

Efeito da exposição subletal de Fipronil 800 wg da Nortox por 96 horas e da recuperação de sete dias no perfil glicídico de girinos de *Lithobates catesbeianus* (SHAW, 1802)

*Gabriely Fernanda Groto Militão, *Rodrigo Zieri, *Rodrigo Yamakami Camilo.
 *Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia de São Paulo – Câmpus Barretos.
 gabriely.groto@aluno.ifsp.edu.br

Palavras-chave: Ecotoxicologia. Fipronil. Perfil glicídico. *Lithobates catesbeianus*.

Introdução

Diversos fatores ambientais podem causar efeitos nocivos no comportamento, fisiologia e até mesmo em materiais genéticos, o que pode causar alterações no tamanho das populações dos organismos (BARTON, 2002). Neste contexto, características específicas dos anfíbios, como permeabilidade da pele e ciclo de vida dependente tanto do ambiente aquático quanto do terrestre, os tornam muito vulneráveis às variações ambientais, dando a esses animais status de marcadores da qualidade do ambiente (CONDESSA, 2014). Dentre os contaminantes aquáticos estão os agrotóxicos, como o fipronil. A presença dessa substância no ambiente está fortemente relacionada com o uso deste inseticida na lavoura para controlar pragas em diversas culturas (AFROFIT, 2020). Para este ensaio, girinos de *Lithobates catesbeianus* (rã-touro), foi utilizado para observar efeito da exposição subletal de fipronil 800 WG da Nortox por 96 horas e da recuperação de sete dias no perfil glicídico.

Objetivos

Avaliar o efeito de quatro doses crescentes de Fipronil 800 WG por 96 horas e da recuperação de sete dias no perfil glicídico nos tecidos muscular da cauda e hepático em *L. catesbeianus*.

Material e Métodos

Os testes de exposição aguda de Fipronil foram conduzidos no Laboratório de Ensaio Ecotoxicológicos de Animais Aquáticos do IFSP Campus Barretos. Para os testes, utilizamos o inseticida Fipronil 800 WG da Nortox. Girinos de rã-touro, adquiridos do ranário RANAMAT em Matão-SP, foram aclimatados por 15 dias em

tanques de 50L com aeração constante, água renovada a cada 48 horas, alimentados com ração comercial para peixe e mantidos em temperatura ambiente (27°C), sendo privados de alimentação 24 horas antes do ensaio. Setenta e dois indivíduos foram separados aleatoriamente em oito grupos experimentais com nove indivíduos cada e distribuídos em 24 aquários de vidro com aeração constante e capacidade de 3L na proporção de 1L para 1 animal e expostos por 96 horas ao contaminante no qual as doses ministradas seguiram o delineamento experimental de Santos (2021) com 0,0ml (controle); 0,04 ml; 0,08mL e 0,4 ml com 18 indivíduos para cada tratamento. Após este período, todos os animais de três aquários de cada um dos grupos formados foram eutanasiados por imersão em gelo para a coleta do material (0,025g fígado e 0,1 g músculo caudal, em duplicata) utilizado para as análises químicas. O restante dos animais foi mantido vivo por mais sete dias para avaliação do metabolismo energético após um período de recuperação, no qual os animais foram realocados em novos aquários e a água de todos, inclusive aqueles que não foram expostos ao xenobiótico, foi substituída por água limpa. A eutanásia foi realizada após sete dias sob imersão em gelo e a coleta dos tecidos realizada.



Figura 1: Representação esquemática do desenho experimental.

A quantificação da concentração de glicose do material analisado (mg/g de amostra) foi realizada com o Kit LabTeste de Glicose Liquiform. Para a determinação de glicogênio, foi seguido o protocolo de Bidinoto *et al.* (1997) e Dubois *et al.* (1956).

Para análise estatística dos dados foi utilizado o software BioEstat 5.0. O teste estatístico ANOVA General Linear Model foi aplicado seguido de pós-teste de Tukey para comparação dos grupos. Os conjuntos formados pelos animais só expostos e pelos que passaram pelo período de recuperação não foram analisados conjuntamente. O nível de significância admitido foi de $p < 0,05$. Os gráficos foram construídos com auxílio do software Origin 6.0, baseado nas médias e desvio padrão da média (D.P.M).

Resultados e Discussão

Após a exposição de 96 horas, houve decréscimo da glicose no tecido hepático enquanto no músculo caudal, apesar do decréscimo, houve uma pequena variação maior no grupo exposto à 0,04 mg/L de Fipronil 800 WG (Figura 2).

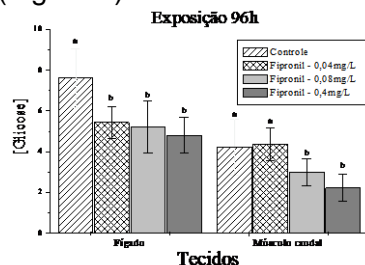


Figura 2: Concentração de glicose (mg/ g de tecido) de fígado e musculo caudal de *L. Catesbeianus* submetidos a diferentes concentrações de Fipronil 800 WG por 96 horas. Letras diferentes no mesmo grupo de tecido representam medias estatisticamente diferentes para $p < 0,05$. Os valores estão expressos como Média \pm D.P.M. (n=9).

Nos indivíduos submetidos ao período de recuperação de sete dias após a exposição de 96 horas, a glicose hepática teve índice alto no R Fipronil 0,08 mg/L e se manteve com taxas baixas no tecido muscular da cauda (Figura 3).

No período de exposição de 96 horas, as concentrações de glicogênio nos tecidos escolhidos também sofreram alterações predominantemente decrescentes, assim como a glicose. O músculo caudal, apesar do decréscimo, indicou uma pequena variação crescente no grupo exposto às concentrações

de 0,08 e 0,4 mg/L do fármaco (Figura 1). No fígado, foi observado o mesmo padrão do músculo cauda (Figura 4).

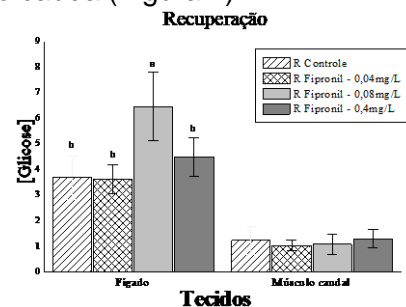


Figura 3: Concentração de glicose (mg/ g de tecido) de fígado e músculo caudal de *L. Catesbeianus* que passaram pelo período de recuperação de sete dias após a exposição crônica de Fipronil 800 WG por 96 horas. Letras diferentes no mesmo grupo de tecido representam medias estatisticamente diferentes para $p < 0,05$. Os valores estão expressos como Média \pm D.P.M. (n=9).

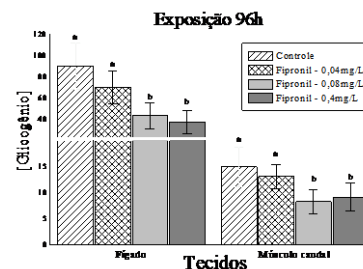


Figura 4: Concentração de glicogênio (mg/ g de tecido) de fígado e musculo caudal de *L. Catesbeianus* submetidos a diferentes concentrações de Fipronil 800 WG por 96 horas. Letras diferentes no mesmo grupo de tecido representam medias estatisticamente diferentes para $p < 0,05$. Os valores estão expressos como Média \pm D.P.M. (n=9).

Em comparação aos indivíduos que passaram apenas pela exposição ao Fipronil 800 WG por 96 horas, os indivíduos submetidos ao período de recuperação de sete dias não apresentaram uma redução significativa em suas taxas de glicogênio, em ambos os tecidos analisados (Figura 5).

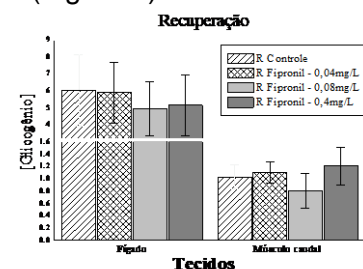


Figura 5: Concentração de glicogênio (mg/ g de tecido) de fígado e musculo caudal de *L. Catesbeianus* submetidos a diferentes concentrações de Fipronil 800 WG por 96 horas. Letras diferentes no mesmo grupo de tecido representam medias estatisticamente diferentes para $p < 0,05$. Os valores estão expressos como Média \pm D.P.M. (n=9).

Quando sob estresse o perfil glicídico pode sofrer alterações no organismo exposto (STEFANI, 2011; MONTANHA; PIMPÃO, 2012). O fígado, responsável pela desintoxicação em vertebrados (LUCIA, 2010) controla a manutenção da glicemia quando esta apresenta taxas baixas ou elevadas. A presença de um agente estressor pode ocasionar hiperglicemia, sendo necessário os processos de glicogenólise e gliconeogênese hepática para proporcionar a manutenção da glicemia sanguínea no sistema nervoso. O decréscimo de glicose hepática associada a diminuição de glicogênio hepático dos grupos expostos ao fipronil por 96 horas esteja diretamente relacionados a liberação das moléculas de glicose pelo fígado para que os outros órgãos possam utilizá-la para a produção de moléculas de ATP que serão utilizadas para o restabelecimento da homeostase destes animais, assim como observado em Mello (2017) no qual as concentrações de glicose e glicogênio diminuíram quando peixes-zebra (*Danio rerio*) foram expostos ao sal solúvel dicromato de potássio ($K_2Cr_2O_7$) por 48 horas.

A oxidação da glicose via fermentação láctica pode ter relação a diminuição das concentrações de glicose no tecido muscular dos animais só expostos ao fipronil. A redução de glicogênio muscular é devido a utilização da glicose em benefício do próprio tecido, como visto em Miron et. al (2009) que expuseram compostos clomazone (isoxazolidinonas-Gamit®) e quinclorac (quinolinas-Facet®) em jundiás (*Rhamdia quelen*) durante 96 horas.

Conclusões

Apesar de moderadamente tóxico, o Fipronil 800 WG não ocasionou morte neste ensaio nas concentrações ministradas, mas apresentou alterações no perfil glicídico dos organismos afim de regular a hiperglicemia causada pela contaminação.

Agradecimentos

Este trabalho contou com o apoio financeiro do Instituto Federal de São Paulo - Bolsa de Iniciação Científica - edital PIBIFSP 21-2020.

Referências Bibliográficas

AGROFIT, Sistema de Agrotóxicos Fitossanitários. **Regent 800 WG**: Relatório de produtos formulados (2020) Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Brasília, 3p.

BARTON, B. A. **Stress in fishes**: a diversity of responses with particular reference to changes in circulating corticosteroids. *Integr Comp Biol.* 42(3):517-525, 2002.

BIDINOTTO, P. M. et al. **Hepatic glycogen in eight tropical freshwater teleost fish**: A procedure for field determinations of micro samples. *Bol. Tec. Cepta*, v. 1, p. 53-60, 1997.

CONDESSA, S. S. **Estresse oxidativo causado pelo cromo hexavalente e ação da vitamina C em *Astyanax aff. bimaculatus* (Teleostei: Characidae) machos adultos e potencial biossortivo da casca de coco verde (*Cocos nucifera* L.)** –2014. 204 f. Tese (Doutorado em Análises quantitativas e moleculares do Genoma; Biologia das células e dos tecidos) - Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, 2014.

DUBOIS, M. et al. Colorimetric method for determination of sugars and related substances. *Anal. Chem.*, v. 28, p. 350-358, 1956.

LUCIA, M. et al. **Effect of dietary cadmium on lipid metabolism and storage of aquatic bird *Cairina moschata***. *Ecotoxicology*, v. 19, n. 1, p. 163, 2010.

MELLO, R. M. **Estudo de alterações no metabolismo de carboidratos do zebrafish (*Danio rerio*) em águas contendo cromo hexavalente**. 2017. Dissertação (Mestrado em Avaliação de Impactos Ambientais) – Universidade La Salle, Canoas, 2017.

MIRON, D.S. **Respostas metabólicas e enzimáticas em jundiás *Rhamdia quelen* (heptapteridae) e piavas *Leporinus obtusidens* (anostomidae) expostos a herbicidas utilizados na cultura do arroz irrigado**. Dissertação (Doutorado em Bioquímica Toxicológica) – Programa de Pós-Graduação em Bioquímica Toxicológica, Universidade Federal de Santa Maria (UFSM) Santa Maria, RS, 2009.

MONTANHA, F. P.; PIMPÃO, C. T. **Efeitos toxicológicos de piretróides (cipermetrina e deltametrina) em peixes – revisão**. *Revista Científica Eletrônica de Medicina Veterinária*. Editora FAEF. Número 18, Jan. 2012.

STEFANI MARGARIDO, T. C. **Biomarcadores bioquímicos de contaminação em girinos de anfíbios anuros expostos a Regent®800WG (Fipronil)** / Tatiana Cristina Stefani Margarido. - São José do Rio Preto: [s.n.], 2011. 54 f. : il. ; 30 cm.