

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

**EFEITOS DO FIPRONIL E/OU GLIFOSATO SOBRE O COMPORTAMENTO
DO ZEBRAFISH (*Danio rerio*).**

Fabiele Da Costa Chaulet

Passo Fundo, RS, Brasil

2018

Fabiele Da Costa Chaulet

Efeitos Do Fipronil E/Ou Glifosato Sobre O Comportamento
Do Zebrafish (*Danio rerio*).

Dissertação apresentada ao Curso de Mestrado do Programa de Pós-Graduação em Ciências Ambientais, Área de Concentração em Meio Ambiente e Desenvolvimento Sustentável, do Instituto de Ciências Biológicas da Universidade de Passo Fundo (UPF), como requisito parcial para à obtenção do grau de Mestre em Ciências Ambientais

Orientador: LEONARDO JOSÉ GIL BARCELLOS

Coorientadora: MICHELE FAGUNDES

Passo Fundo, RS, Brasil

2018

CIP – Catalogação na Publicação

C497e Chaulet, Fabiele Da Costa
Efeitos do Fipronil e/ou Glofosato sobre o comportamento
do Zebrafish (*Danio rerio*) / Fabiele Da Costa Chaulet. –
2018.
47 f.: il. color. ; 30 cm.

Orientação: Dr. Leonardo Jose Gil Barcellos.
Coorientadora: Dra. Michele Fagundes.
Dissertação (Mestrado em Ciências Ambientais) –
Universidade de Passo Fundo, 2018.

1. Educação ambiental. 2. Recursos hídricos –
Contaminação. 3. Zebrafish (Zebra danio) – Comportamento.
4. Produtos químicos agrícolas. I. Barcellos, Leonardo Jose
Gil, orientador. II. Fagundes, Michele, coorientadora. III.
Título.

CDU: 504:37

Catalogação: Bibliotecária Juliana Langaro Silveira - CRB 10/2427

ATA DE DEFESA DE DISSERTAÇÃO

A Banca Examinadora, abaixo assinada, aprova a Dissertação:

**“Efeitos do fipronil e/ou glifosato sobre o comportamento do Zebrafish
(*Danio rerio*)”**

Elaborada por

FABIELE DA COSTA CHAULET

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

Aprovado em: 25/09/2018
Pela Banca Examinadora


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


Dra. Gessi Koakoski
Universidade de Passo Fundo – UPF/Medicina Veterinária


Profa. Dra. Michele Fagundes

DEDICATÓRIA

Dedico esse trabalho a minha família e meus amigos que sempre acreditaram no meu trabalho e na minha capacidade. Certamente, sem vocês, este dia não seria possível de acontecer. A minha família que é minha base, meu porto seguro e quem eu sigo como exemplo de determinação para planejar e conquistar meus objetivos.

AGRADECIMENTOS

A Deus em primeiro lugar, que em sua infinita bondade, me deu saúde, sabedoria e por todos os dias em que assoprou em meu ouvido para não me deixar desistir.

A família, que sempre esteve presente e aceitou meus momentos de ausência. Pelo apoio de todos os dias, pelo ombro amigo nos momentos de dificuldade, por ser, estar e permanecer como base para todas as conquistas na minha vida.

A segunda família que foram meus amigos, que não desistiram de mim, mesmo com tantos não, tantos momentos que me mantive afastada pela rotina, pelo carinho que sempre tiveram comigo, por serem amigos que amigos, serem irmãos que a vida me deu.

Pela Escola em que trabalho e meus colegas, os quais sempre me ajudaram quando puderam, principalmente em alguns momentos em que não podia me fazer presente, pelo apoio, pela cooperação com minha rotina, pela paciência e amizade.

À minha coordenadora Professora Michele, que sempre esteve presente, me auxiliando, apoiando, escutando, foi mais do que uma coordenadora foi uma amiga.

Ao laboratório de Fisiologia, em que sempre fui muito bem recebida, onde considero como um segundo lar. Lá encontrei ajuda, luz, ideias, colegas que se tornaram amigos, e que sem eles, este momento teria sido muito mais difícil. Agradeço a todos de coração por tudo que fizeram por mim desde que cheguei lá.

Agradeço a Professor Leonardo Barcellos, que sempre se dispôs a ajudar, e sempre colaborou para a construção desse projeto.

Agradeço imensamente a Pós Doutoranda do laboratório Gessi Koakoski, pela sabedoria compartilhada, pela paciência, pela ajuda, pela disposição, pela energia positiva que nunca deixou ninguém desanimar.

Aos fornecedores que apoiaram e acreditaram neste estudo: Universidade de Passo Fundo e CAPES.

Ao Programa de Pós Graduação em Ciências Ambientais, pela oportunidade, aos colegas do Programa, pela amizade, aos Professores do Programa pelo ensinamento e aos Funcionários que sempre se dispuseram a ajudar quando preciso.

Por fim, a todos que de alguma maneira colaboraram para que este dia se tornasse realidade, O meu Muito Obrigada!

EPIGRAFE

A ciência sem a religião é manca, a religião sem a ciência é cega!

Albert Einstein

RESUMO

EFEITOS DO FIPRONIL E/OU GLIFOSATO SOBRE O COMPORTAMENTO DO ZEBRAFISH (*Danio rerio*).

O uso comumente de agrotóxicos vem causando sérias consequências a organismos não alvo. Amplamente utilizados em diversos ambientes – agricultura e em animais domesticados, vem acarretando acumulação em diversos ambientes, sendo potencialmente perigoso para organismos não alvo que são expostos. Em ambientes aquáticos já foi comprovado a incidência de diversos agrotóxicos, sendo encontrados associados ou separados dependendo da época de coleta. Entre os agrotóxicos mais utilizados estão os produtos com princípio ativo Glifosato, um herbicida não seletivo, indicado para o controle de plantas daninhas em todas as culturas como pré dessecação que antecede o plantio ou pós emergência da cultura, e o outro produto é o Fipronil, cuja indicação é para o controle de pragas. É amplamente utilizado em tratamento de sementes e para aplicações aéreas para controle de pragas e em ambientes domésticos para o controle de pulgas e carrapatos. O tempo de meia vida desses produtos fica entre 1 dia, podendo chegar há 1 ano, no meio em que foi utilizado. Devido a isto, os organismos aquáticos podem ser expostos a um ou vários tipos de agrotóxicos diferentes, levantando a questão de que sua associação poderia ou não potencializar os efeitos comportamentais desses organismos. Partindo desse pressuposto, peixes zebrafish adultos foram expostos aos produtos Glifosato e Fipronil, isolados e associados e testados em um aparato, onde se avaliou comportamento a um ambiente novo. Como seu comportamento é bem definido em outros estudos, foram selecionados alguns parâmetros comportamentais como tempo de permanência entre segmentos (fundo, meio e topo), velocidade média, número de rotações, ângulo de virada, os quais serviram como base analisar as consequências dessas contaminações. As concentrações utilizadas dos produtos, foram determinadas tendo como base as alterações morfológicas e comportamentais descritas na literatura. Estas análises mostraram que os produtos isolados alteram o comportamento, ocorrendo uma potencialização nos resultados quando associados e alguns parâmetros não relevantes antes, com a associação dos produtos tiveram alterações significativas.

Palavras-chave: Comportamento, Agrotóxicos, Fipronil, Glifosato.

ABSTRACT

EFFECTS OF FIPRONYL AND / OR GLYPHOSATE ON THE BEHAVIOR OF ZEBRAFISH (*Danio rerio*)

The common use of pesticides has been causing serious consequences for non-target organisms. Widely used in many environments - agriculture and domesticated animals, it has been accumulating in many environments and potentially dangerous for non-target organisms that are exposed. In aquatic environments, the incidence of several pesticides has been proven, being found associated or separated depending on the collection season. Among the most commonly used agrochemicals are the products with active ingredient Glyphosate, a non-selective herbicide, indicated for the control of weeds in all crops, such as pre-dessication prior to planting or post emergence of the crop, and the other product is Fipronil, whose indication is for pest control. It is widely used in seed treatment and aerial applications for pest control and in home environments for flea and tick control. The half-life of these products is between 1 day, and can arrive for 1 year in the environment in which it was used. Because of this, aquatic organisms can be exposed to one or more different types of pesticides, raising the question that their association might or might not enhance the behavioral effects of these organisms. Based on this assumption, adult zebrafish fish were exposed to the products Glyphosate and Fipronil, isolated and associated and tested in an apparatus, where behavior was evaluated to a new environment. As its behavior is well defined in other studies, some behavioral parameters such as residence time between segments (bottom, middle and top), mean velocity, number of rotations, angle of turn were selected, which served as a basis to analyze the consequences of these contaminations. The concentrations of the products used were determined based on the morphological and behavioral changes described in the literature. These analyzes showed that the isolated products alter the behavior, occurring a potentiation in the results when associated and some parameters not relevant before, with the association of the products had significant alterations.

Key words: Behavior, Agrototoxic, Fipronil, Glyphosate.

LISTA DE FIGURAS

- FIGURA 1 - Fêmea adulta de *D. rerio*. Fonte: Laboratório de Reprodução e Desenvolvimento Animal BEG/UFSC 18
- FIGURA 2 - Fórmula estrutural do herbicida glifosato. Fonte: ANVISA, 2013..... 20
- FIGURA 3 - Fórmula estrutural do fipronil. 0Fonte: TINGLE et al., 2003..... 23
- FIGURA 4 - Metabolização do Fipronil (PEI et al., 2004). 23
- FIGURA 5 - Tempo de permanência no segmento topo (A) e fundo (B), número de cruzamentos (C), número de rotação (D) (ANOVA; $p < 0,05$). **Erro! Indicador não definido.**
- FIGURA 6 - Tempo de permanência no segmento topo (A) e fundo (B), número de cruzamentos (C) (ANOVA; $p < 0,05$).....**Erro! Indicador não definido.**
- FIGURA 7 - Tempo de permanência no segmento topo (A) e fundo (B), número de cruzamentos (C), Número de Rotação (D) e Ângulo absoluto de virada (E). (ANOVA; $p < 0,05$).**Erro! Indicador não definido.**

LISTA DE TABELAS

TABELA 1- . Classificação Toxicologica dos agrotóxicos.	20
TABELA 2- – Agroquímicos testados nos efeitos comportamentais do Zebrafish – Danio rerio	Erro! Indicador não definido.
TABELA 3 - Concentração letal do meio ambiente de pesticidas Agrícolas.	Erro! Indicador não definido.
TABELA 4 - – Glifosato: Efeitos da Substancia e Concentrações	Erro! Indicador não definido.
TABELA 5 - Fipronil: Efeitos da Substância e Concentrações	Erro! Indicador não definido.

LISTA DE SIGLAS E ABREVIATURAS

% - Por Cento

ABNT - Associação Brasileira de Normas Técnicas

AChE - Acetilcolinesterase

AMPA - Ácido aminometilfosfônico

ANA - Agência Nacional de Águas

ANVISA - Agência Nacional de Vigilância Sanitária

BEG/UFSC - Laboratório de Reprodução e Desenvolvimento Animal

CEUA - Comitê de Ética em uso Animal

ChE - Colinesterase

CL50 - Concentração Letal média

CONAMA - Conselho Nacional do Meio Ambiente

CONCEA - Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal

DL50 – Dose Letal Média

EDCs – Desregulação Endócrina

EPSPS – enzima 5-enolpiruvilchiquimato-3-fosfato síntase

FIP – Fipronil

g – Grama.

GABA – Ácido gama amino butírico, do inglês *Gamma-Aminobutyric Acid*

GLI – Glifosato

h – Hora.

i.a. – Ingrediente Ativo.

IBAMA - Instituto Brasileiro de Meio Ambiente e dos Recursos Renováveis

IPA - Sal de isopropilamina

Kg – quilograma

L – Litro.

L – Litro.

MAPA – Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento

mg – Miligrama

MMP-2- Metalproteína de matriz 2

NO – Nitrato/Nitrito

OP - Organofosforados

pH – Potencial de Hidrogênio.

POEA - Surfactante polietoxileno-amina

RR - Roundup® Ready

SNC - Sistema Nervoso Central

TSH - Hormônio Estimulante da Tireóide

TTN – Teste de Tanque Novo

UPF – Universidade de Passo Fundo

µg – Micrograma.

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	16
2. REVISÃO DA LITERATURA	17
2.1 PEIXE ZEBRAFISH (<i>Danio rerio</i>) COMO MODELO EXPERIMENTAL.....	17
2.2 O GLIFOSATO, SUA INTERFERENCIA NA CONTAMINAÇÃO AMBIENTAL E A ORGANISMOS NÃO ALVO	19
2.3 FIPRONIL, SUA INTERFERENCIA NA CONTAMINAÇÃO AMBIENTAL E A ORGANISMOS NÃO ALVO	22
CAPITULO 1 - Efeitos Do Fipronil E/Ou Glifosato Sobre O Comportamento Do Zebrafish (<i>Danio rerio</i>).....	Erro! Indicador não definido.
RESUMO	Erro! Indicador não definido.
1. Introdução	Erro! Indicador não definido.
2. Métodos	Erro! Indicador não definido.
2.1 Declaração de ética	Erro! Indicador não definido.
2.2 Materiais e Métodos.....	Erro! Indicador não definido.
2.3 Produtos utilizados.....	Erro! Indicador não definido.
2.4 Exposição.....	Erro! Indicador não definido.
2.5 Protocolo Experimental	Erro! Indicador não definido.
2.6 Estatística	Erro! Indicador não definido.
3. Resultados	Erro! Indicador não definido.
3.1 Experimento 1 – Exposição ao Glifosato.....	Erro! Indicador não definido.
3.2 Experimento 2 – Exposição ao Fipronil	Erro! Indicador não definido.
3.3 Experimento 3 – Exposição com a associação do Glifosato + Fipronil. Erro! Indicador não definido.	
4. Discussão	Erro! Indicador não definido.
5. Conclusão	25
6. Considerações Finais	26
REFERÊNCIAS.....	27

1. INTRODUÇÃO

Com o crescente aumento da população mundial, viu-se a necessidade de aumentar a produção de alimentos. Esta busca constante pelo aumento na produção, também aumentou o uso de agrotóxicos, cuja finalidade é defender a cultura de insetos, ervas daninhas e fungos. Em muitos casos ocorre o uso indiscriminado desses produtos e isso tem resultado em impactos negativos ao meio ambiente principalmente pelos resíduos tóxicos que através da chuva, lixiviação e erosão acabam indo para a água, solo, ar, plantas e animais. Entre os ambientes mais expostos a contaminação, encontramos os ambientes aquáticos, com espécies naturais e não-alvo que são muito suscetíveis a contaminação.

Entre os agroquímicos mais utilizados atualmente no mercado, encontra-se o glifosato, um herbicida pós-emergente e de ação sistêmica, com elevada amplitude de utilização em razão de sua alta eficiência e que serve para controlar as plantas infestantes. Utilizado em diversas culturas, principalmente em culturas que possuem tecnologia resistente ao glifosato (RR) e devido sua facilidade de compra também é muito utilizado em jardins e para controlar plantas infestantes em calçadas e ruas. Outro agroquímico muito utilizado é o inseticida fipronil, do grupo dos fenilpirazois, amplamente utilizado no tratamento de sementes, indicado para proteger a cultura desde a germinação da semente até a emergência das primeiras folhas e comercialmente utilizado em residências para controle de insetos e em animais domésticos para controle de pulgas e carrapatos.

Inúmeras pesquisas relacionadas a toxicidade desses produtos para organismos naturais ou não alvos comprovam as consequências para as espécies não alvo devido a exposição a estes produtos. Estudos em peixe zebrafish (*Danio rerio*) mostraram que o fipronil mesmo com concentrações a partir de 0,01 mg/L causaram degeneração da notocorda, encurtamento do corpo (STEHR et al., 2006; YAN et al., 2016), alteração na atividade cerebral, no fígado e brânquias (BEGGEL et al., 2012; WU et al., 2014), alteração nos parâmetros reprodutivos (BOARU et al., 2013) e aumento de atividade locomotora, ausência de reposta natatória, contrações musculares reduzidas e

descoordenadas (WANG et al., 2016; WANG et al., 2010; STEHR et al., 2006). E testes realizados com glifosato também com concentrações a partir de 0,01 mg/L resultou em alterações comportamentais na velocidade, movimentos espontâneos (ROSA et al., 2006; ZHANG et al., 2017), alteração na expressão gênica (ROY et al., 2016), no DNA dos espermatozoides, redução na integridade da membrana mitocondrial e motilidade espermática (LOPES et al., 2014), alteração oxidativa das brânquias e tecidos do fígado (VELASQUES et al., 2016), alteração no corion de embriões e indução na eclosão prematura (RODRIGUES et al., 2016), diminuição na produção de ovos (WEBSTER et al., 2014) e desequilíbrio e alteração no sistema colinérgico (LOPES et al., 2017).

Nessas pesquisas chamam de biomarcadores ou bioindicadores os organismos testes, que cada vez mais são utilizados nas avaliações de risco ecológico e em ecossistemas aquáticos para identificar a incidência de exposição e efeitos negativos causados por esses contaminantes.

As alterações fisiológicas associadas aos peixes expostos não só fornecem um meio para compreender os níveis de poluição ambiental em termos biológicos, mas também por ser utilizados como um modelo para teste de toxicidade de vertebrados, incluindo seres humanos, servindo também como um excelente biomarcador de toxicidade. Muitos testes comportamentais vem sendo implantando com esta espécie devido suas características morfológicas e genéticas serem homólogas aos seres humanos.

Devido a este grande aumento de poluentes em ambientes aquáticos, nos remete a pergunta: A toxicidade é potencializada quando os organismos são expostos a mais de um produto químico ou diminui devido as alterações que um princípio ativo pode exercer sobre o outro com influência do meio ambiente? Sabe-se que qualquer alteração comportamental, pode apresentar consequências gravíssimas como a extinção de uma espécie.

2. REVISÃO DA LITERATURA

2.1 PEIXE ZEBRAFISH (*Danio rerio*) COMO MODELO EXPERIMENTAL

O uso de biomarcadores em peixes é considerado uma estratégia eficaz para obter informações sobre o estado do ambiente aquático e o efeito dos poluentes nos recursos vivos e são cada vez mais utilizados nas avaliações de riscos ecológicos dos ecossistemas

aquáticos para identificar a incidência de exposição e efeitos causados pelos agrotóxicos (WU et al., 2014).

A utilização de peixes como modelo experimental cresceu consideravelmente em poucas décadas. O peixe zebrafish (Figura 1) foi caracterizado por possuir uma significativa homologia genética e fisiologia com outros vertebrados (HOWE et al., 2013), e por isso tem se tornado muito popular em pesquisas neuro-comportamentais, além de outros benefícios devido a possibilidade de modulação de fatores exógenos e patógenos (GOLDSMITH, 2004).



FIGURA 1 - Fêmea adulta de *D. rerio*. Fonte: Laboratório de Reprodução e Desenvolvimento Animal BEG/UFSC

O zebrafish é um pequeno teleóstéo (3 a 6 cm), da espécie *Danio rerio*, tropical de água doce (SCHNEIDER et al., 2009), com transparência óptica durante a embriogênese e a facilidade de traçar perfis genéticos, o que favoreceu para que nos últimos anos a espécie se tornasse modelo experimental. As principais justificativas para isso decorrem em que o Zebrafish é também muito rentável, com facilidade de reproduzir-se e podem ser alojados em espaços relativamente pequenos (KALUEFF et al., 2013). Tanto larvas como adultos são atualmente utilizados para aumentar a nossa compreensão da função cerebral, disfunção e sua modulação genética e farmacológica (KALUEFF et al., 2013).

Ao contrário dos mamíferos, a fertilização e o desenvolvimento da espécie é externo, seus ovos são "transparentes", o que permite monitorizar os embriões (e seus órgãos), bem como a manipulação desses processos (por exemplo, por injeção de drogas ou genes) in vivo (KALUEFF et al., 2013).

Outra importante característica do zebrafish é o seu elevado potencial fisiológico e genético homólogo com os seres humanos (KALUEFF et al., 2013). Por exemplo, o nucleotídeo dos genes do zebrafish mostram aproximadamente 70% de homologia com os genes humanos e 84% dos genes conhecidos associados com doenças humanas (HOWE et al., 2013).

Este teleóstéo possui grande sensibilidade quando exposto a produtos químicos por ser capaz de absorver de forma rápida os compostos que são diretamente adicionados

a água e acumulá-los em diferentes tecidos, principalmente no Sistema Nervoso Central (GROSELL & WOOD, 2002). Os peixes dependem da quimiorrecepção para os desafios ambientais, como encontrar alimentos, companheiros, agregação ou para evitar predadores (ROSA et al., 2016).

Vários testes de toxicidade com agrotóxicos vêm demonstrando alterações comportamentais e/ou alterações fisiológicas utilizando o zebrafish como modelo experimental. Alterações comportamentais foram demonstradas quando expostos ao Tebuconazole e ao Glifosato (ROSA et al., 2016), e comportamentais e/ou fisiológicas demonstradas ao Glifosato (ARMILIATO et al., 2014; WEBSTER et al., 2014; LOPES et al., 2014; RODRIGUES et al., 2016; VELASQUES et al., 2016; LOPES et al., 2017; ZHANG et al., 2017) e ao Fipronil (MOSER et al., 2015; OHI et al., 2004; UDO et al., 2014; LEGHAIT et al., 2009; STEHR et al., 2006; YAN et al., 2016; BEGGEL et al., 2012; WU et al., 2014; BOARU et al., 2013; WANG et al., 2016; WANG et al., 2010; KÜSTER & ALTENBURGER, 2007; KITULAGODAGE et al., 2011). As bases moleculares da neurobiologia têm sido extensivamente estudadas com esta espécie resultando na caracterização de muitos genes.

No estudo desenvolvido por Armiliato et al. (2014), fêmeas da espécie *D. rerio* foram expostas ao herbicida glifosato e os autores relatam que a concentração regulamentada para os rios do Brasil foi suficiente para causar alterações ultraestruturais e bioquímicas nos ovários dos peixes, sugerindo comprometimento do processo reprodutivo da espécie.

Desta forma, a espécie mostra-se adequada para trabalhos em condições laboratoriais, por ser amplamente reconhecida como um bom modelo para estudos de toxicidade (CARNEY et al., 2006), destacando a importância de pesquisas relacionadas aos aspectos comportamentais de organismos aquáticos expostos a herbicidas e inseticidas, onde o peixe é utilizado como ferramenta para avaliação em que pode-se determinar a importância de mecanismos específicos no desenvolvimento neurológico e que influencia diretamente na sobrevivência da espécie por exemplo, locomoção ou cognição/habituação (KYSIL et al., 2017).

2.2 O GLIFOSATO, SUA INTERFERENCIA NA CONTAMINAÇÃO AMBIENTAL E A ORGANISMOS NÃO ALVO

O glifosato [N- (fosfometil) glicina] que apresenta fórmula molecular $C_3H_8NO_5P$ (Figura 2). É um herbicida pós-emergente de amplo espectro e está entre os

produtos químicos agrícolas amplamente mais utilizados em todo o mundo (ANNETT et al., 2014). Dentre estes, existem variações na formulação do princípio ativo glifosato N-(fosfometil) glicina, onde encontramos o produto Roundup®, cujas propriedades químicas possibilitam que se solubilize facilmente nos ambientes aquáticos (BAIRD e CANN, 2005). Este herbicida não é seletivo e é altamente solúvel em água, e quando aplicado em sistemas terrestres, percorre e infiltra-se no solo, atingindo eventualmente comunidade aquática e, conseqüentemente, organismos não-alvo (TSUI e CHU 2003).

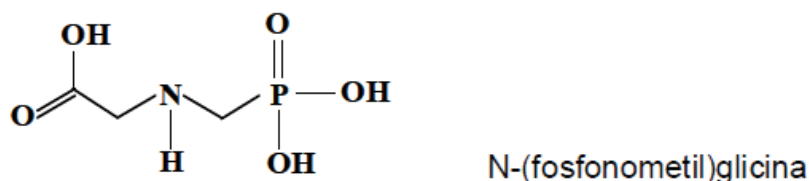


FIGURA 2 - Fórmula estrutural do herbicida glifosato. Fonte: ANVISA, 2013.

Os agrotóxicos organofosforados (OP) possuem em sua estrutura um átomo central de fósforo pentavalente ligado a um átomo de oxigênio ou enxofre, por uma dupla ligação. Tais como os organoclorados, os organofosforados são lipossolúveis, sendo contaminantes potenciais para diversos tipos de alimentos. O modo de ação do glifosato como herbicida consiste na inibição da EPSPS (enzima 5-enolpiruvilchiquimato-3-fosfato síntase), uma enzima-chave envolvida na biossíntese de aminoácidos essenciais de vegetais. (GALLI et al.,2006).

No Brasil o Glifosato está na categoria de classificação toxicológica classe II - altamente tóxico (Tabela 1) (MAPA, 2018), contendo 113 produtos a base desse princípio ativo para o uso na agricultura.

TABELA 1- . Classificação Toxicologica dos agrotóxicos.

Classe Toxicológica	Toxicidade
I	Extremamente Tóxico
II	Altamente Tóxico
III	Mediamente Tóxico
IV	Pouco Tóxico

Fonte: MAPA.

Estudos recentes indicaram uma meia vida média (DT50) de Glifosato de 32 dias (MONSANTO, 2014). Em 2002, a Comissão Européia concluiu uma avaliação do destino

e do comportamento do glifosato no meio ambiente (Comissão Europeia 2002). Sob uma ampla gama de condições climáticas encontradas nos EUA, Canadá e Europa, a meia-vida média para a degradação do glifosato em solo de campo foi relatada como sendo de 30 dias, variando de 1 a 130 dias (GIESY et al., 2000).

A meia-vida do glifosato (o tempo necessário para que metade do composto se dissipe ou se degrade) varia, dependendo das condições. Pensa-se que a variabilidade nas taxas de degradação do glifosato seja devida à atividade microbiana variável e à extensão da ligação ao solo nos diferentes locais de estudo. Detecção de glifosato em níveis muito baixos 3 anos após a aplicação ter sido relatada em um estudo realizado em solos de florestas subárticas na Suécia (TORSTENSSON et al., 1989).

A maioria das formulações comerciais do herbicida glifosato é a base de glifosato de sal de isopropilamina de glifosato (IPA) e um surfactante que é capaz de aumentar a eficácia do herbicida (TSUI e CHU, 2003). Roundup®, é um herbicida à base de glifosato e tem o surfactante polietoxileno-amina (POEA) na sua formulação, que é mais tóxico para os organismos aquáticos do que o glifosato puro (GIESY et al., 2000; TSUI e CHU, 2003).

Com o lançamento da tecnologia em sua a formulação comercial de glifosato Roundup® Ready (RR), desenvolvido especificamente para culturas de soja tolerantes ao glifosato que foram geneticamente modificadas (Culturas RR), iniciou a comercialização no Brasil (CTNBio, 2008). Essa soja foi criada com a introdução do gene AroA de *Agrobacterium* que codificam uma variante EPSPS (CP4 EPSPS). Esta formulação consiste em 64,8% de IPA que inclui 48% de glifosato associado a 59,4% de compostos inertes (Incluindo POEA numa composição desconhecida). Enquanto ao RR a toxicidade da formulação foi medida em seres humanos e pequenos mamíferos, não houve estudos em animais aquáticos, como os peixes, em áreas neotropicais (SHIOGIRIA et al 2012).

O glifosato é usado para alterar diferentes processos bioquímicos vitais em plantas, como a biossíntese de aminoácidos aromáticos, proteínas e ácidos nucleicos (SHIOGIRIA et al 2012). A principal via de biodegradação do glifosato envolve a clivagem da molécula do glifosato, produzindo o ácido aminometilfosfônico (AMPA) e em seguida água, dióxido de carbono e fosfato (SCHUETTE, 1998).

Vários estudos abordaram os efeitos dos herbicidas à base de glifosato em organismos não-alvo, como os peixes e os testes realizados mostraram aumento das atividades locomotoras e alteração de comportamentos dos organismos (ZHANG et al., 2017); neurotoxicidade para as regiões do prosencéfalo e reguladores da expressão

genética chaves no desenvolvimento (ROY et al., 2016); induziu um aumento significativo no diâmetro dos oócitos I pré-telogênicos em comparação com ovários de fêmeas não expostas; Fêmeas expostas apresentaram uma maior expressão, que pode ser o fator responsável pelo aumento no diâmetro dos oócitos (ARMILIATO et al., 2014); alteração na velocidade de natação e no número de rotações do corpo (ROSA et al., 2016); afetou o corion de embriões e induziram eclosão prematura em embriões (RODRIGUES et al., 2016); produção de ovos por fêmeas com exposição de 10 dias (WEBSTER et al., 2014); desequilíbrio e alteração no sistema colinérgico (relacionado a dor) (LOPES et al., 2017); perturbação no estado oxidativo das brânquia e tecidos do fígado (VELASQUES et al., 2016); mal formação das larvas (ZHANG et al., 2017); edema no pericárdio, edema no saco vitelino, mal formação na cauda (curta) e mal formação na cabeça (SULUKAN et al., 2017); efeitos nocivos sobre os parâmetros reprodutivos de *D. rerio* machos, tais como DNA de esperma, reduzindo a integridade da membrana mitocondrial e funcionalidade, e diminuição da motilidade espermática e a motilidade período (LOPES et al., 2014).

Diante disso a necessidade da continuação de estudos com diferentes avaliações e critérios que apontem e comprovem as consequências para o meio ambiente da utilização de águas tóxicas.

2.3 FIPRONIL, SUA INTERFERENCIA NA CONTAMINAÇÃO AMBIENTAL E A ORGANISMOS NÃO ALVO

Desde a sua descoberta no final dos anos 80, pesticidas neonicotinóides tornaram-se os mais amplamente utilizados classe de inseticidas em todo o mundo (SIMON et al., 2014), com aplicações em grande escala. Membro da classe de inseticidas fenilpirazol e foi lançado no mercado em 1987 (MANDAL et al., 2013). Foi desenvolvido pela Aventis (Paris, França), utilizado para o controle de uma variedade de insetos foliares e do solo, como gafanhotos de arroz, de ervilhas, de videira, para cupins e formigas negras em agricultura, silvicultura e ambientes urbanos (QU et al., 2016).

No Brasil o fipronil está na categoria de classificação toxicológica classe II - altamente tóxico (Tabela 1) (MAPA, 2018) contendo 48 produtos comercializáveis autorizados a base desse princípio ativo para o uso na agricultura.

O inseticida quiral, o fipronil, (C₁₂H₄Cl₂F₆N₄O₂S), cujo nome químico é 5-amino-1-[2,6-dicloro-4-(trifluorometil) fenil]-4-[(trifluorometil) sulfinil]-1H-pirazol-3-carbonitrila – Figura 3) (CONNELLY, 2001) é um pesticida derivado quimicamente da

família do fenilpirazol, considerado de segunda geração, altamente ativo e de amplo espectro (WILDE et al., 2001), o fipronil contém uma porção trifluorometilsulfinil que é única entre os agroquímicos e, portanto, presumivelmente importante em seu excelente desempenho (HAINZL e CASIDA, 1996).

É amplamente utilizado em culturas de algodão, arroz e milho, bem como em manejo de gramíneas e controle residencial de pragas nos últimos 20 anos. Embora os benefícios tenham sido derivados de o uso de fipronil, pode representar um risco para o meio aquático (QIAN et al., 2017).

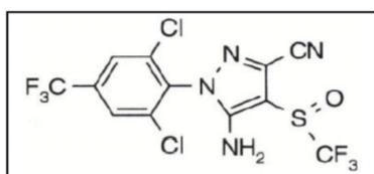


FIGURA 3 - Fórmula estrutural do fipronil. 0Fonte: TINGLE et al., 2003

O fipronil e seus derivados estão sendo cada vez mais detectados em ecossistemas aquáticos como resultado do uso generalizado. A degradação do fipronil resulta na formação de metabólitos desulfinil, sulfato de fipronil e sulfonato de fipronil (Figura 4) por via abiótica e processos bióticos no meio aquático (DORAN et al., 2009).

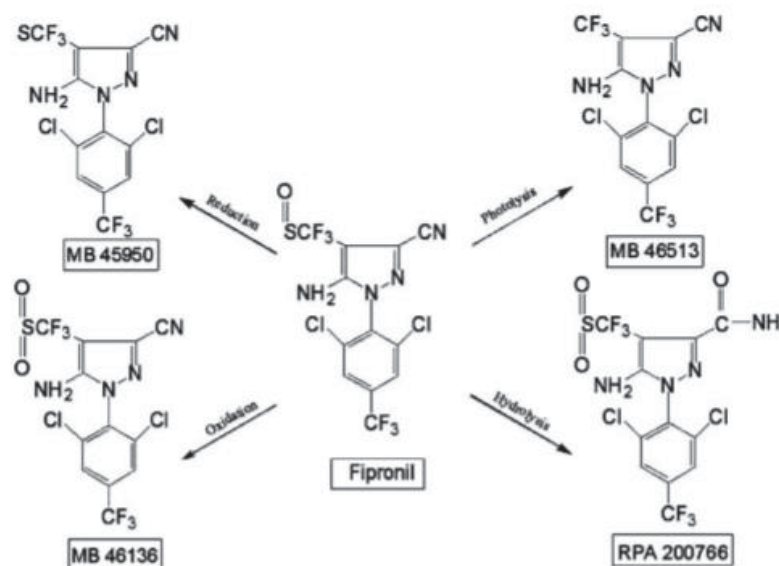


FIGURA 4 - Metabolização do Fipronil (PEI et al., 2004).

Outros estudos com a degradação do fipronil que resultou desses três metabólicos, foram testados individualmente como mostrou o trabalho de HAINZL e CASIDA (1996)

onde fotoprodutos aplicados individualmente (dessulfinil, detri-fluorometilsulfinil, sulfeto e sulfona) eram muito estáveis.

Assim, mostrou que o desulfinilfipronil seja o maior resíduo persistente em culturas tratadas com folhagem. Estudos em ratos mostrou que o principal e quase metabolito exclusivo de fipronil é a sulfona que aparece no cérebro, fígado, rim, gordura e fezes, como apontou outros estudos mais recentes, onde foi demonstrado que o fipronil causou estresse oxidativo induzido em rim e cérebro de camundongos (BADGUJAR et al., 2015), exposição oral de 30 mg/kg/dia de fipronil causou hipertensão e alteração em biomarcadores que são relacionados regulação da pressão arterial (CHAGURI et al., 2016).

Outros estudos que verificaram a ocorrência de subprodutos do fipronil em áreas residenciais urbanas, mostrou também ser uma fonte de contaminação áquatica. Na Califórnia, níveis de fipronil e seus derivados no escoamento residencial, foram suficientemente alta para causar preocupações ecotoxicológicas (GAN et al., 2012). As concentrações medianas de fipronil e seus três derivados na área do sul da Califórnia foram de 200 a 440 ng/L – 1, em que esses níveis detectados excederam CL50 para camarão-mijo (0,14 µg/L – 1) ou camarão de capim (0,32 µg L – 1) (GAN et al., 2012).

Uma vez detectado em água de escoamento, pode ser diluída com outras fontes de água contaminada e a toxicidade aquática real de fipronil e os seus metabolitos podem variar em respostas as condições submetidas. Uma vez no sedimento, esses derivados de tendem a ser altamente persistentes, com meia-vida > 7 meses em condições aeróbicas (oxigênio) e > 1 ano sob condições anaeróbicas (anóxicas) (LIN, et al., 2009).

Percebe-se por tanto que o escoamento residencial representa um cenário único de contaminação. Embora, a ocorrência de fipronil e seus derivados no escoamento induzido pela irrigação são o ano todo, com níveis mais elevados nos meses quentes. A fonte difusa, juntamente com a contaminação sustentada, apresenta um grande desafio para a mitigação (GAN et al., 2012).

É importante ressaltar que evidências recentes demonstraram que o fipronil pode ser um potente tóxico que afeta os organismos não visados, incluindo populações de espécies e potencialmente os humanos (FAOUDER et al., 2007) e efeitos deletérios foram observados no início do desenvolvimento animal (UDO et al., 2014; BADGUJAR et al., 2015; TERÇARIOL E GODINHO, 2011). Esses estudos sugerem que a endotelina-1 pode ter papel na hipertensão induzida pelo fipronil em ratos e também, as reduções de

ambos MMP-2 (Metalproteína de matriz 2) e NO (Nitrato/nitrito) contribuem para a elevação da pressão arterial sistólica observado com fipronil (CHAGURI et al., 2016).

Este produto garante a seletividade aos insetos o que tem sido atribuída à inibição de canais de cloro, resultando em excitação neural descontrolada e, eventualmente, a morte do inseto (JACKSON et al., 2009), com mamíferos e organismos não alvo a toxicidade resulta em sintomas e complicações tipicamente associados com o bloqueio da função do receptor GABA, os efeitos adversos não relacionados ao modo de ação do fipronil tem sido relatado em estudos experimentais com ratos, uma vez que doses baixas de fipronil revelaram toxicidade reprodutiva (MOSER et al., 2015; OHI et al., 2004), comportamento materno perturbado (UDO et al., 2014) e perturbação da função tireoidiana (LEGHAIT et al., 2009), em peixes observou-se degeneração da notocorda, encurtamento do corpo (STEHR et al., 2006; YAN et al., 2016), alteração na atividade cerebral, no fígado e brânquias (BEGGEL et al., 2012; WU et al., 2014), alteração nos parâmetros reprodutivos (BOARU et al., 2013) e aumento de atividade locomotora, ausência de reposta natatória, contrações musculares reduzidas e descoordenadas (WANG et al., 2010; WANG et al., 2016; STEHR et al., 2006).

No entanto, é essencial utilizar diferentes instrumentos e critérios para avaliar a influência dos poluentes aquáticos, principalmente para efeitos subletais (ARMILIATO et al., 2014), já que conseqüentemente, os resíduos de fipronil e seus derivados agora são frequentemente detectados em águas e ecossistemas em todo o país (NILLOS et al., 2009).

5. Conclusão

O produto Glifosato (Roundup®) e Fipronil, quando usados isolados ou associados, tiveram efeitos sobre o comportamento dos peixes adultos do Zebrafish. Os efeitos destes produtos mostraram um aumento nas atividades locomotoras dos peixes, tendo efeitos excitatórios, demonstrados pela diminuição do tempo de permanência no segmento de fundo e o aumento de tempo gasto no segmento de topo, o que sugere que estes produtos diminuam seu comportamento exploratório, tendo efeito ansiolítico para estes animais, podendo alterar o comportamento natural e afetar a procura por parceiros e pela disputa de recursos.

6. Considerações Finais

O comportamento de natação é ponto chave para avaliação de estresse e um ponto final comum para estimar o efeito de contaminantes aquáticos nos peixes. A capacidade de evitar e escapar de predadores são comportamentos claramente relevantes da perspectiva ecológica e interferem diretamente na sobrevivência dos organismos. Uma sociedade consciente e informada é a chave para que os setores produtivos adotem ações que garantam a produção de alimentos mais saudáveis, de forma sustentável e que respeitem os ecossistemas e a manutenção da vida.

REFERÊNCIAS

- ABREU, M.S., GIACOMINI, A.C.V.V., KALUEFF, A.V. BERCELLOS, L.J.G. The smell of “anxiety”: Behavioral modulation by experimental anosmia in zebrafish. **Physiology & Behavior** 157, 67–71, 2016.
- ALMEIDA, A. S.; CARVALHO, I.; DEUNER, C.; TILLMANN, M. A. A.; VILLELA, F. A. Bioativador no desempenho fisiológico de sementes de arroz. **Revista Brasileira de Sementes**, vol. 33, n.3, p.501-510, 2011.
- ANNETT, R., HABIBI, H.R., HONTELA, A. Impact of glyphosate and glyphosate-based herbicides on the freshwater environment. **J. Appl. Toxicol**, 34: 458–479, 2014.
- ARMILIATO, N., AMMAR, D., NEZZI, L., STRALIOTTO, M., MULLER, Y. M. R. & NAZARI, E. M. Changes in Ultrastructure and Expression of Steroidogenic Factor-1 in Ovaries of Zebrafish *Danio rerio* Exposed to Glyphosate. **Journal of Toxicology and Environmental Health, Part A**, 77:405–414, 2014. DOI:10.1080/15287394.2014.880393
- BADGUJAR, P.C., PAWAR, N.N., CHANDRATRE, G.A., TELANG, A.G., SHARMA, A.K. Fipronil induced oxidative stress in kidney and brain of mice: protective effect of vitamin E and vitamin C. **Pestic. Biochem. Physiol.** 118, 10–18, 2015.
- BAIRD, C.; CANN, M. Environmental Chemistry. 2. **Nova Yorker: Freeman**, 2005.
- BALBA, H. Review of strobilurin fungicide chemicals. **J. Environ. Sci. Health. Part. B.** 42(4):441-51, 2007.
- BEDIANTA, P.B., HORSAKB, R.D., SCHLENKC, D., HOVINGAA, R.M., PIERSONA, J.D. Environmental impact of fipronil to the Louisiana crawfish industry. **Environ. Orensics**, 2001.
- BEGGEL, S., WERNER, I., CONNON, R.E., GEIST, J.P. Impacts of the phenylpyrazole insecticide fipronil on larval fish: time-series gene transcription responses in fathead minnow (*Pimephales promelas*) following short-term exposure. **Sci. Total Environ.** 426, 2012.
- BOARU, A. MAHDY, C.I. BOGDAN, G. The effect of fipronil on some reproduction parameters of zebrafish (*Danio rerio*). **AAFL Bioflux**, V. 6. 2013.
- BOBÉ, A.; COSTE, C.M. & COOPER, J. Factors influencing the absorption of fipronil on soils. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, 45: 4861-4865, 1997.
- BONI, F., B., CARVALHO, I., R., NARDINO, M., FERRARI, M., DEMARI, G., H., SZARESKI, V., J., PELEGRIN, A., J., SANTOS, N., L., SANTOS, O., P., SOUZA, V.,

Q. Qualidade fisiológica de sementes e rendimento de grãos da cultivar puita inta CI®. **Revista Sodebras**, v. 11, 2016.

BRASIL. Resolução Conama, Nº 357, de 17 de março de 2005: Dispõe sobre a classificação dos corpos de água e diretrizes ambientais para o seu enquadramento, bem como estabelece as condições e padrões de lançamento de efluentes, e dá outras providências. **Diário Oficial da União**, v. 18, n. 03, p. 1-9, 2005.

BRIDI, D. ALTENHOFEN, S. GONZALEZ, J.B. REOLON, G.K. BONAN, C.D. **Glyphosate and Roundup® alter morphology and behavior in zebrafish**. *Toxicology*, 2017.

CARNEY, S. A. et al. Understanding dioxin developmental toxicity using the zebrafish model. **Birth Defects Research Part A: Clinical and Molecular Teratology**, v. 76, n. 1, p. 7-18, 2006.

CECCON, G.; RAGA, A.; DUARTE, A.P.; SILOTO, R.C. Efeito de inseticidas na semeadura sobre pragas iniciais e produtividade de milho safrinha em plantio direto. **Bragantia**, v.63, n.2, p.227-237, 2004.

CHAGURI, J.L., GODINHO, A.F., HORTA, D.F., RIZZI, V.H.G., VIEIRA, J.S.P., NASCIMENTO, R.A. DIAS, C.A. Exposure to fipronil elevates systolic blood pressure and disturbs related biomarkers in plasma of rats. **Environmental Toxicology and Pharmacology**, 2016.

CHANDLER, G.T., CARY, T.L., VOLZ, D.C., WALSE, S.S., FERRY, J.L., KLOSTERHAUS, S.L. Fipronil effects on estuarine copepod (*Amphiascus tenuiremis*) development, fertility, and reproduction: a rapid life-cycle assay in 96-well microplate format. *Environ. Toxicol. Chem.* 23, 117e124. 2004.

CHEN, W., GAO, R., XIE, X.N., ZHENG, Z.B., LI, H.J., SONG, L., DONG, F.T., WANG, L.L. A metabolomic study of the PPAR δ agonist GW501516 for enhancing running endurance in Kunming mice. **Sci. Rep.** 5, 09884, 2014. DOI: <http://dx.doi.org/10.1038/srep09884>.

CONNELLY, P. Environmental Fate of Fipronil. Calif. Environ. Protec. **Ag. California**, EUA, 2001.

CTNBio – **Comissão Técnica Nacional de Biossegurança**. Available at: <http://www.ctnbio.gov.br/> (accessed on 19.12.08).

DORAN,G. EBERBACH,P. HELLIWELL,S. Sorption and Degradation of Fipronil in Flooded Anaerobic Rice Soils. **J. Agric. Food Chem.** 57, 10296–10301, 2009. DOI:10.1021/jf902644x

EVRON T, GREENBERG D, MOR TS, SOREQ H. Adaptive changes in acetylcholinesterase gene expression as mediators of recovery from chemical and biological insults. **Toxicology**. 233:97–107, 2007.

FAOUDER,L.J., BICHON, E., BRUNSCHWIG, P., LANDELLE, R., ANDRE, F., LE BIZEC, B. Transfer assessment of fipronil residues from feed to cow milk. **Talanta** 73 (4), 710–717, 2007.

GALLARDO, K.C., VERBEL, J.O., FREEMAN, J.L. Toxicogenomics to Evaluate Endocrine Disrupting Effects of Environmental Chemicals Using the Zebrafish Model. **Curr Genomics**. 17, 515-527, 2016. DOI: 10.2174/1389202917666160513105959

GALLI, A. Utilização de técnicas eletroanalíticas na determinação de pesticidas em alimentos. **Química Nova**. v. 29, n. 1, p. 105- 112, jan/fev. 2006.

GAN J, BONDARENKO S, OKI L, HAVER D, LI J. Occurrence of fipronil and its biologically active derivatives in urban residential runoff. **Environ Sci Technol** 2012. <http://dx.doi.org/10.1021/es202904x>.

GASSEN, D. N. Manejo de pragas associadas à cultura do milho. Passo Fundo: **Aldeia Norte**, 1996.

GHOSH, S., STRUM, J.C., BELL, R.M. Lipid biochemistry: functions of glycerolipids and sphingolipids in cellular signaling. **FASEB J**. 11, 45e50, 1997.

GIESY, J.; DOBSON, S.; SOLOMON, K. Ecotoxicological Risk Assessment for Roundup® Herbicide. In: WARE, G. (Ed.). **Reviews of Environmental Contamination and Toxicology**: Springer New York, v.167,. cap. 2, p.35-120, 2000.

GOLDSMITH, P. Zebrafis as a phamacological tool: the how, why and when, **Curr Opin Pharmacol**, 2004.

GONÇALVES, A.F. NEVES, J.V. COIMBRA, J. RODRIGUES, P. VIJAVAN, M.M. WILSON, J.M. Cortisol plays a role in the high environmental ammonia associated suppression of the immune response in zebrafish. **General and Comparative Endocrinology**, 2017. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.ygcen.2017.02.016>

GRILLNER, S. The motor infrastructure: from ion channels to neuronal networks. **Nat. Rev. Neurosci**. 2003.

GROSELL, M.; WOOD, C. M. Copper uptake across rainbow trout gills mechanisms of apical entry. **Journal of Experimental Biology**, v. 205, n. 8, p. 1179-1188, 2002.

GRUNEWALD K, SCHMIDT W, UNGER C, HANSCHMANN G. Behavior of glyphosate and aminomethylphosphonic acid (ampa) in soils and water of reservoir Radeburg II catchment (Saxony/Germany). **J. Plant Nutr. Soil Sci**. 164: 65–70, 2001.

GUEST,T.W. BLAYLOCK,R.B. EVANS,A.N. Development of a modified cortisol extraction procedure for intermediately sized fish not. **Fish Physiol Biochem**. 2015. DOI: <http://doi.org/10.1007/s10695-015-0111-4>

HAINZL,D. And CASIDA, J.E. Fipronil insecticide: Novel photochemical desulfinylation with retention of neurotoxicity. **Agriculture Sciences**, 1996.

HOWE, K. et al. **The zebrafish reference genome sequence and its relationship to the human genome**. Nature, 2013.

JACKSON, D., CORNELL, C.B., LUUKINEN, B., BUHL, K., STONE, D. Fipronil technical fact sheet. **National Pesticide Information Center**, Oregon State, pp. 1–3, 2009.

KALUEFF,A.V. STEWART,A.M. GERLAI, R. Zebrafish as an emerging model for studying complex brain disorders. **TIPS-1107, Elsevier Ltd. All rights reserved.** 2013. DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.tips.2013.12.002>

KITULAGODAGE, M., ISANHART, J., BUTTEMER, W.A., HOOPER, M.J., ASTHEIMER, L.B. Fipronil toxicity in northern bobwhite quail *Colinus virginianus*: reduced feeding behaviour and sulfone metabolite formation. **Chemosphere**, 83,524–530, 2011.

KREUTZ LC, BARCELLOS LJG, SILVA TO, ANZILIERO D, MARTINS D, LORENSON M, ET AL. Acute toxicity test of agricultural pesticides on silver catfish (*Rhamdia quelen*) fingerlings. **Ciência Rural**.38:1050e5, 2008.

KÜSTER, E; ALTENBURGER, R. Sub organismic and organismic effects of Aldicarb and its metabolite Aldicarb-sulfoxide to the zebrafish embryo (*D. rerio*). **Chemosphere**, 68 751–760, 2007.

KYSIL, E.V. MESHALKINA, D.A. FRICK, E.E. ECHEVARRIA,D.J Comparative analyses of zebrafish Anxiety-like behavior using conflict-based novelty tests. **Article in Zebrafish**. 2017. DOI: 10.1089/zeb.2016.1415

LEGHAIT, J., GAYRARD, V., PICARD-HAGEN, N., CAMP, M., PERDU, E., TOUTAIN, P.L., VIGUIÉ, C. Fipronil-induced disruption of thyroid function in rats is mediated by increased total and free thyroxine clearances concomitantly to increased activity of hepatic enzymes. **Toxicology**, 2009.

LEVIN ED, BENCAN Z, CERUTTI DT: Anxiolytic effects of nicotine in zebrafish. **Physiology & behavior**. 2007.

LIN, K. D.; HAVER, D.; OKI, L.; GAN, J. Persistence and sorption of fipronil degradates in urban stream sediments. **Environ. Toxicol. Chem.** 28, 1462–1468, 2009.

LOPES, F.M. CALDAS,S.S. PRIMEL,E.G. ROSA,A.E. Glyphosate Adversely Affects *Danio rerio* Males: Acetylcholinesterase Modulation and Oxidative Stress. **Article in Zebrafish**. 14(2): 97-105, 2016. DOI:10.1089/zeb.2016.1341.

LOPES, F.M. JUNIOR, A.S.V. CORCINI, C.D. SILVA, A.C. GUAZZELI, V.G. TAVARES, G. ROSA, C.E. Effect of glyphosate on the sperm quality of zebrafish *Danio rerio*. **Aquatic Toxicology** 155, 322–326. 2014. DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.aquatox.2014.07.006>

LOPEZ-CORCUERA, B., GEERLINGS, A., ARAG_ON, C. Glycine neurotransmitter transporters: an update. **Microbiol. Mol. Biol. Rev.** 18, 13e20. 2001.

LUSHCHAK OV, KUBRAK OI, STOREY JM, STOREY KB, LUSHCHAK VI. Low toxic herbicide Roundup induces mild oxidative stress in goldfish tissues. **Chemosphere** 76: 932–937. 2009.

MANDAL, K. SINGH, B. Persistence of fipronil and its metabolites in sandy loam and clay loam soils under laboratory conditions. **Chemosphere** 91, 1596–1603, 2013.

- MENSAH, P. K., MULLER, W. J., and PALMER, C. G. Acute toxicity of Roundup(R) herbicide to three life stages of the freshwater shrimp *Caridina nilotica* (Decapoda: Atyidae). **Phys. Chem. Earth** 36: 905–909, 2011.
- MENTEN, J. O.; MORAES, M. H. D. Tratamento de sementes: histórico, tipos, características e benefícios. **Informativo ABRATES**, vol. 20, n.3, p.52-53, 2010. N° 126, 2016
- MONSANTO. Backgrounder: Glyphosate Half-Life in Soil. 2005.
- MORAES, P.V.D.; ROSSI, P.; Comportamento ambiental do Glifosato. **Scientia Agraria Paranaensis**. V. 9, N° 3, p 22-35, 2010.
- MOSER, V.C., STEWART, N., FREEBORN, D.L., CROOKS, J., MACMILLAN, D.K., HEDGE, J.M., WOOD, C.E., MCMAHEN, R.L., STRYNAR, M.J., HERR, D.W. Assessment of sérum biomarkers in rats after exposure to pesticides of different chemical classes. **Toxicol. Appl. Pharmacol.** 282 (2), 161–174. 2015.
- NILLOS, M. G., LIN, K., GAN, J., BONDARENKO, S. e SCHLENK, D. Enantioselectivity In Fipronil Aquatic Toxicity And Degradation. **Environmental Toxicology and Chemistry**, Vol. 28, No. 9, pp. 1825–1833, 2009
- OHI, M.; DALSENTER, P. R.; ANDRADE, A. J.; NASCIMENTO, A. J. Reproductive adverse effects of fipronil in Wistar rats. **Toxicology Letters**, v.146, p. 121-127. 2004. <http://dx.doi.org/10.1016/j.toxlet.2003.08.008>
- ORUC, EO, USTA D. Evaluation of oxidative stress responses and neurotoxicity potencial of diazinon in different tissues of *Cyprinus carpio*. **Environ Toxicol Pharmacol.** 23: 48–55, 2007.
- OSTERBERG, J. S. et al. Acute toxicity and sub-lethal effects of common pesticides in post-larval and juvenile blue crabs, *Callinectes sapidus*. **Journal of Experimental Marine Biology and Ecology**, v. 424–425, n. 0, p. 5-14, 2012.
- PEI, Z. YITONG, L. BAOFENG, L. GAN, J.J. Dynamics of fipronil residue in vegetable-field ecosystem. **Chemosphere** 57, 2004.
- PELAEZ, V.; TERRA, F. H. B.; SILVA, L. A regulamentação dos agrotóxicos no Brasil: entre o poder de mercado e a defesa da saúde e do meio ambiente. **Revista de Economia**, Curitiba, 26p, 2010.
- PERES, F.; MOREIRA, J. C. (org.). É veneno ou é remédio? Agrotóxicos, saúde e ambiente. Rio de Janeiro: **Editora Fiocruz**, 2003.
- PERES, F.; MOREIRA, J.C. ; DUBOIS, G.S. Agrotóxicos, saúde e ambiente: uma introdução ao tema. In: É veneno ou é remédio? Agrotóxicos, saúde e ambiente. PERES, F. (Org.). Rio de Janeiro: **Editora Fiocruz**, p. 21-42, 2003.
- QIAN, Y., WANG,C., WANG, J., ZHANG. X., ZHOU, Z., ZHAO. M., LU, C. Fipronil-induced enantioselective developmental toxicity to zebrafish embryo-larvae involves changes in DNA methylation. **Scientific Reports**, 2017. DOI:10.1038/s41598-017-02255-5

QU, H., MA, R.-X., LIU, D.-H., GAO, J., WANG, F., ZHOU, Z.-Q., WANG, P., Environmental behavior of the chiral insecticide fipronil: Enantioselective toxicity, distribution and transformation in aquatic ecosystem, **Water Research**. 2016. DOI: 10.1016/j.watres.2016.08.063.

RAMBOW, C.; PANICHI, V. B. S.; FIGUEIREDO, J. A. S. Risco: a percepção da comunidade ribeirinha do Rio dos Sinos em relação ao uso de defensivos agrícolas. **Revista Eletrônica em Gestão, educação e tecnologia Ambiental (REGET)** - v. 18 n. 2 Mai-Ago, p.796-802, 2014.

RODRIGUES,L.B. OLIVEIRA,R. ABE,F.R. BRITO,L.B. MOURA,D.S. VALADARES,M.C. GRISOLIA,C.K., OLIVEIRA,D.P., OLIVEIRA,J.A.R. Ecotoxicological Assessment Of Glyphosate-Based Herbicides: Effects On Different Organisms. **Environmental Toxicology and Chemistry**. 2016. DOI 10.1002/etc.3580

ROSA, J.G.S., GIACOMINI, A.C.V., KOAKOSKI, G., KALICHAK, F., OLIVEIRA, T. A., BARCELLOS, H.H.A., BARRETO, MURILO, S., A., BARCELLOS, L.J.G. Fish Aversion and Attraction to Selected Agrichemicals. **J. Environ. Contam. Toxicol.** V.7:415–422. 2016. DOI: 10.1007/s00244-016-0300-x

ROY, N.M. CARNEIRO, B. OCHS, J. Glyphosate induces neurotoxicity in zebrafish. **Environmental Toxicology and Pharmacology**.42, 45–54, 2016. DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.etap.2016.01.003>

SACHS, I. Ecodesenvolvimento: Crescer sem destruir. São Paulo: **Vértice**, 1986.

SANDRINI J.Z, ROLA R.C, LOPES FM, BUFFON HF, FREITAS MM, MARTINS CMG, ROSA CE. Effects of glyphosate on cholinesterase activity of the mussel *Perna perna* and the fish *Danio rerio* and *Jenynsia multidentata*: In vitro studies. **Aquat. Toxicol.** 130-131: 171–173. 2013

SCHNEIDER, A. C. R. et al. Implementação de um Novo Modelo de Experimentação Animal-Zebrafish. **Clinical and Biomedical Research**, v. 29, n. 2, p. 100-103, 2009.

SCHUETTE, J. Environmental Fate Of Glyphosate. **Environmental Monitoring & Pest Management Department of Pesticide Regulation Sacramento, CA 95824-5624**. 1998.

SHIMOMURA, Y., YAMAMOTO, Y., BAJOTTO, G., SATO, J., MURAKAMI, T., SHIMOMURA, N., KOBAYASHI, H., MAWATARI, K. Nutraceutical effects of branched-chain amino acids on skeletal muscle. **J. Nutr.** 136, 5295e5325. 2006.

SHIOGIRIA, N.S. PAULINO, M.G. CARRASCHIC 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*. **Environ Toxicology and Pharmacology**, pg 34, 388–396, 2012.

SILVA, R.O. JUNIOR, R.P.S. BONFÁ, M.R.L. CAMPANARI, M.F.Z. MENDES, I.C. Degradation and sorption of fipronil and atrazine in Latossols with organic residues from sugarcane crop. **Ciência Rural, Santa Maria**, v.46, n.7, p.1172-1177, 2016. DOI: <http://dx.doi.org/10.1590/0103-8478cr20150696>

SIMON, D., N., AMARAL, R., V., BELZUNCES, L., P., BONMATIN, J., M., CHAGNON, M., DOWNS, C., FURLAN, L., GIBBONS, D., W., GIORIO, C., GIROLAMI, V., GOULSON, D., KREUTZWEISER, D., P., KRUPKE, C., H., LIESS, M., LONG, E., MCFIELD, M., MINEAU, P., MITCHELL, E., A., D., MORRISSEY, C., A., NOOME, D., A., PISA, L., SETTELE, J., STARK, J., D., TAPPARO, A., VAN D., H., VAN P., J., VAN S., J., P., WHITEHORN, P., R., WIEMERS, M. Systemic insecticides (neonicotinoids and fipronil): trends, uses, mode of action and metabolites. **Environ Sci Pollut Res**, 2014. DOI: 10.1007/s11356-014-3470-y

SINK TD, KUMARAN S, LOCHMANN RT. Development of a whole-body cortisol extraction procedure for determination of stress in golden shiners, *Notemigonus crysoleucas*. **Fish Physiol Biochem** 33:189–193, 2007.

STEHR, C.M. LINBO, T.L. INCARDONA, J.P. SCHOLZ, N.L. The Developmental neurotoxicity of fipronil: Notochord Degeneration and locomotor defects in Zebrafish embryos larvae. **Toxicological Sciences** 92, 270-278. 2006. Doi: 10.1093/toxsci/kfj185

STEWART A, CACHAT J, WONG K, GAIKWAD S, GILDER T, DI-LEO J, ET AL. Homebase behavior of zebrafish in noveltybased paradigms. **Behav Processes**. 85:198–203, 2010.

SULUKAN, E. KÖKTÜRK, M. CEYLAN, H. BEYDEMİR, S. İŞİK, M. ATAMANALP, M. CEYHUN, S.B. An approach to clarify the effect mechanism of glyphosate on body malformations during embryonic development of zebrafish (*Daino rerio*). **Chemosphere**. V. 180, pg. 77–85, 2017. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2017.04.018>

TERÇARIOL, P.R., GODINHO, A.F. Behavioral effects of acute exposure to the insecticide fipronil. *Pestic. Biochem. Physiol.* 99, 221–225, 2011.

TINGLE, C.C.D.; ROTHER, J.A.; DEWHURST, C.F.; LAUER, S.; KING, W.J. Fipronil: Environmental Fate, Ecotoxicology, and Human Health Concerns. *Rev. Environ. Contam. Toxicol.*, v.176, p.1-66, 2003.

TORSTENSSON NTL, LUNDGREN LN, STENSTROM J. Influence of climatic and edaphic factors on the persistence of glyphosate and 2,4-D in forest soils. **Ecotoxicology and Environmental Safety** 18: 230-239. 1989.

TSUI, M. T. K.; CHU, L. M. Aquatic toxicity of glyphosate-based formulations: Comparison between different organisms and the effects of environmental factors. **Chemosphere** 52: 1189–1197, 2003.

UDO, M.S., SANDINI, T.M., REIS, T.M., BERNARDI, M.M., SPINOSA, H.S. Prenatal exposure to a low fipronil dose disturbs maternal behavior and reflex development in rats. **Neurotoxicol. Teratol.** 45, 27–33, 2014.

VEIGA, M. M.; SILVA, D. M.; VEIGA, L. B. E; FARIA, M. V. C. Análise da contaminação dos sistemas hídricos por agrotóxicos numa pequena comunidade rural do Sudeste do Brasil. **Caderno de Saúde Pública**, v.22, n.11, p.2391-2399, 2006.

VELASQUES, R.R. SANDRINI, J.Z. ROSA, C.E. Roundup® in Zebrafish: Effects on Oxidative Status and Gene Expression. **Zebrafish**. Vol. 13, No. 5: 432-441, 2016.

WANG X., ZHOU S., DING X., ZHU G., GUO J. Effect of triazophos, fipronil and their mixture on miRNA expression in adult zebrafish. **Journal of Environmental Science and Health Part B**, **45**, 648–657, 2010.

WANG, C. QIAN, Y. ZHANG, X. CHEN, F. ZHANG, Q. LI, Z. Z. M. A metabolomic study of fipronil for the anxiety-like behavior in zebrafish larvae at environmentally relevant levels. **Environ Pollut.** 2016.

WANG, C; QIAN, Y; ZHANG, X; CHEN, F; ZHANG, Q; LI, Z. ZHAO, M. A metabolomic study of fipronil for the anxiety-like behavior in zebrafish larvae at environmentally relevant levels. **Environmental Pollution** 211, 2016. DOI: 10.1016/j.envpol.2016.01.016

Website: Agrofit,. http://agrofit.agricultura.gov.br/agrofit_cons/principal_agrofit_cons Acessado em 08 de julho de 2018.

WEBSTER, T.M.U. LAING, L.V. FLORANCE, H. SANTOS, E.M. Effects of glyphosate and its formulation, Roundup® , on reproduction in zebrafish (*Danio rerio*). **Environ. Sci. Technol.** 48 (2), pp 1271–1279, 2014. DOI: 10.1021/es404258h

WILDE, G.E.; WHIWORTH, R.J.; CLAASSEN, M.; SHUFRAN, R.A. Seed treatment for control of wheat insects and its effect on yield. *J. Agr. Urban. Entomol.*, v.18, p.1-11, 2001.

WU, H, GAO, C, GUO ,Y, ZHANG, Y, ZHANG, J, MA, E. Acute toxicity and sublethal effects of fipronil on detoxification enzymes in juvenile zebrafish (*Danio rerio*). **Pestic Biochem Physiol.** Oct;115:9-14, 2014. DOI: 10.1016/j.pestbp.2014.07.010.

YAN, L., GONGA, C., ZHANG, B. X., ZHANG, B. Q., ZHAO, B. M., WANGA, C. Perturbation of metabonome of embryo/larvae zebrafish after exposure to fipronil. **Environmental Toxicology and Pharmacology**, 48, 39–45, 2016.

ZAGONEL, J.; MAROCHI, A. L. Épocas e modos de aplicação de glifosato na dessecação de coberturas verdes de inverno para semeadura do milho. **Boletim Informativo SBCPD**, v.10, p.126, 2004.

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*). **Chemosphere V. 181**, 270- 280, 2017.



PPGCiAmb

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