos utilizados na classe dos herbicidas, inseticidas e fungicidas prejudicam a capacidade de percepção de risco de predação e/ou a reação à esse risco percebido em larvas e adultos de peixe-zebra.

Passo Fundo, 08 de maio de 2018.


Profa. Ana Cristina Vendrametto Varrone Giacomini
Coordenadora – CEUA – UPF



PPGCiAmb

Programa de Pós-Graduação em Ciências Ambientais
Instituto de Ciências Biológicas - ICB