

EFEITOS DA EXPOSIÇÃO AO ROUNDUP® E GLIFOSATO NO SISTEMA REPRODUTIVO DE PEIXES

ANTÔNIO DUARTE PAGANO¹; VINICIUS FARIAS CAMPOS²; MARIANA HÄRTER REMIÃO³

¹Universidade Federal de Pelotas – antonioduarte pagano@gmail.com

²Universidade Federal de Pelotas – fariascampos@gmail.com

³Universidade Federal de Pelotas – mariana.remiao@ufpel.edu.br

1. INTRODUÇÃO

O glifosato tornou-se o herbicida mais utilizado mundialmente em sistemas agrícolas por conta da adoção ampla de culturas resistentes, logo após sua introdução pela Monsanto em 1996. Este herbicida atua através da via do shiquimato, inibindo a biossíntese de fenilalanina, tirosina e triptofano, aminoácidos essenciais à sobrevivência e reprodução de plantas (Gruys e Sikorski, 1999). O glifosato pode ser aplicado sozinho, mas é comumente usado como ingrediente ativo do herbicida Roundup® (RD). RD é um herbicida organofosforado e não seletivo de amplo espectro que contém polioxietileno amina (POEA) como surfactante. Este xenobiótico possui relevante impacto ambiental, pois é altamente solúvel em água (12 g/L a 25°C) e atinge facilmente corpos d'água naturais via lixiviação da superfície do solo (Mestre et al. 2020). O glifosato possui relativa longa meia-vida em água (45-60 dias), levando à constante contaminação de ecossistemas aquáticos, ao passo que concentrações de até 10 mg/L deste herbicida são consideradas ambientalmente realistas (Topal et al. 2015). Embora seu mecanismo de ação seja para uso específico em plantas, o glifosato tem sido demonstrado por induzir diversos efeitos deletérios em uma variedade de organismos não-alvo, como os peixes. Estes, por sua vez, usualmente são empregados como bioindicadores para avaliar a qualidade ambiental de ecossistemas perturbados por fatores antrópicos, como a contaminação por RD e glifosato (Zambrano, 2018). Portanto, o objetivo deste estudo foi elaborar uma revisão literária a fim de compilar e discutir os principais estudos que relatam efeitos negativos no sistema reprodutor masculino e feminino, e em embriões de peixes expostos ao RD e glifosato, haja visto que as alterações reprodutivas causadas por estes xenobióticos impactam o destino das gerações futuras, ou seja, ameaçam o ciclo de vida das espécies.

2. METODOLOGIA

Os estudos foram retirados de diferentes bancos de dados, como PubMed, Google Scholar e SciELO. Para selecionar os principais estudos que relacionam efeitos negativos na reprodução de peixes expostos ao RD e glifosato, foram usadas 9 diferentes palavras-chave, sendo estas: “Glyphosate”, “Roundup”, “Fish”, “Reproduction”, “Spermatozoa”, “Ovary”, “Embryo”, “Male”, “Female”.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1. Efeito do Roundup® e glifosato no sistema reprodutor masculino

Diferentes alterações em parâmetros de qualidade reprodutiva de gametas de peixes machos foram encontradas após a exposição à herbicidas a base de glifosato, tais como: diminuição da concentração, da motilidade e do período de motilidade de espermatozoides; diminuição da integridade da membrana; e aumento da disfunção mitocondrial, dos danos ao DNA, da produção de espécies reativas

de oxigênio (EROS) e da peroxidação lipídica (LPO) em espermatozóides (Harayashiki et al. 2013; Lopes et al. 2014; Lugowska, 2018; Silveira et al. 2018).

A diminuição dos níveis de motilidade é o principal indicador de perda viabilidade das células espermáticas pois isto reduz o sucesso da fertilização. Neste sentido, a perda da motilidade mediada por RD está estritamente ligada à redução da respiração mitocondrial através da inibição de enzimas mitocondriais necessárias à motilidade, levando a uma menor produção e metabolismo de ATP, que, por sua vez, fornece a energia necessária à motilidade por ação da dienina ATP-ase no axonema (Silveira et al. 2018; Lugowska, 2018).

Distúrbios bioenergéticos de mitocôndrias induzem a permeabilidade não seletiva da membrana espermática, que por ser a primeira barreira protetiva do espermatozoide, tornam-a ainda mais sensível à ação do RD (Acosta et al. 2016). Desta forma, alterações em termos de motilidade, funcionalidade mitocondrial e integridade da membrana espermática estão associadas ao aumento de EROSe LPO causada pelo herbicida, o que pode prejudicar a fusão dos gametas, e assim levar a perda da capacidade de fertilização (Lopes et al. 2014; Silveira et al. 2018).

Assim, o aumento do dano aos lipídios e ao DNA dos gametas é causa direta do estresse oxidativo assentado pelo acúmulo de EROS gerado em razão da exposição ao glifosato (Lopes et al. 2014). Em suma, a estreita correlação entre a exposição ao RD e a perda da qualidade de espermatozoides reforça a ideia de que concentrações ambientalmente relevantes deste herbicida causam danos significativos à reprodução de peixes (Harayashiki et al. 2013).

3.2. Efeitos do Roundup® e glifosato no sistema reprodutor feminino

As principais alterações encontradas nas gônadas de fêmeas expostas ao RD e glifosato são a inibição da secreção de hormônios esteroides por alterações no eixo HPG; inibição da maturação de oócitos; alterações de enzimas esteroidogênicas; estresse oxidativo no ovário; e modificações no conteúdo de proteínas da vitelina, vacuolização nas células foliculares e alteração das mitocôndrias, e a diminuição do diâmetro e do número de ovários tardios (Webster et al. 2014; Maskey et al. 2019; Davico et al. 2021).

O glifosato interfere diretamente no eixo hipotálamo-pituitária-gonadal (HPG), envolvido nos mecanismos básicos de crescimento e maturação de oócitos, inibindo a síntese ou secreção de hormônios esteróides em fêmeas de *zebrafish* (Maskey et al. 2019). A maturação do oócito pode ser alvo de desregulação endócrina por herbicidas, principalmente por meio da inibição de enzimas essenciais ao desenvolvimento dessas células, como a aromatase ovariana. A maturação pode ser interrompida por alterações nas mitocôndrias, como a perda ou dilatação das cristas mitocondriais medidas por RD, o que é extremamente danoso aos processos de fertilização e embriogênese (Davico et al. 2021).

RD também tem a habilidade de reduzir a produção de ovos através de alterações da expressão de enzimas esteroidogênicas, como *aromatase* ovariana, *cyp19a1*, *hsd3b2esr1*, e *esr1* nas gônadas de fêmeas de *zebrafish* (Webster et al. 2014). A inibição da *aromatase*, além de levar à impactos adversos na reprodução, interfere negativamente em vias de biossíntese de hormônios esteroides e propicia o assentamento do estresse oxidativo no ovário (Webster et al. 2014). O glifosato também induz o aumento significativo do diâmetro dos oócitos, por meio do aumento dos níveis do fator esteroidogênico-1 (*Sf-1*), responsável pelo depósito de lipídios nos oócitos durante o período pré-vitelogênico. Tal fato resulta na formação de membranas mielinizadas concêntricas que afetam o desenvolvimento de oócitos e o bloqueio da poliespermia, o que pode reduzir o sucesso da fertiliza-

ção. Ainda, Davico et al. (2021) mostrou que fêmeas de *zebrafish* expostas ao RD apresentaram anormalidades morfológicas nos ovários, como a de vacuolização nas células foliculares, aumento do espaço perivitelínico e diminuição da espessura do envelope vitelínico.

3.3. Efeitos do Roundup® e glifosato em embriões

Usualmente, embriões de peixes são empregados como bioindicadores para avaliar os riscos ecológicos de poluentes em ambientes aquáticos (Wedekind et al. 2007). Após a exposição ao RD e ao glifosato, as principais alterações encontradas no desenvolvimento embrionário são malformações morfológicas, maiores taxas cumulativas de mortalidade, diminuição dos níveis de eclodibilidade; cardiotoxicidade e diminuição das taxas de batimento cardíaco; desenvolvimento tardio; e mudanças na coordenação sensório-motora (Yusof et al. 2014; Fiorino et al. 2018; Gaur e Bhargava, 2019; Smith et al. 2019).

Os níveis de sobrevivência tendem a diminuir notavelmente com o aumento da concentração do herbicida e, desta forma, a taxa de mortalidade de embriões varia conforme o período de exposição e a concentração de glifosato (Fiorino et al. 2018). Desta forma, RD também atrasa de forma significativa o processo de incubação (Lugowska, 2018), e portanto, a eclodibilidade tende a diminuir a medida que as concentrações do herbicida aumentam (Yusof et al. 2014). A exemplo disto, embriões de *medaka* expostos às baixas concentrações de RD e glifosato apresentaram atraso e redução nas taxas de eclosão de maneira dependente da concentração (Smith et al. 2019).

A diminuição significativa do batimento cardíaco de embriões de *zebrafish* expostos ao RD é um processo dependente da concentração e tempo de exposição (Gaur e Bhargava, 2019; Yusof et al. 2014). Esta diminuição ocorre por malformações estruturais da parede cardíaca, assim produzindo menos bombeamento, além das mudanças na expressão gênica de proteínas essenciais à excitação-contratção de cardiomiócitos, traduzindo o sinal elétrico em contratilidade (Yusof et al. 2014; Gaur e Bhargava, 2019).

Por fim, malformações morfológicas são as principais alterações associadas à exposição de embriões ao RD e glifosato. Dentre estas, destacam-se a formação de edemas no saco vitelínico e no pericárdio, bexiga natatória desinflada, curvatura espinhal, encurtamento e curvamento do corpo, e a redução do diâmetro e da distância dos olhos (Yusof et al. 2014; Sulukan et al. 2017; Zebral et al. 2017; Smith et al. 2019; Panetto et al. 2019). Efetivamente, malformações em termos de desenvolvimento e morfologia de embriões de *zebrafish* estão associadas ao aumento de apoptose celular causada pelo acúmulo de EROS (Sulukan et al. 2017).

4. CONCLUSÕES

O amplo uso de herbicidas à base de glifosato, sua entrada e permanência em ambientes aquáticos, bem como o necessário esclarecimento sobre seus efeitos em organismos não-alvo mostram a importância do presente estudo. Esta revisão compila e sumariza os efeitos deletérios causados pelo Roundup® e glifosato na reprodução de peixes. Em suma, a toxicidade destes herbicidas causa anormalidades histológicas, morfológicas e genéticas, além da aceleração de processos oxidativos no sistema reprodutivo. Assim, leis ambientais que limitam o uso de tais herbicidas podem ser criadas ou readequadas a partir do conhecimento dos efeitos danosos da presença destes xenobióticos em ambientes aquáticos. Além disso, novas metodologias utilizando animais como bioindicadores de qualidade de

água, bem como medidas que visam remover resíduos destes herbicidas de ambientes contaminados podem ter seu desenvolvimento estimuladas.

5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Davico, C. E., et al. (2021) Reproductive toxicity of Roundup WG® herbicide: impairments in ovarian follicles of model organism *Danio rerio*. **Environ Sci Pollut Res Int.** 28(12):15147-15159.
- Fiorino, E., et al. (2018). Effects of glyphosate on early life stages: comparison between *Cyprinus carpio* and *Danio rerio*. **Environ Sci and Poll Res.** 25(9), 8542–8549.
- Gaur, H., & Bhargava, A. 2019. Glyphosate induces toxicity and modulates calcium and NO signaling in zebrafish embryos. **Bioch and Biophys Res Comm** 513 (4), 1070-1075.
- Gruys, K. J.; Sikorsky, J. A. 1999. Inhibitors of tryptophan, phenylalanine and tyrosine biosynthesis as herbicides. In: SINGH, B. K. **Plant amino acids: biochemistry and biotechnology**. New York: Marcel Dekker, 357-384
- Harayashiki, C., et al. (2013). Toxic effects of the herbicide Roundup in the guppy *Poecilia vivipara* acclimated to fresh water. **Aquatic Toxicology.** 142-143, 176–184.
- Lugowska, K., (2018). The effects of Roundup on gametes and early development of common carp (*Cyprinus carpio* L). **Fish Physiology and Biochemistry.** 44(4), 1109–1117.
- Maskey, E., et al. (2019) Disruption of oocyte maturation by selected environmental chemicals in zebrafish. **Toxicology in Vitro**, 54, 123–129.
- Mestre, A.P. et al (2020) Effects of glyphosate, cypermethrin, and chlorpyrifos on hematological parameters of the tegu lizard (*Salvator merianae*) in different embryo stages. **Chemosphere**, 252:126433.
- Silveira, T., et al. (2018). Roundup® herbicide decreases quality parameters of spermatozoa of silversides *Odontesthes Humensis*. **Bull. of Environ. Cont. and Toxicol.** 102(1), 1-6.
- Smith C.M., et al. (2019). Developmental and epigenetic effects of Roundup and glyphosate exposure on Japanese medaka (*Oryzias latipes*) **Aquatic Toxicology.** 210, 215-226.
- Topal, K., et al. (2015). Effects of glyphosate on juvenile rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*): Transcriptional and enzymatic analyses of antioxidant defence system, histopathological liver damage and swimming performance. **Ecol and Environ Saf**, 111, 206–214.
- Uren Webster, T. & Santos E.M. (2014). Effects of glyphosate and its formulation-Roundup, on reproduction in zebrafish (*Danio rerio*). **Environ Sci & Tech.** 48(2), 1271–1279
- Yusof, S. et al. (2014). Effect of glyphosate-based herbicide on early life stages of Java medaka (*Oryzias javanicus*): A potential tropical test fish. **Mar Poll Bulletin.** 85(2), 494– 498.
- Zambrano, M. J. (2018) Effects of water quality on aspects of reproductive biology of *Cnesterodon decemmaculatus*. **Sscience of The Total Environment**, 645, 10-21.