

**UNIVERSIDADE FEDERAL DA GRANDE DOURADOS
FACULDADE DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS E AMBIENTAIS
GRADUAÇÃO EM BIOTECNOLOGIA**

CAMILA GOYA CHAMORRO

**PANTANAL SUL-MATO-GROSSENSE: AVALIAÇÃO DA QUALIDADE DA
ÁGUA POR MEIO DA QUANTIFICAÇÃO DE CONTAMINANTES EMERGENTES
E ENSAIO DE EMBRIOTOXICIDADE**

TRABALHO DE CONCLUSÃO DE CURSO

DOURADOS - MS

2025

CAMILA GOYA CHAMORRO

**PANTANAL SUL-MATO-GROSSENSE: AVALIAÇÃO DA QUALIDADE DA ÁGUA
POR MEIO DA QUANTIFICAÇÃO DE CONTAMINANTES EMERGENTES E
ENSAIO DE EMBRIOTOXICIDADE**

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado ao curso
de Biotecnologia como requisito parcial para obtenção
do título de Bacharel em Biotecnologia pela
Universidade Federal da Grande Dourados - UFGD.

Área de concentração: Ciência Ambiental.

Orientadora: Profa. Dra. Alexeia Barufatti.

Coorientadora: Ma. Nathalya Alice de Lima.

DOURADOS - MS

2025

CAMILA GOYA CHAMORRO

**PANTANAL SUL-MATO-GROSSENSE: AVALIAÇÃO DA QUALIDADE DA
ÁGUA POR MEIO DA QUANTIFICAÇÃO DE CONTAMINANTES
EMERGENTES E ENSAIO DE EMBRIOTOXICIDADE**

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado ao curso de Biotecnologia como requisito parcial para obtenção do título de Bacharel em Biotecnologia pela Universidade Federal da Grande Dourados - UFGD. Área de concentração: Ciência Ambiental. Orientadora: Profa. Dra. Alexeia Barufatti. Coorientadora: Ma. Nathalya Alice de Lima.

Aprovado em: 04 de julho de 2025.

BANCA EXAMINADORA

Documento assinado digitalmente
 **ALEXEIA BARUFATTI**
Data: 09/07/2025 12:22:27-0300
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Dra. Alexeia Barufatti
Presidente

Documento assinado digitalmente
 **MONICA VALDYRCE DOS ANJOS LOPES FERREIF**
Data: 04/07/2025 14:37:06-0300
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Dra. Mônica Valdyrce dos Anjos Lopes Ferreira
Membro

Documento assinado digitalmente
 **FABIO KUMMROW**
Data: 04/07/2025 15:15:48-0300
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Dr. Fábio Kummrow
Membro

AGRADECIMENTOS

Agradeço à minha orientadora Dra. Alexeia Barufatti, por todos os ensinamentos e oportunidades.

Agradeço à minha coorientadora Ma. Nathalya Alice de Lima, por todos os ensinamentos, generosidade e paciência ao longo deste trabalho. Você é a maior referência para mim na pesquisa científica.

Agradeço à equipe LECOGEN por toda parceria e aprendizados, este trabalho tem um pouco de cada um de vocês.

Agradeço à Profa. Dra. Liliam Silva Cândido que, apesar de não colaborar diretamente com este trabalho, sempre me abriu portas pelas quais sou profundamente grata.

Agradeço à minha irmã por ser meu maior apoio.

Agradeço às minhas melhores amigas, que são a família que escolhi e me ajudaram a chegar até aqui.

Agradeço ao meu amor, Ana Maria, por todo apoio, amor, parceria e afeto.

PANTANAL SUL-MATO-GROSSENSE: AVALIAÇÃO DA QUALIDADE DA ÁGUA POR MEIO DA QUANTIFICAÇÃO DE CONTAMINANTES EMERGENTES E ENSAIO DE EMBRIOTOXICIDADE

Camila Goya Chamorro^{1*}, Nathalya Alice de Lima², Alexeia Barufatti^{1,2,3}

¹Faculdade de Ciências Biológicas e Ambientais, Universidade da Grande Dourados, Dourados - MS, Brasil

²Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia Ambiental, Faculdade de Ciência Exatas e Ambientais, Universidade da Grande Dourados, Dourados - MS, Brasil

³Programa de Pós-Graduação em Biodiversidade e Meio Ambiente, Faculdade de Ciências Biológicas, Universidade da Grande Dourados, Dourados - MS, Brasil

*E-mail: camilachamorro4@gmail.com

RESUMO

O aumento indiscriminado das atividades agroindustriais e da urbanização tem resultado na perda de biodiversidade do Pantanal e dos rios adjacentes. E consequentemente, contribuído para liberação de contaminantes emergentes (CE) nas matrizes aquáticas. Os Rios Aquidauana (RA) e Miranda (RM), presentes na planície pantaneira, apresentam importância econômica e ecológica para a região. O teste de embriotoxicidade em Zebrafish (*Danio rerio*), torna-se uma avaliação complementar para qualidade ambiental, fornecendo respostas fisiológicas quanto ao potencial tóxico e teratogênico de amostras ambientais. O objetivo do estudo foi avaliar a qualidade da água dos RA e RM por meio do monitoramento ambiental, quantificação de CE e ensaio de embriotoxicidade em Zebrafish. Foram realizadas quatro amostragens em ambos os rios (julho/2023, outubro/2023, fevereiro/2024 e maio/2024), sendo quatro pontos no RA (A1 a A4) e seis no RM (M1 a M6). A análise de CE foi conduzida por meio de cromatografia líquida acoplada à espectrometria de massas sequencial (LC-MS/MS). O ensaio de embriotoxicidade foi realizado de acordo com o protocolo OECD n° 236. Os embriões de Zebrafish foram expostos durante 96h às amostras de água, sendo avaliados a partir de 24h, os efeitos indicativos de letalidade. As alterações morfológicas, indicativas de efeitos teratogênicos foram analisadas após 96h. Foram quantificados 8 e 23 classes de CE nas amostras dos RA e RM, respectivamente. As principais classes com maiores concentrações totais do estudo, foram os herbicidas, fármacos e produtos industriais. Entre os 23 CE encontrados no RM, 3 obtiveram concentrações acima do valor máximo permitido pela resolução das águas doces de classe II do Conselho Nacional do Meio Ambiente (CONAMA) n°356/2005, e outros 16 não são regulamentados. Foi possível

observar mortalidade em metade das amostras, enquanto os efeitos teratogênicos ocorreram em todas as amostras. Os principais efeitos identificados foram edema no pericárdio e saco vitelínico, escoliose, curvatura na cauda, crescimento retardado, ausência de boca e bexiga natatória não inflada. Esses efeitos podem comprometer a sobrevivência do embrião, levando-os à morte. Desse modo, a quantificação de CE e a observação de efeitos tóxicos e teratogênicos em embriões de Zebrafish expostos às águas do Pantanal Sul-Mato-Grossense indicam a influência das atividades antrópicas nos pontos estudados. Esses resultados ressaltam a necessidade de realizar estudos de monitoramento da qualidade ambiental, além de medidas políticas para conservação do bioma.

Palavras-chave: Agrotóxicos, ecotoxicologia, disruptores endócrinos, monitoramento ambiental, planície pantaneira; qualidade hídrica, teratogenicidade, Zebrafish.

ABSTRACT

The indiscriminate increase in agro-industrial activities and urbanization has resulted in the loss of biodiversity in the Pantanal and adjacent rivers. Consequently, this has contributed to the release of emerging contaminants (ECs) into aquatic matrices. The Aquidauana (RA) and Miranda (RM) rivers, located in the Pantanal plain, are of economic and ecological importance to the region. The embryotoxicity test in Zebrafish (*Danio rerio*) is a complementary assessment of environmental quality, providing physiological responses regarding the toxic and teratogenic potential of environmental samples. The objective of the study was to assess the water quality of the RA and RM through environmental monitoring, EC quantification, and embryotoxicity testing in Zebrafish. Four samples were taken from both rivers (July 2023, October 2023, February 2024, and May 2024), with four points in the RA (A1 to A4) and six in the RM (M1 to M6). EC analysis was conducted using liquid chromatography coupled with sequential mass spectrometry (LC-MS/MS). The embryotoxicity test was performed in accordance with OECD protocol N°236. Zebrafish embryos were exposed to water samples for 96 hours, and the effects indicative of lethality were evaluated after 24h. Morphological changes indicative of teratogenic effects were analyzed after 96h. Were quantified 8 and 23 EC classes in the RA and RM samples, respectively. The main classes with the highest total concentrations in the study were herbicides, pharmaceuticals, and industrial products. Among the 23 ECs found in the RM, 3 had concentrations above the maximum value allowed by the Conselho Nacional do Meio Ambiente (CONAMA) Resolution N°356/2005 for Class II fresh water, and another 16 are

not regulated. Mortality was observed in half of the samples, while teratogenic effects occurred in all samples. The main effects identified were edema in the pericardium and yolk sac, scoliosis, tail curvature, delayed growth, absence of mouth, and uninflated swim bladder. These effects can compromise the survival of the embryo, leading to death. Thus, the quantification of EC and the observation of toxic and teratogenic effects in Zebrafish embryos exposed to the waters of the Pantanal in Mato Grosso do Sul indicate the influence of anthropic activities at the sites studied. These results highlight the need for environmental quality monitoring studies, in addition to political measures for the conservation of the biome.

Keywords: Ecotoxicology, endocrine disruptors, environmental monitoring, Pantanal wetlands, pesticides, teratogenicity, Zebrafish, freshwater quality.

1. INTRODUÇÃO

O Pantanal é um bioma reconhecido como *hotspot* de biodiversidade, sendo a maior planície alagada do mundo, e banhado pela Bacia Hidrográfica do Alto Paraguai (Alvarenga et al., 2021). Apesar de seu status de Patrimônio Mundial da UNESCO, a região tem sofrido importante redução do volume de chuvas e da biodiversidade (Riveros et al., 2021). Esse cenário está relacionado ao avanço das atividades antrópicas, como queimadas, desmatamento e, principalmente, à substituição da vegetação nativa por culturas agrícolas, como de soja e milho, além da expansão da pecuária extensiva (Riveros et al., 2021). Outras fontes de impacto incluem o escoamento urbano e a liberação de produtos industriais e agroquímicos por agroindústrias, que ameaçam o processo de sedimentação do Pantanal e modificam o fluxo e qualidade dos rios e adjacentes, como os Rios Aquidauana (RA) e Miranda (RM) (Faria et al., 2021). Esses rios, pertencentes à bacia do Rio Paraguai, desempenham papel estratégico no abastecimento de água para consumo humano, nas atividades agropecuárias e no turismo, além de (Joia et al., 2017).

Nesse contexto, os contaminantes emergentes (CE), como herbicidas, fungicidas, inseticidas, fármacos, compostos industriais e hormônios vêm se tornando uma preocupação mundial devido à sua recorrência no ambiente e à ausência de regulamentação adequada (Martini et al., 2021). No Brasil, embora existam padrões de qualidade das águas estabelecidos pela Resolução CONAMA nº 357/2005 (Brasil, 2005), muitos desses contaminantes ainda não são regulamentados, dificultando sua detecção, controle e análise de risco. Tais contaminantes podem gerar efeitos adversos à biota aquática, afetando processos reprodutivos, desenvolvimento embrionário e comportamentos ecologicamente relevantes (Lopes-Ferreira et al., 2021).

Diante disso, têm-se utilizado organismos, como o Zebrafish (*Danio rerio*), como uma forma complementar de avaliar impactos ambientais, pois estes respondem à presença de contaminantes potencialmente tóxicos (Lins et al., 2010). Características como tempo geracional curto (3 a 6 meses), transparência dos embriões, alta taxa de reprodução e fertilização, tornam o teste de embriotoxicidade em Zebrafish uma excelente ferramenta para avaliação ecotoxicológica (Lopes-Ferreira et al., 2021; Trigueiro et al., 2020).

Desse modo, considerando o aumento de atividades antrópicas no entorno do curso dos rios pantaneiros e práticas inadequadas de manejo da agricultura, evidencia-se o potencial de contaminar suas águas e, conseqüentemente, afetar negativamente a biota aquática. Também deve-se salientar a ausência de estudos que integrem a análise de CE e testes embriotóxicos em rios do Pantanal Sul-Mato-Grossense, ressaltando a importância de realizar um

biomonitoramento das águas da região, compreendendo dois rios muito importantes para a região, RA e RM.

2.OBJETIVOS

2.1. Objetivo geral

- Avaliar a qualidade da água dos RA e RM por meio da identificação e quantificação de CE e da análise de efeitos embriotóxicos em Zebrafish.

2.2. Objetivos específicos

- Identificar e quantificar CE em amostras de águas coletadas em RA e RM por meio de Cromatografia Líquida acoplada à espectrometria de massas sequencial (LC-MS/MS);
- Comparar os valores quantificados dos CE com os padrões de água doce classe II estabelecidos pela Resolução CONAMA N° 357/2005;
- Avaliar a taxa de mortalidade de embriões de Zebrafish expostos às amostras de águas coletadas em RA e RM no período de 24 a 96h;
- Avaliar os efeitos teratogênicos em embriões de Zebrafish expostos por 96h às amostras de água de ambos os rios.

3. MATERIAIS E MÉTODOS

3.1. Área de estudo

A área de estudo compreende trechos dos RA e RM, localizados no estado de Mato Grosso do Sul (MS). A seleção dos pontos de amostragem foi realizada por meio do software Google Earth®, considerando-se regiões com influência urbana e agropecuária. Ao todo, foram definidos dez pontos de coleta: quatro no RA e seis no RM, distribuídos a cada 100 km entre um e outro aproximadamente. As coletas ocorreram durante o período de um ano, abrangendo estações secas e chuvosas, com campanhas realizadas trimestralmente: julho/2023 (C1), outubro/2023 (C2), fevereiro/2024 (C3) e maio/2024 (C4). O reconhecimento em campo foi realizado previamente, com solicitação de autorização em áreas de propriedade privada. A Figura 1 apresenta a localização geográfica dos pontos amostrados e a Tabela 1 indica a caracterização desses pontos.

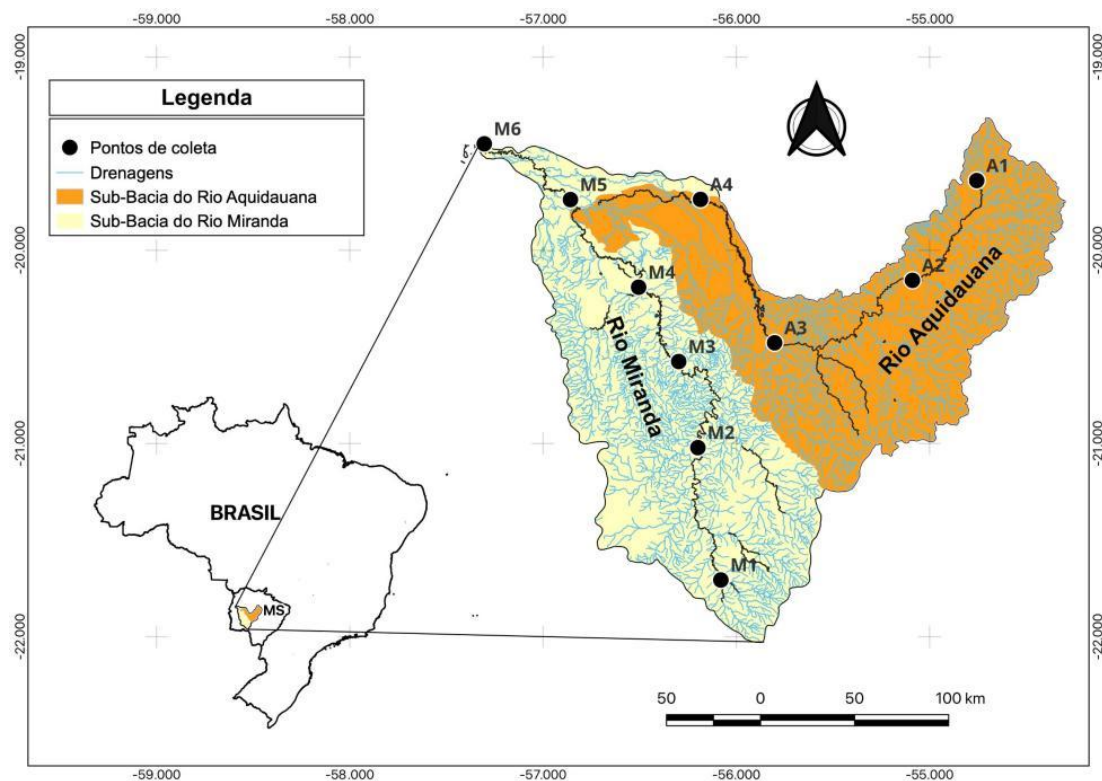


Figura 1. Localização dos pontos de coleta nos Rios Aquidauana (A1 a A4) e Miranda (M1 a M6), situados nas sub-bacias hidrográficas correspondentes no estado de MS, Brasil. A imagem destaca as drenagens e o limite entre as sub-bacias do Rio Aquidauana (em laranja) e do Rio Miranda (em amarelo). *Fonte: Elaborada por Emilly Fagundes, a partir de imagens do Google Earth® e dados de drenagem SIG.*

Tabela 1. Caracterização dos pontos de coleta.

Ponto	Localidade	Sub-bacia	Coordenadas geográficas	Uso e ocupação do solo
A1	Distrito Fala verdade	RA	19°32'25.70"S 54°44'40.95"O	Área urbana
A2	Ponte do Grego	RA	20° 9'18.97"S 55° 5'18.37"O	Área agrícola e urbana
A3	Ponte Velha	RA	20°28'42.36"S 55°48'5.56"O	Área urbana
A4	Fazendo do Perna	RA	19°44'51.67"S 56°21'20.47"O	Área alagável Propriedade privada
M1	Rio das Velhas	RM	21°42'21.39"S 56°4'47.33"O	Área agrícola e com interferência antrópica

M2	Pesqueiro Donana	RM	21°1'12.17"S 56°11'55.51"O	Área agrícola e atividade de pesca
M3	Aldeia La Lima	RM	20°34'31.24"S 56°17'51.57"O	Área com criação de animais e atividade agrícola
M4	Ponte do Salobra	RM	-20°11' 33" 56°30' 16"W	Área antrópica urbana
M5	Base da Polícia Militar Ambiental Miranda	RM	19°42'42.08"S 56°52'15.27"O	Área de circulação de embarcações (Alto Rio)
M6	Pesqueiro Odila	RM	19°24'47.74"S 57°19'53.84"O	Área com atividade pesqueira (Médio Rio)

RA: Rio Aquidauana; RM: Rio Miranda.

3.2. Coleta das amostras e análise de Contaminantes Emergentes

A coleta das amostras de água e análise de contaminantes foram realizadas de acordo com o protocolo proposto por Montagner, Vidal e Acayaba (2017), com adaptações. As amostras de água foram coletadas em frascos de vidro âmbar (1000 mL), previamente lavados e esterilizados. Após a coleta, os frascos foram armazenados em caixa térmica, e transportados para o Laboratório de Ecotoxicologia e Genotoxicidade (LECOGEN) da Universidade Federal da Grande Dourados (UFGD), garantindo a preservação das amostras até o início do preparo.

Foram selecionadas substâncias pertencentes a classes de CE frequentemente detectadas em ambientes aquáticos brasileiros (Montagner, Vidal e Acayaba, 2017; Branco et al., 2021). Entre os compostos analisados estão: fármacos (caféina, diclofenaco, naproxeno, paracetamol, prednisona, sulfametoxazol e sulfatiazol), compostos industriais (bisfenol A (BPA), octilfenol e triclosan), inseticidas (carbofurano, fipronil, imidacloprido e malation), fungicidas (azoxistrobina, carbendazim, epoxiconazol, tebuconazol e trifloxistrobina), herbicidas (2,4-D, atrazina, diuron, hexazinona, simazina e teburiuton), hormônios (estriol, estrona, progesterona, testosterona e 17 α -etinilestradiol) e produtos de degradação (PD) de pesticidas (fipronil

sulfeto, fipronil sulfona, 2-hidroxiatrazina (2-HA), desetilatrazina (DEA), deisopropilatrazina (DIA) e diaminoclorotriazina (DACT)).

Para o preparo das amostras, foi empregada a técnica de extração em fase sólida (SPE - *Solid Phase Extraction*). Foram filtradas 500 mL a vácuo tipo Manifold, utilizando microfiltro em fibra de vidro (GF-1, 7 μ m, 47 mm). A seguir, as amostras foram percoladas por cartuchos de extração HLB Oasis (500 mg) e armazenadas sob congelamento até o momento da análise. Posteriormente, os cartuchos foram transportados para o Laboratório de Química Ambiental (LQA) da Universidade Estadual de Campinas (UNICAMP), acondicionados em caixas isotérmicas com gelo seco, a fim de manter a integridade dos analitos. Os compostos adsorvidos nos cartuchos foram eluídos com duas alíquotas de 4 mL de metanol e uma alíquota de 4 mL de acetonitrila. A eluição foi realizada com sistema de vácuo tipo Manifold com tubos de vidro previamente descontaminados. O eluato foi submetido a secagem a vácuo por 10 minutos e, em seguida, à secagem completa sob fluxo de nitrogênio. Os extratos secos foram ressuspensos em solução composta por água e metanol (70:30 v/v), homogeneizados em agitador tipo vórtex e filtrados em frascos âmbar de 0,2 mL, utilizando filtro de seringa de PTFE (politetrafluoretileno) com porosidade de 0,22 μ m.

A análise dos compostos foi conduzida utilizando técnica de cromatografia líquida acoplada à espectrometria de massas sequencial (LC-MS/MS). Para isso, utilizou-se um cromatógrafo Agilent modelo 1200, equipado com bomba binária, injetor automático e compartimento de coluna termostaticado. A separação cromatográfica ocorreu utilizando uma coluna Zorbax SB-C18 (2,1 x 30 mm, com partículas de 3,5 μ m) mantida a temperatura de 30 °C. A fase móvel utilizada foi constituída de água ultrapura (A) e metanol (B), previamente filtrados em membranas com porosidade de 0,2 μ m, e contendo 0,01% (v/v) de NH_4OH para os compostos que ionizam o modo negativo e contendo 0,01% (v/v) de HCOOH para os compostos que ionizam no modo positivo. Esses aditivos contribuem para a formação adequada dos íons durante a análise.

Os compostos foram ionizados por eletrospray, operando nos modos positivo e negativo, sendo monitorados pelo modo de varredura por múltiplas reações (MRM – *Multiple Reaction Monitoring*). As curvas analíticas foram construídas com base na relação entre a área obtida para cada composto e sua concentração na coluna. Os valores de limite de quantificação (LOQ) foram de 0,001 $\mu\text{g/L}$ para a maioria dos CEs, com exceção de diclofenaco e fipronil sulfeto (0,005 $\mu\text{g/L}$), e malation (0,01 $\mu\text{g/L}$).

3.3. Coleta das amostras de água e teste de embriotoxicidade em Zebrafish

As amostras de água foram coletadas em tubos falcon de 50 mL previamente lavados com água destilada. Em seguida, foram armazenadas em caixas térmicas, e transportadas para o LECOGEN, onde foram refrigeradas a 4°C, armazenadas e transportadas para a Plataforma Zebrafish do Instituto Butantan.

O teste foi conduzido com embriões de Zebrafish, obtidos a partir de indivíduos da linhagem AB, mantidos no Instituto Butantan. O protocolo seguido foi o da Organização para a Cooperação e Desenvolvimento Econômico (OECD 236), referente ao teste de toxicidade em embriões de peixes (*Fish Embryo Toxicity Test*, FET) (OECD, 2013). O experimento foi conduzido de acordo com as diretrizes do Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal (CONCEA) e aprovado pela Comissão de Ética em Pesquisa, sob o protocolo Q-CEP nº 8610030823.

No dia anterior ao teste, foram utilizados Zebrafish adultos, da linhagem AB (International Zebrafish Resource Center, Eugene, OR), os quais foram aclimatados em aquários de reprodução em uma plataforma da ALESCO (Campinas, Brasil) na proporção de 2 machos para 1 fêmea. Para tanto, os parâmetros de cultivo foram controlados, utilizando água de diluição padronizada (60 µg/mL de sais marinhos Instant Ocean em água MiliQ), com temperatura de 28°C, pH 7, condutividade de 0,5 µS/cm e fotoperíodo de 14:10h claro/escuro. Para ocorrer a fertilização e desova, o fundo dos aquários foram substituídos por uma grade de aço inoxidável de 1,25 mm para evitar a predação dos ovos. No dia do teste, após cerca de 30 a 120min da iluminação dos aquários, ocorre a desova. Logo em seguida as grades foram removidas, os ovos retirados e lavados com a água ultrapura. Posteriormente, os ovos foram analisados em estereomicroscópio Leica EZ4W (Leica Microsystems, Cambrigde, Reino Unido), para determinação do número total de ovos e a escolha de ovos fertilizados (viáveis) para realização do experimento.

Os testes de embriotoxicidade foram realizados após a validação da taxa de fertilização de 80%. A diferenciação de ovos fertilizados ocorreu pela verificação das clivagens, que ocorre em média após 15min após a desova, podendo ser identificada por formarem blastômeros e a blástula. Posteriormente, ocorreu a análise e escolha de ovos viáveis com auxílio do microscópio. Os embriões foram imersos nas amostras de água coletadas em RA e RM, até no máximo o estágio de 16 células e no máximo até 4h após a fertilização (hpf).

Os embriões foram expostos às amostras das águas dos RA (A1, A2, A3 e A4) e RM (M1, M2, M3, M4, M5 e M6), e o controle negativo (CN) (meio E2 - *Embryo media*). Cada tratamento foi conduzido em duplicata, com 15 embriões por repetição (n = 30 embriões por

tratamento). Os embriões foram alocados aleatoriamente em placas de cultivo celular de 24 poços, sendo cinco embriões por poço, em volume de 2 mL da respectiva amostra de água.

As placas foram mantidas em estufa a 26 ± 1 °C, com fotoperíodo de 12:12h claro/escuro. A validade do ensaio foi confirmada pela taxa mínima de sobrevivência de 90% no grupo controle negativo. Os indicadores de letalidade, incluíram a coagulação do embrião, ausência de formação de somitos e não descolamento da cauda. Após 96h de exposição, foram avaliadas alterações morfológicas indicativas de efeitos teratogênicos, como malformações na coluna vertebral, edemas no pericárdio e no saco vitelino, malformação da cauda e crescimento reduzido do embrião.

3.4. Análise estatística

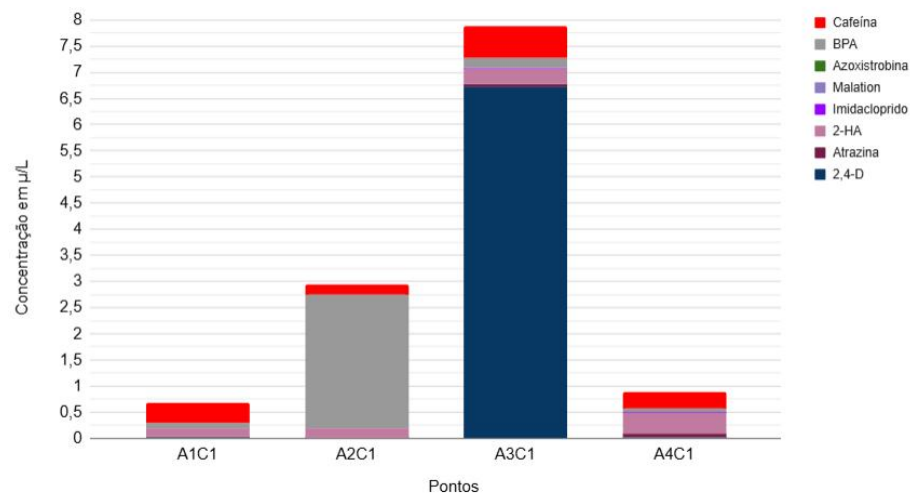
As análises de efeitos letais e as alterações morfológicas obtidas foram analisados verificando a normalidade de dados pelo teste de Shapiro-Wilk. Os dados com distribuição normal foram avaliados com análise de variância (ANOVA) e posteriormente, o teste Bonferroni para comparação múltipla. Nos casos em que a normalidade não foi confirmada, utilizou-se o teste não paramétrico de Mann-Whitney. As diferenças entre os grupos foram consideradas significativas se $p < 0,001$, assim, a amostra será classificada como tóxica quando $p < 0,001$ e não tóxica quando $p > 0,001$. Todas as análises foram realizadas utilizando o software GraphPad Prism, versão 6.02 (GraphPad Software, La Jolla, CA, EUA).

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

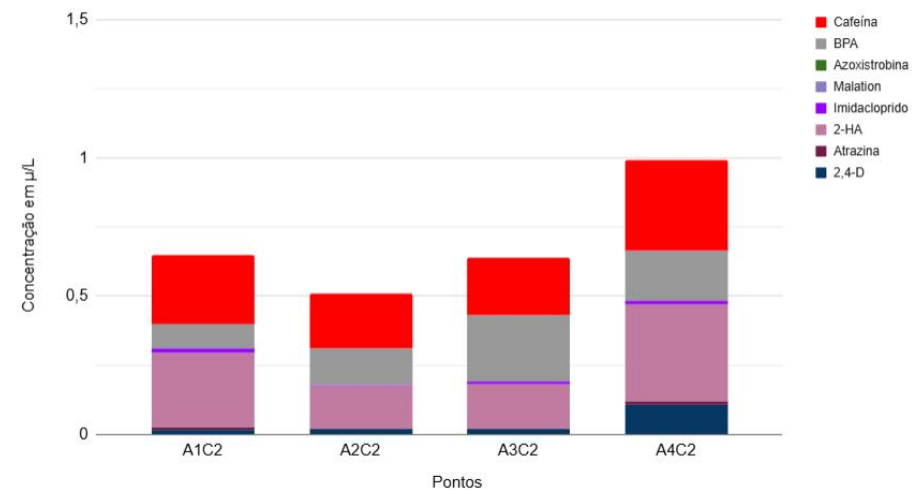
4.1. Identificação de contaminantes emergentes nas amostras de água

A partir das análises químicas realizadas por LC-MS/MS, foi possível detectar e quantificar diversos CE nas amostras de água coletadas nos RA e RM. As concentrações obtidas estão representadas nas Figuras 2 e 3.

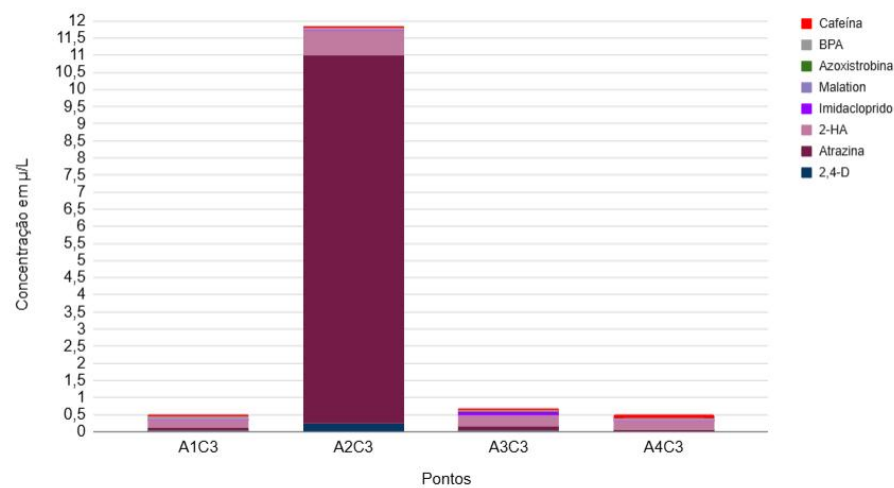
Concentração de Contaminantes Emergentes Detectados nas Amostras de Água do Rio Aquidauana na Coleta 1 (julho/2023)



Concentração de Contaminantes Emergentes Detectados nas Amostras de Água do Rio Aquidauana na Coleta 2 (out/2023)



Concentração de Contaminantes Emergentes Detectados nas Amostras de Água do Rio Aquidauana na Coleta 3 (fev/2024)



Concentração de Contaminantes Emergentes Detectados nas Amostras de Água do Rio Aquidauana na Coleta 4 (maio/2024)

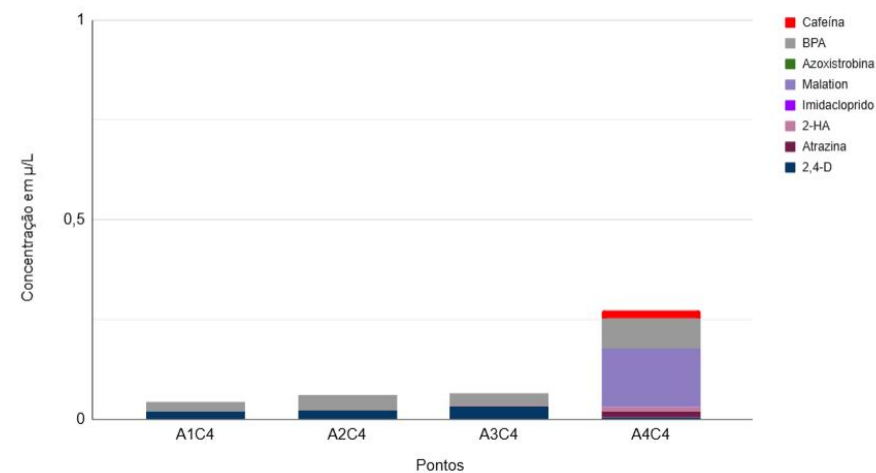
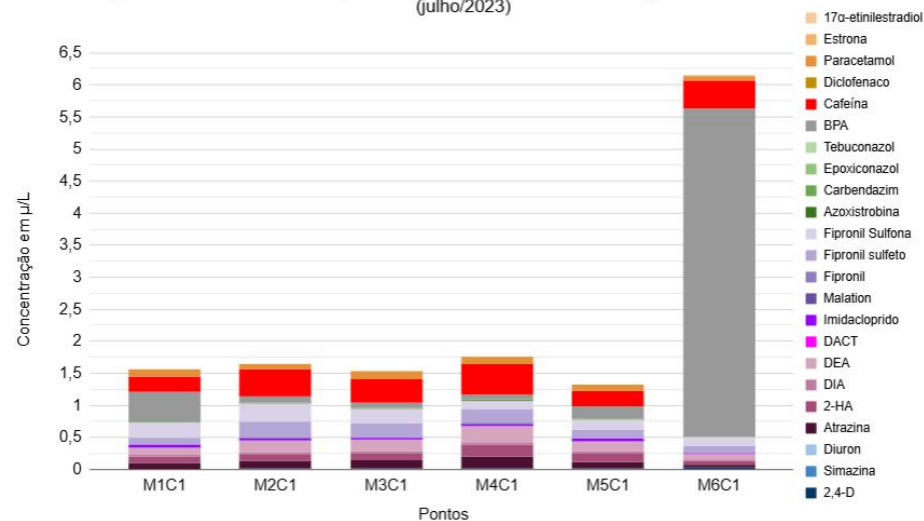
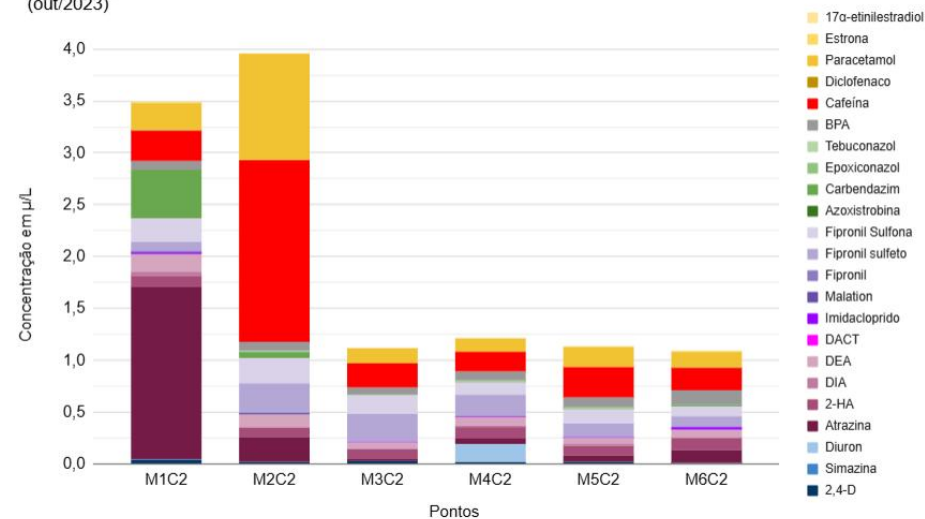


Figura 2. Concentração ($\mu\text{g/L}$) de contaminantes emergentes detectados nas amostras de água coletadas nos pontos A1, A2, A3 e A4 ao longo das quatro campanhas de coleta (C1, C2, C3 e C4) no RA.

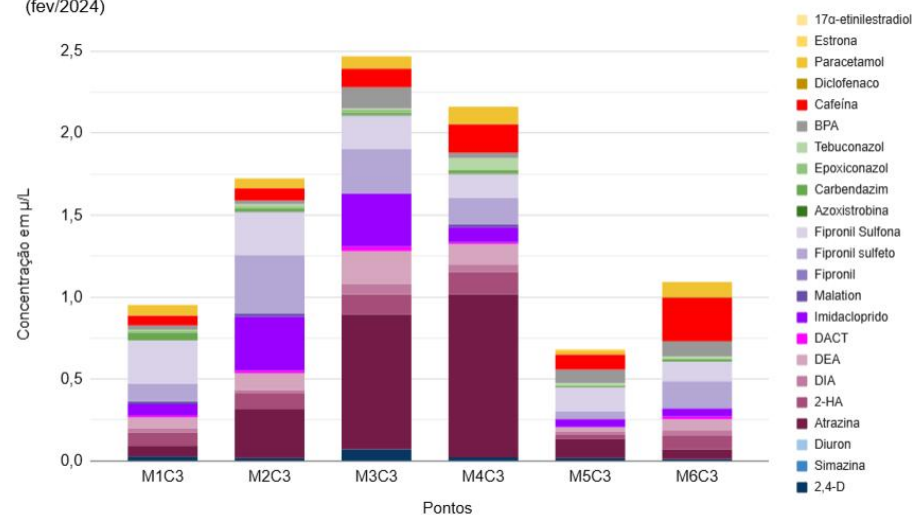
Concentração de Contaminantes Emergentes Detectados nas Amostras de Água do Rio Miranda na Coleta 1 (julho/2023)



Concentração de Contaminantes Emergentes Detectados nas Amostras de Água do Rio Miranda na Coleta 2 (out/2023)



Concentração de Contaminantes Emergentes Detectados nas Amostras de Água do Rio Miranda na Coleta 3 (fev/2024)



Concentração de Contaminantes Emergentes Detectados nas Amostras de Água do Rio Miranda na Coleta 4 (maio/2024)

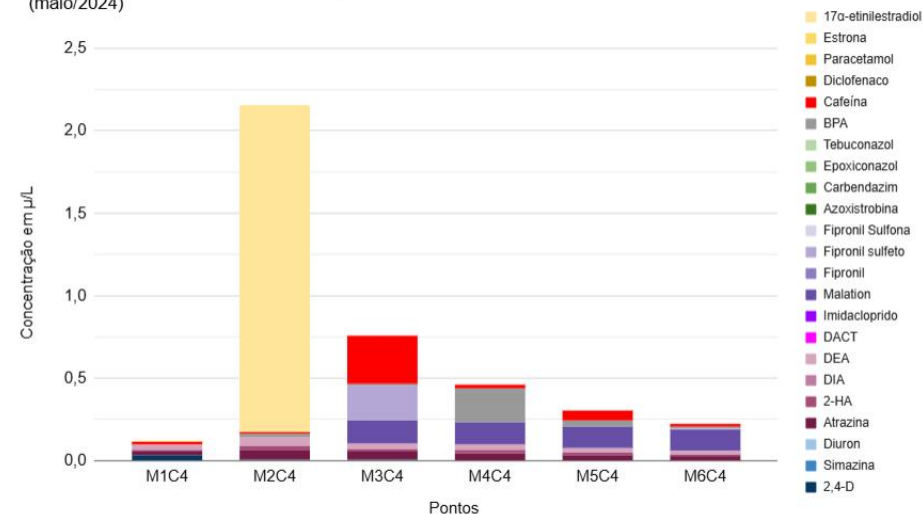


Figura 3. Concentração ($\mu\text{g/L}$) de contaminantes emergentes detectados nas amostras de água coletadas nos pontos M1, M2, M3, M4, M5 e M6, ao longo das quatro campanhas de coleta (C1, C2, C3 e C4) no RM.

As análises realizadas nas amostras do RA revelaram a detecção e quantificação de 8 CE. Entre as classes analisadas, os herbicidas apresentaram as maiores concentrações totais, seguidos pelos compostos industriais. Já no RM, foram identificados 23 contaminantes, com destaque para a classe dos fármacos, que apresentou as maiores concentrações totais, também seguida pelos compostos industriais. A presença de diversos produtos de degradação de agrotóxicos (como 2-HA, DIA, DEA, DACT, fipronil sulfeto e fipronil sulfona) no RM reforça o potencial de contaminação associada ao uso agrícola intensivo. Em ambos os rios, os CE 2,4-D, 2-hidroxiatrazina (2-HA) e bisfenol A (BPA) foram os mais recorrentes, sendo quantificados em todos os pontos amostrados ao longo das quatro campanhas de coleta, indicando alta frequência e ampla distribuição. Além disso, entre os 23 contaminantes detectados, apenas 7 são regulamentados pela legislação brasileira (Tabela 2) (Brasil, 2005).

O monitoramento das águas dos rios pantaneiros foi realizado em períodos que permitem correlacionar com as fases da cultura de soja no Centro-Oeste, principalmente no Mato Grosso do Sul, em que a atividade agrícola é intensa e apresentar o potencial de influenciar a qualidade da água por meio do uso de agrotóxicos.

A coleta 1, realizada em julho de 2023, coincide com o período de preparo do solo para plantio da soja. A detecção de concentrações expressivas de CEs, como 2,4-D em A3C1, além da presença recorrente de atrazina e seus PD no RM, pode estar relacionada tanto à aplicação pré-plantio, quanto à persistência e lixiviação dos produtos nas matrizes ambientais (Silva, Moreira e Silva, 2010). Na coleta 2, correspondente ao início do plantio da soja, verifica-se aumento nas concentrações de agrotóxicos, como observado por M1C1 e M1C2, possivelmente relacionado à aplicação recente e intensiva desses compostos. Na coleta 3, realizada durante o período de maior desenvolvimento da cultura, caracterizado por pulverizações frequentes, apresentou maiores concentrações de agrotóxicos, com destaque para A2C3. Esse cenário sugere a intensificação do uso desses produtos agrícolas e o aumento da frequência de misturas de agrotóxicos, conforme observado em RM (Silva, Moreira e Silva, 2010).

Tabela 2. Maiores concentrações ($\mu\text{g/L}$) quantificadas de contaminantes e seus respectivos pontos de amostragem nos Rios Aquidauana (RA) e Miranda (RM) comparados à Resolução CONAMA n°357/2005.

Contaminantes	Conc. Máx. RA	Ponto Máx. RA	Conc. Máx. RM	Ponto Máx. RM	VMP
2,4-D	6.731	A3C1	0.074	M3C3	4.0
Atrazina	10.757	A2C3	1.668	M1C2	2.0

2-HA	0.731	A2C3	0.191	M4C1	2.0
DIA	<LOQ	<LOQ	0.065	M3C3	2.0
DEA	<LOQ	<LOQ	0.244	M4C1	2.0
DACT	<LOQ	<LOQ	0.027	M3C3	2.0
Malation	0.147	A4C4	0.137	M3C4, M4C4	0.1

VMP: Valor Máximo Permitido conforme normativa CONAMA nº357/2005; LOQ: Limite de Quantificação.

A Tabela 2 revela que as maiores concentrações de CE, quando comparada às Resolução CONAMA nº357/2005 foram quantificados principalmente no RA (Brasil, 2005). No RM, foram encontradas concentrações acima do valor máximo permitido (VMP) para o malation (0,137 µg/L em M3C4 e M4C4) (Brasil, 2005). Além da presença de concentrações elevadas no RA, como é o caso da atrazina (10,757 µg/L em A2C3), 2,4-D (6,731 µg/L em A3C1) e malation (0,147 µg/L em A4C4), ultrapassando os seus VMP de 2 µg/L, 4 µg/L e 0,1 µg/L, respectivamente, indicando episódios de contaminação intensa (Brasil, 2005).

Os testes ecotoxicológicos são ferramentas essenciais para avaliação da qualidade ambiental, principalmente em ambientes aquáticos expostos a CE não regulamentados. Conforme reconhecido pela Resolução CONAMA nº357/2005, esses testes permitem detectar efeitos subletais e letais em organismos-modelo sensíveis, complementando as análises químicas. Além disso, esses testes oferecem subsídios para inferência de riscos ecológicos em diferentes níveis de organização biológica, desde indivíduos até comunidades (Lopes-Ferreira et al., 2021).

No presente estudo, o teste de embriotoxicidade com Zebrafish (FET, OECD 236, 2013) foi utilizado para investigar o potencial tóxico das amostras de água coletadas nos RA e RM. Os embriões foram avaliados quanto à ocorrência de mortalidade e malformações morfológicas após 96h de exposição. Os resultados indicam que as amostras de água do RA e RM apresentaram potencial tóxico, refletido tanto no aumento da mortalidade quanto na frequência de anormalidades no desenvolvimento embrionário (Figuras 4 e 5).



Figura 4. Resultados do teste de embriotoxicidade em *D. rerio* expostos às águas do Rio Aquidauana. As barras representam a média percentual de embriões com mortalidade (vermelho), teratogenicidade (amarelo) e desenvolvimento normal (verde). *Indica diferença significativa em relação ao controle (teste de Mann-Whitney, $p < 0,001$).

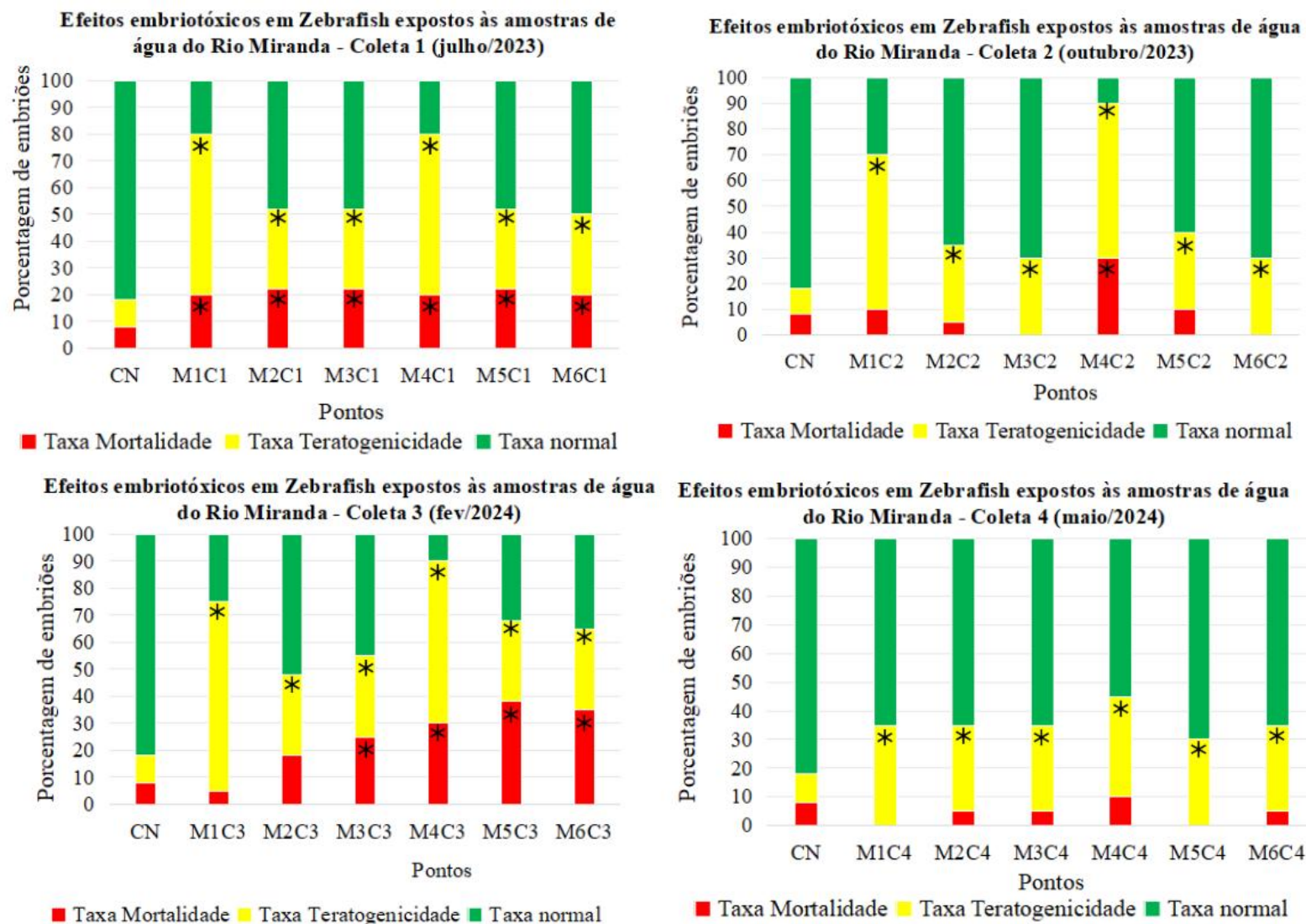


Figura 5. Resultados do teste de embriotoxicidade em *D. rerio* expostos às águas do Rio Miranda. As barras representam a média percentual de embriões com mortalidade (vermelho), teratogenicidade (amarelo) e desenvolvimento normal (verde). *Indica diferença significativa em relação ao controle (teste de Mann-Whitney, $p < 0,001$)

Dentre os pontos amostrados no RA observou-se diferença significativa na mortalidade embrionária nos seguintes locais: A1, A3 e A4 durante a coleta C1; A1, A2 e A3 na coleta C2; e todos os pontos amostrados da coleta C3. No RM, a mortalidade significativa foi detectada em todos os pontos da coleta C1, no ponto M4C2, e nos pontos M3, M4, M5 e M6 durante a coleta C3.

No RA, a amostra A2C3 apresentou a maior taxa de mortalidade (60%), seguido por A2C2 (50%), e por A1C1, A3C2 e A3C3, todos com 40%. Ao integrar os dados CE e ecotoxicológicos, foi possível verificar que A2C3, além de apresentar a maior taxa de mortalidade, foi também o ponto com a maior concentração total de CEs do RA, destacando-se detecção da atrazina (10,76 µg/L) em concentrações acima do VMP da CONAMA nº357/2005 (Brasil, 2005). De forma similar, em A2C2, A1C1 e A3C2, que também apresentaram embriotoxicidade significativa, apresentaram concentrações elevadas de 2-hidroxiatrazina (2-HA), bisfenol A (BPA) e cafeína. Na amostra A3C3, que apresentou uma das maiores taxas de mortalidade, destacaram-se as quantificações atrazina, 2-HA e imidacloprido.

No RM, os maiores índices de mortalidade foram observados em M5C3 (38%), M6C3 (35%) e M4 nas coletas C2 e C3 (30%). Apesar de M5C3 e M6C3 estarem localizados em áreas mais afastadas de núcleos urbanos (“alto rio” e “médio rio” do Pantanal, respectivamente), foram os que apresentaram os efeitos tóxicos mais acentuados, sugerindo contribuição de fontes difusas ou transporte de contaminantes a montante. Em M4C2, quantificou-se a maior concentração de diuron (0,168 µg/L), enquanto em M4C3 foi registrado o maior valor de tebuconazol (0,068 µg/L), ambos agrotóxicos conhecidos por seus efeitos adversos ao desenvolvimento embrionário.

4.2. Herbicidas e seus PD nas amostras de água coletadas em RA e RM

A presença de agrotóxicos como herbicidas e seus produtos de degradação, indicam impactos diretos da agricultura nas matrizes ambientais. Essa relação é evidenciada pelas maiores concentrações de herbicidas em A2 e A3 do RA, pontos caracterizados pelas intensas atividades agrícolas. Enquanto no RM foi observada a presença majoritária de herbicidas em M1, M2, M3 e M4, onde existe atividade agropecuária e a utilização desse tipo de produtos é ampla.

O herbicida 2,4-D no RA, foi encontrado em maior concentração (6,731 µg/L) em A3C1 (Figura 2). Destaca-se que sua maior concentração excedeu o VMP estabelecido pela resolução CONAMA nº 357/2005 de 4 µg/L (Brasil, 2005). Características como baixo custo,

moderada solubilidade em água e capacidade de regular o crescimento de plantas daninhas em cultivos como milho, soja, arroz, aveia e café, tornam o 2,4-D um dos herbicidas mais utilizados internacionalmente (Health Canada, 2020; Islam et al., 2018). No entanto, sua solubilidade favorece sua capacidade de sofrer lixiviação para águas superficiais e subterrâneas (Islam et al., 2018). Considerando a meia-vida do 2,4-D (20-312 dias), e sua excedência aos limites da legislação brasileira, esse herbicida se torna um risco à biota aquática. (Islam et al., 2018).

A Simazina, herbicida da classe triazina, utilizada em cultivos de banana, café, cana-de-açúcar e milho no Brasil (Gomes et al., 2023), foi detectada apenas no RM nas concentrações de 0,002 e 0,013 µg/L, em M4C3 e M1C2, respectivamente (Figura 3). A baixa solubilidade e volatilidade indicam o potencial bioacumulativo da simazina, justificando a classificação de toxicidade ambiental moderada pela Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA, 2020). No entanto, esse agrotóxico é frequentemente encontrado nas matrizes aquáticas, visto que Martini et al. (2021), o identificaram nos rios e reservatórios de São Paulo em concentrações entre 0,0005-0,044 µg/L.

Diuron é um herbicida utilizado para o controle de gramíneas e plantas daninhas em culturas de algodão, milho e soja (Zaluski et al., 2022). Embora não tenha sido detectado no RA, Viana et al. (2023) relataram esse contaminante no mesmo rio, com concentração média de 0,009 µg/L. Por outro lado, o diuron foi quantificado em três amostras do RM. A baixa solubilidade do diuron em água, mostra o seu potencial de bioacumulação em tecidos, adsorção em partículas ou sedimentos, e persistência no solo (Zaluski et al., 2022).

A detecção recorrente do diuron em diferentes locais, incluindo em rios e reservatórios para abastecimento humano (0,026-0,134 µg/L) e no Rio Brilhante-MS (0,006 µg/L), sugere a persistência do herbicida no ambiente aquático (Martini et al., 2021; Sposito et al., 2018).

Outro herbicida amplamente utilizado para controle de plantas daninhas em culturas de milho e cana-de-açúcar é a atrazina (Adeyemi et al., 2015). Destaca-se que, no RA, a atrazina foi quantificada em concentração de 10,7565 µg/L, em A2C3, valor acima do VMP disposto pela resolução CONAMA nº 357/2005, sendo de 2 µg/L (Brasil, 2005). Esse composto possui a capacidade de adentrar as matrizes aquáticas por meio da lixiviação ou escoamento superficial, além de apresentar potencial de biomagnificação ao longo da cadeia trófica e bioacumulação nos tecidos dos organismos (CETESB, 2018; Vizioli et al., 2023).

Diante disso, a atrazina está banida na União Europeia desde 2017 e, em 2024, foi proposto um projeto para sua proibição no Brasil (Bombardi, 2023). Apesar de políticas públicas voltadas à restrição de seu uso, a atrazina continua sendo detectada em diferentes

matrizes ambientais. Em rios e reservatórios de São Paulo, as suas concentrações variaram entre 0,0031-0,086 µg/L (Martini et al., 2021). A atrazina também já foi encontrada anteriormente em rios do MS, como por exemplo, no Rio Brilhante a concentração encontrada foi de 0,0421 µg/L, enquanto no RA a concentração máxima quantificada foi de 0,015 µg/L (Sposito et al., 2018; Viana et al., 2023).

A lenta degradação da atrazina no meio aquático, em função de sua meia-vida que varia entre 90 a 180 dias, resulta em PD como 2-HA, DIA, DEA e DACT (Vizioli et al., 2023). A Agência de Proteção Ambiental dos EUA (USEPA) verificou que a atrazina, DEA e DIA atuam como disruptores endócrinos ambientais, e assim, possuem a capacidade de alterar a estrutura ou função do sistema endócrino, por meio da ativação ou bloqueio de receptores hormonais (Zhao et al., 2024). Apesar do lento processo de degradação da atrazina, é importante incluir a análise de seus PD, uma vez que podem apresentar toxicidade similar e são quantificados em concentrações superiores às da substância original, como é observado em RA e RM.

O composto 2-HA não possui a mesma toxicidade quanto à molécula original ou os outros PD (WHO, 2011). Apesar do 2-HA ter apresentado a maior concentração entre os PD no presente estudo, ele é o PD encontrado com menor frequência em análises ambientais (Martini et al., 2021). Os demais PD da atrazina, tal como DIA, DEA e DACT não foram detectados no RA. Entretanto, estes mesmos PD foram quantificados no RM (Figura 3). O DEA foi o PD encontrado em maior concentração e frequência, seguido pelo DIA e, por fim, o DACT.

4.3. Inseticidas e seus PD nas amostras de água coletadas em RA e RM

Os inseticidas são utilizados com objetivo de aumentar a produtividade, ao realizar o controle de pragas e garantir a qualidade das culturas. No RA, a classe dos inseticidas e seus PD foi registrado principalmente em A4, porção alagável do Pantanal. Enquanto no RM, a essa classe apresentou maior concentração total no ponto M3, caracterizado pela alta influência agrícola.

O imidacloprido, inseticida amplamente utilizado nas culturas de algodão e milho, foi quantificado em 75% das amostras, em ambos os rios. O imidacloprido é um composto neonicotinoide, que afeta o sistema nervoso de insetos (Wu et al., 2018). Apresenta características como baixa volatilidade e alta solubilidade em água, tornando-o um composto com alto poder de lixiviação (Wu et al., 2018). Assim, além de persistir no meio ambiente, possui alta biodisponibilidade para a biota aquática (Wu et al., 2018).

O malation é um inseticida organofosforado mundialmente utilizado em plantações (Cui et al., 2023). No RA, foi quantificado somente em A4C4 com a concentração de 0,147 µg/L. No RM, foi quantificado em 45% das amostras, com a maior concentração (0,137 µg/L) encontrada em M4C4. Destaca-se que as maiores concentrações de malation verificadas em ambos os rios excederam o VMP estabelecido pela CONAMA nº 357/2005 de 0,1 µg/L (Brasil, 2005). Essa situação evidencia a preocupação quanto à presença de malation em concentrações superiores ao limite permitido pela legislação brasileira, o que pode representar riscos à biota aquática e comprometer a qualidade nos rios do Pantanal Sul-Mato-Grossense.

O fipronil é um inseticida da classe fenilpirazol, que age atacando o sistema nervoso de insetos (Xu et al., 2018). A presença desse CE é frequente em corpos d'água, devido a sua capacidade de migrar e acumular nas matrizes aquáticas (Xu et al., 2018). No presente estudo, o fipronil não foi detectado no RA. Por outro lado, no RM, foi quantificado em 37% das amostras.

É importante analisar a presença dos PD do fipronil, uma vez que sua degradação forma PD com toxicidade equivalente ou superior à da substância original e, também, podem estar presentes com maiores frequências e concentrações que o ingrediente ativo original (Xu et al., 2019), como foi observado no presente estudo. Dentre os PD, estão o fipronil sulfona e fipronil sulfeto. No RA não foram detectados PD do fipronil. Por outro lado, todos os PD foram detectados no RM na frequência de 79% das amostras.

4.4. Fungicidas e seus PD nas amostras de água coletadas em RA e RM

O uso de fungicidas agrícolas está relacionado à proteção e tratamento de culturas, visando o aumento da produtividade. No RA, esta classe teve maiores concentrações em A3 e A2, enquanto no RM a maior concentração foi registrada em M1. Essa situação evidencia que a intensa atividade agrícola realizada no entorno dos rios, influencia diretamente a qualidade das águas.

O fungicida azoxistrobina amplamente utilizado, principalmente para proteção de culturas de soja, possui um destaque importante no comércio mundial e é frequentemente encontrado em diversas matrizes ambientais (Vieira et al., 2021). Situação evidenciada pela sua detecção em todos os pontos e coletas, embora tenha sido quantificado em 60% de todas as amostras dos rios RA e RM.

Outros fungicidas como o carbendazim, epoxiconazol e tebuconazol não foram detectados no RA. No entanto, foram quantificados no RM (Figura 3). Dentre os fungicidas quantificados no RM, o epoxiconazol foi o mais frequente, presente em 75% das amostras,

seguido pelo carbendazim (70%), enquanto o tebuconazol apresentou a menor frequência de quantificação (66%).

O carbendazim é um fungicida utilizado principalmente no cultivo de milho, soja e arroz (Oliveira et al., 2024). O epoxiconazol, fungicida da classe triazol, é eficiente contra o controle de fungos na agricultura (Weng et al., 2021). O fungicida tebuconazol é utilizado na agricultura e, devido a sua meia-vida entre 300-600 dias, é um contaminante persistente e frequente no meio ambiente (Li et al., 2020).

4.5. CE farmacêuticos e industriais

Atividades antrópicas, como escoamento urbano, contribuem diretamente no lançamento de contaminantes de origem industrial e farmacêuticas no ambiente aquático. Nos locais impactados por áreas urbanas, como A1 e A3, foram encontrados fármacos com maior frequência. Destaca-se o ponto A3, que apresentou a maior concentração de cafeína entre todos os pontos e coletas, refletindo a intensa atividade urbana em seu entorno. No RM, a presença de fármacos em M2, M4 e M5, são resultados da incidência urbana. Dentre as classes dos produtos farmacêuticos e indústrias, foram detectados cafeína, paracetamol, diclofenaco e BPA, nenhum dos compostos são regulados pela legislação brasileira.

Dentre os produtos industriais analisados, o BPA foi o único produto industrial quantificado em todas as amostras do RA e RM. No RA, a maior concentração de BPA foi 2,546 µg/L, em A2C1 (Figura 2). Enquanto no RM foi de 5,123 µg/L, em M6C1 (Figura 3). O BPA é um dos compostos mais utilizados na indústria, sendo um monômero da formação de materiais de construção, embalagens e eletrônicos (Scopel et al., 2021). Diante disso, infelizmente, é um contaminante presente não só ambientalmente, mas também detectado como resíduo em alimentos e água potável (Scopel et al., 2021). Tal situação é preocupante devido a seu potencial de atuar como disruptor endócrino e agente carcinogênico, além de causar efeito bioacumulativo (Scopel et al., 2021). É um contaminante frequentemente detectado em amostras ambientais, com presença já identificada anteriormente em rios e reservatórios de São Paulo, na faixa entre 0,0065-1,3 µg/L (Martini et al., 2021). Além disso, foi quantificado no Rio Dourados nas concentrações entre 0,0153-0,0295 µg/L e, também, cerca de 0,027-0,066 µg/L no Rio Aquidauana (Sposito et al., 2018; Viana et al., 2023). No presente estudo, os valores encontrados variaram de 0,011-5,1430 µg/L, estando acima dos dados previamente relatados, o que evidencia maior pressão antrópica na região.

Dentre os fármacos, somente a cafeína foi quantificada nos dois Rios do Pantanal Sul-Mato-Grossense e com a frequência de 100% das amostras. Por outro lado, o paracetamol e

diclofenaco foram quantificados somente no RM. Embora tenham sido detectados em todos os pontos de RM, o paracetamol foi quantificado em 75% das amostras, enquanto o diclofenaco apresentou frequência de 25%.

A cafeína é um estimulante ao sistema nervoso central, presente em bebidas ou medicamentos, enquanto os fármacos paracetamol e diclofenaco são utilizados devido a sua função analgésica e anti-inflamatória, respectivamente (Santos et al., 2023). Devido ao elevado consumo populacional, esses CEs são frequentemente encontrados em matrizes ambientais, principalmente como consequência do descarte inadequado e da insuficiência no tratamento de esgoto doméstico, evidenciando a interferência antrópica nos ecossistemas aquáticos. Dentre os produtos farmacêuticos, a cafeína é o contaminante mais frequentemente encontrado no meio ambiente (Montagner et al., 2018). Tal situação é evidenciada por Sposito et al. (2018) e Martini et al. (2021), ao identificarem, entre os fármacos analisados, apenas a cafeína. Diante disso, a Organização Mundial da Saúde enfatizou a necessidade de regulamentações, políticas públicas, monitoramento e análise dos potenciais riscos sobre a presença de fármacos em águas com a finalidade de abastecimento humano ou destinada a dessedentação de animais (WHO, 2011).

4.6. Hormônios nas amostras de água coletadas em RA e RM

A interferência do escoamento urbano e da pecuária contribui para a presença de hormônios no meio ambiente aquático. Embora o M2 seja um local com atividade agrícola e pesca, apresentou maior a concentração de hormônios, evidenciando a influência indireta de CE de origem urbana ou piscicultura, transportados pelo fluxo do rio.

Os contaminantes da classe dos hormônios só foram detectados no RM, sendo eles estrona e 17 α -etinilestradiol. A estrona foi quantificada na frequência de 47% das amostras, enquanto o 17 α -etinilestradiol só foi quantificado exclusivamente na amostra M2C4, com a concentração de 1,973 $\mu\text{g/L}$ (Figura 3). A estrona é um hormônio feminino responsável pelo desenvolvimento sexual e excretada pela urina, demonstrando que sua presença no meio ambiente é um indicativo de contaminação antrópica e atividade pecuária (Wu et al., 2021). A presença da estrona em águas superficiais é preocupante devido ao potencial tóxico e, também, por sua degradação resultar em produtos com alta toxicidade como 17 α -etinilestradiol (Wu et al., 2021). O 17 α -etinilestradiol é um dos principais princípios ativos de contraceptivos orais e suplementos agropecuários (Stewart et al., 2023). Os dois hormônios presentes no RM atuam como disruptores endócrinos e, por serem compostos lipofílicos, apresentam potencial de bioacumulação, sugerindo potencial risco à biota aquática (Wu et al., 2021).

4.7. Avaliação da embriotoxicidade de Zebrafish expostos às amostras de água

O córion é uma estrutura presente até o momento da eclosão (48-72hpf), e atua como barreira protetora e seletiva, protegendo o embrião de danos mecânicos e substâncias nocivas (Kimmel et al., 1995). Diante disso, a maior frequência de mortalidade em 24h nos embriões expostos às águas dos rios do Pantanal, indica danos ao córion dos organismos, resultando na ineficiência da estrutura em desempenhar suas funções.

Alterações morfológicas indicativas de efeitos teratogênicos foram detectadas em aproximadamente 90% das amostras, considerando todos os pontos de coleta e campanhas de amostragem. Entre as malformações mais recorrentes, destacaram-se edema pericárdico e no saco vitelínico, escoliose, curvatura da cauda, atraso no desenvolvimento, ausência de boca e bexiga natatória não inflada (Figura 6A-E).

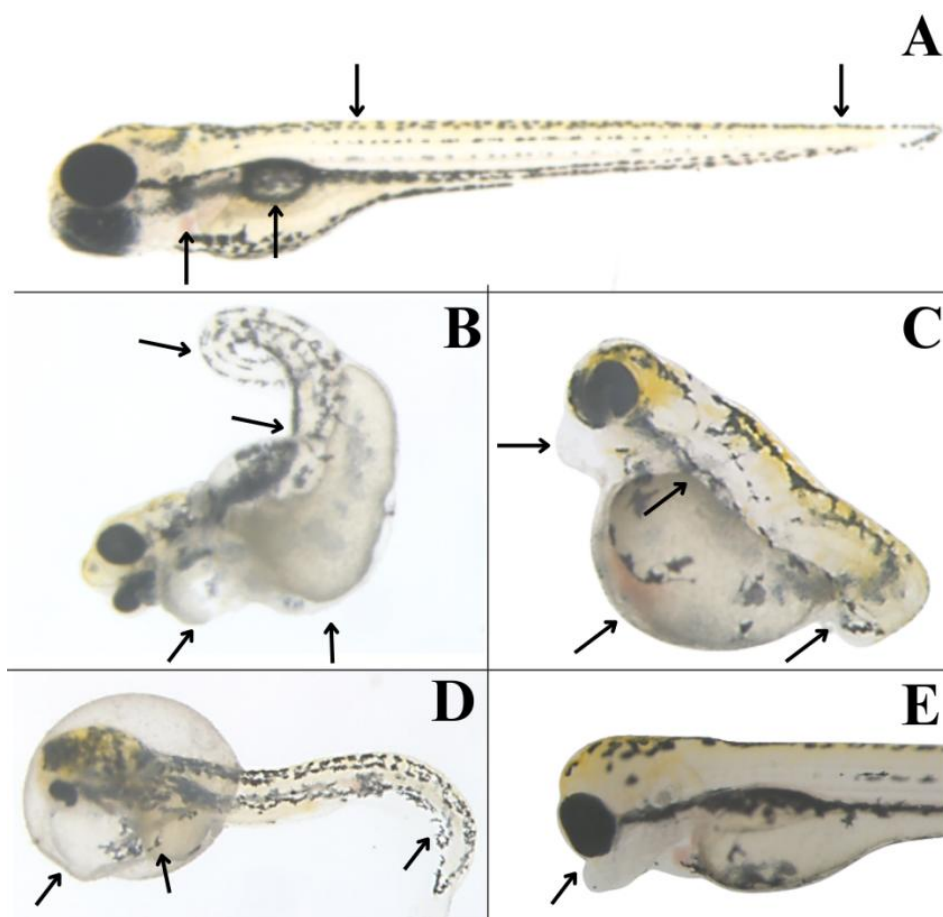


Figura 6. Imagens representativas das anomalias morfológicas observadas em embriões de *D. rerio* expostos às amostras de água: **6A.** Embrião do CN em 96h, com morfologia normal, pericárdio íntegro, coluna vertebral alinhada, cauda reta e bexiga natatória inflada. **6B.** Edema pericárdico e saco vitelínico, escoliose e curvatura de cauda curva. **6C.** Bexiga natatória não inflada, edema pericárdico e vitelínico, e curvatura da cauda. **6D.** Atraso no desenvolvimento, edema pericárdico e curvatura da cauda. **6E.** Ausência de boca.

A bexiga natatória não inflada foi o principal efeito teratogênico observado. No RA, essa alteração foi registrada em todos os pontos e coletas. No RM, foi observada em todos os pontos, com exceção do ponto M6 nas 4 coletas. A bexiga natatória é visível após aproximadamente 72hpf, no estágio inicial da larva após a eclosão (Venuto et al., 2023). O seu desenvolvimento é controlado pela tireoide e a produção de seus hormônios (Godfrey et al., 2017). Assim, o movimento da larva emergir à superfície e inspirar o ar pela boca resulta na inflação da bexiga natatória, cuja regulação permite a flutuabilidade e reduz o gasto energético do peixe (Venuto et al., 2023). Ademais, essa flutuabilidade capacita a procura por alimentos e o movimento de esquiva, tornando possível a proteção a predação (Venuto et al., 2023). Desse modo, o contato do Zebrafish com contaminantes disruptores endócrinos pode resultar na ruptura da tireoide ou na redução de produção de proteínas surfactantes (Godfrey et al., 2017). As proteínas surfactantes atuam como um mecanismo de defesa, buscando atenuar a tensão superficial do órgão (Godfrey et al., 2017).

Nesse contexto, contaminantes identificados no presente estudo, como atrazina, DEA, DIA, BPA, estrona e 17 α -etinilestradiol, considerados disruptores endócrinos ambientais, mesmo em baixas concentrações e diluídos nas águas dos rios, podem comprometer a tireoide, causar estresse ambiental e, conseqüentemente, levar à deflação da bexiga natatória. Considerando a importância desse órgão para a sobrevivência, é possível inferir que larvas que sobrevivem à exposição, mas que apresentam essa anomalia, possivelmente não alcançam a fase adulta, culminando em mortalidade posterior.

O saco vitelínico é essencial para a nutrição do embrião e, também, é uma estrutura que apresenta contato direto do organismo com o ambiente aquático (Xu, et al. 2019). Devido à sua função e elevada lipofilicidade, essa estrutura pode atuar como principal via de transferência de contaminantes lipofílicos ao embrião, como os CE's simazina, diuron, atrazina, malation, fipronil, fipronil sulfona, BPA, estrona e 17 α -etinilestradiol. Essa transferência pode levar à formação de edemas no saco vitelínico e comprometer sua função nutritiva (Xu et al., 2019).

Embora os contaminantes presentes nas águas dos rios do Pantanal Sul-Mato-Grossense, estejam em concentrações baixas, diluídos e misturados com outros compostos, é importante considerar seu potencial toxicológico individual. Demonstrando que o uso de testes ecotoxicológicos, mesmo com concentrações maiores do que as ambientalmente relevantes, possibilita o início de uma discussão e resposta quanto à capacidade dos contaminantes de bioacumular e persistir nas matrizes ambientais (Calvelli et al., 2023).

Dentre os inseticidas, Cui et al. (2023) verificaram que larvas de Zebrafish expostas por 15 dias ao malation, apresentaram bioacumulação, sendo o cérebro o principal órgão afetado. Somado a isso, Xu et al., (2018) evidenciaram a exposição acima de 100 µg/L do inseticida fipronil em larvas de Zebrafish resultou em mortalidade e efeitos teratogênicos, como deformação na coluna e redução do tamanho corporal. Comparando o fipronil com seu PD, Xu et al. (2019) constataram que o PD fipronil sulfona, além de se bioacumular nos tecidos, é capaz de se bioconcentrar ao longo de gerações de Zebrafish expostos tanto ao PD quanto à substância original. De forma complementar, Kim & Lee (2023) verificaram que ao expor embriões de Zebrafish às mesmas concentrações de fipronil, fipronil sulfeto e sulfona, o fipronil sulfeto obteve a mesma tendência de toxicidade da substância original, resultando na mortalidade das larvas, além de reduzir o tamanho corporal dos embriões.

No grupo dos herbicidas, Dehnert et al. (2019) observaram que o 2,4-D, em concentrações a partir de 100 µg/L, reduz a atividade neurológica e aumenta a mortalidade de larvas de Zebrafish. Ademais, Adeyemi et al. (2015) identificaram efeitos teratogênicos significativos, como edemas, atraso no desenvolvimento e escoliose, em embriões expostos a 21,57 µg/L de atrazina. Liu et al. (2016) compararam a embriotoxicidade da atrazina com seus metabólitos (DACT, DIA e DEA) e verificaram que, a partir de 100 µg/L, todos esses compostos afetaram negativamente o sistema nervoso, reduzindo a percepção e a atividade locomotora das larvas.

Esses resultados reforçam a preocupação com a presença de substâncias como atrazina e fipronil nas águas, não apenas pela sua toxicidade direta, mas também pela liberação de seus metabólitos nos ambientes aquáticos. A comparação entre os efeitos da substância original e de seus produtos de degradação evidencia que os PDs podem apresentar toxicidade equivalente ou até superior à do composto original, aumentando os riscos ecotoxicológicos associados à exposição prolongada.

É importante salientar que os contaminantes estão misturados nas amostras de água dos rios, assim, mostra-se a necessidade de compreender o efeito sinérgico dos compostos. Isso é evidenciado por Maia et al. (2025), demonstraram o sinergismo entre atrazina e diuron, e verificaram que esses contaminantes aumentavam a produção de enzimas como CAT (catalase), GST (Glutathione S-Transferase), GPx (Glutathione peroxidase), LDH (lactato desidrogenase), e AChE (acetilcolinesterase).

No estudo da indução do estresse oxidativo, Maia et al. (2025) evidenciaram que o diuron, atua como uma substância teratogênica a 10000 µg/L e, acima de 1250 µg/L, induz a produção de enzimas como CAT e GST. Além disso, Wu et al. (2018) constataram que, o imidacloprido induziu o aumento da atividade do CYP450 (Citocromo 450), indicando a

tentativa dos embriões de Zebrafish de metabolizar e eliminar o contaminante, seguido pelo aumento de enzimas antioxidantes (Wu et al., 2018).

Dentre a classe dos fungicidas, a exposição de Zebrafish adultos a 180 µg/L de tebuconazol, registrou-se o aumento da atividade de enzimas GST, CAT e SOD no fígado, indicando a tentativa do organismo em combater as espécies reativas de oxigênio (ROS) resultante da degeneração hepática (Li et al., 2020).

O aumento da atividade de enzimas antioxidantes, as quais eliminam o excesso de espécies reativas de oxigênio (ROS), indicam a capacidade do diuron, atrazina, imidacloprido e tebuconazol em induzir o estresse oxidativo em Zebrafish (Wu et al., 2018).

Além disso, Vieira et al. (2021) analisaram que a exposição de embriões de Zebrafish a concentrações a partir de 1 µg/L de azoxistrobina, causou edema no saco vitelínico e alterações no olho. Ademais, Oliveira et al. (2024) evidenciaram que a exposição de Zebrafish adulto à concentração máxima permitida de carbendazim em água potável (120 µg/L), resultou na redução da velocidade de nado e da captação de ar na superfície, indicando maior esforço do organismo para manter a homeostase e reduzir o contato com o contaminante. A exposição de embriões de zebrafish à 1000 µg/L de epoxiconazol, mostra a capacidade do fungicida em atuar como substância teratogênica, resultando na curvatura espinhal, edema no pericárdio e saco vitelínico (Weng et al., 2021).

Dentre a classe dos produtos industriais, Scopel et al. (2021) analisaram a teratogenicidade do BPA a 50 µg/L, detectando edema no pericárdio e saco vitelínico, além de malformação na cauda e espinha.

Considerando a alta incidência da cafeína no ambiente aquático, Santos et al., (2023), identificaram que à 0,5 µg/L a cafeína induz comportamento agressivo, reduz a sociabilidade e comportamento exploratório em Zebrafish adultos. Nesse contexto, a quantificação de valores acima de 0,5 µg/L nos Rios Aquidauana e Miranda, demonstra o potencial das amostras de águas em alterar respostas neurocomportamentais em organismos não-alvo. Além disso, Chabchoubi et al. (2023) compararam a toxicidade entre farmacêuticos, constataram que o diclofenaco além de apresentar maior toxicidade ($LC_{50}=2,93$ mg/L) em relação ao paracetamol ($LC_{50} = 3,27$ mg/L), também provocou, com maior frequência, efeitos teratogênicos como redução do volume do saco vitelínico e do tamanho dos olhos.

Quanto aos efeitos teratogênicos em Zebrafish, decorrentes da exposição de hormônios, Wu et al. (2021) demonstraram que a 1 nM de estrona, resulta na redução das atividades neurocomportamentais em adultos da espécie. Somado a isso, exposição de juvenis a 0,01 µg/L de 17α-etinilestradiol impacta negativamente no desenvolvimento craniofacial e reduz o

tamanho corporal (Stewart et al., 2023). Considerando que, no ponto M2C4 foi quantificado uma concentração superior (1,973 µg/L) à registrada por Stewart et al. (2023), os dados indicam a capacidade teratogênica das amostras de água do RM.

4.7. Considerações finais sobre risco ambiental

Atividades como a substituição da vegetação nativa por culturas agrícolas e a intensificação do consumo de agrotóxicos, representam riscos para a biodiversidade do Pantanal (Padovani, 2017; Roque et al., 2016). Além disso, os principais agrotóxicos utilizados pelo agronegócio brasileiro, como a atrazina, tebuconazol, fipronil, imidacloprido, carbendazim, diuron e 2,4-D, são proibidos em diversos países da Europa, o que ressalta a preocupação quanto à presença desses CE nos rios do Pantanal (IBAMA, 2022; Bombardi, 2023; Silva, 2023; Sousa, 2024).

Essa situação se torna ainda mais preocupante quando se observa que, apesar das normas e padrões estabelecidos pelo CONAMA para garantir a qualidade dos recursos hídricos, foram identificados neste estudo contaminantes em concentrações excedentes ao VMP da CONAMA nº 357/2005, como observados para os CE 2,4-D, atrazina e malation (Brasil, 2005). Somado a isso, dos 23 CEs quantificados, 17 são agrotóxicos, dos quais apenas para 7 existem VMP (Brasil, 2005). No caso das demais classes identificadas, como produtos industriais, fármacos e hormônios, não existem VMP estabelecidos pela CONAMA nº 357/2005 (Brasil, 2005). Esse cenário destaca a necessidade de reavaliar os contaminantes regulamentados, tendo em vista a frequência de sua presença nos Rios do Pantanal Sul-Mato-Grossense.

As propriedades que tornam os contaminantes eficientes para suas funções específicas, também contribuem para a sua persistência em locais não-alvo resultando em impactos negativos em organismos não-alvo. Isso foi evidenciado por Xu et al. (2019), ao verificar que substâncias lipofílicas possuem o potencial de se bioacumular nos tecidos e órgãos do organismo, situação apresentada em contaminantes como simazina, diuron, atrazina, malation, fipronil, fipronil sulfona, BPA, estrona e 17 α -etinilestradiol, indicando o dano que pode ser causado em organismos não-alvo. Somado a isso, propriedades que dão a capacidade de estabilidade molecular dos CEs, promovendo resistência à degradação, presentes em 2,4-D, atrazina, diuron, imidacloprido, epoxiconazol e tebuconazol, favorecem a persistência e o acúmulo destes nas matrizes ambientais. Contudo, este processo, por ser lento e prolongado, é de difícil avaliação, devido à ausência de projetos de monitoramento, dificuldade na

identificação da origem da contaminação e sensibilidade insuficiente no limite de detecção de contaminantes em métodos analíticos.

Além da interferência direta das atividades agropecuárias e urbanas, o transporte desses contaminantes pelo fluxo do rio também contribui para a contaminação da água, resultando na redução da qualidade do ambiente aquático de rios adjacentes, como RA e RM (Roque et al., 2016). Essa situação também pôde ser evidenciada pela quantificação de contaminantes em M5 e M6, os quais são pontos localizados no “Alto Rio” e “Médio Rio” do Pantanal, porções que não apresentam atividade antrópica direta em seu entorno. Contudo, observa-se a presença de herbicidas, fungicidas, inseticidas e seus PD, produtos fármacos, industriais e hormônios nestes pontos, sugerindo o transporte fluvial dos CEs.

Desse modo, mesmo que as concentrações dos CEs quantificadas estejam na faixa de $\mu\text{g/L}$, são níveis presentes nas amostras de água, esses níveis são ambientalmente relevantes, principalmente devido ao potencial de efeitos crônicos, bioacumulação e exposição contínua. Diante desses resultados, ressalta-se a relevância do Princípio da Precaução, reconhecido pelo direito ambiental brasileiro, o qual estabelece que *a falta de certeza científica absoluta não deve ser utilizada como justificativa para postergar medidas destinadas à prevenção de danos potencialmente graves ou irreversíveis* (Brasil, 1981).

Nesse contexto, destaca-se a necessidade de reavaliar e monitorar a qualidade ambiental e análise de efeitos crônicos sobre organismos modelo, visto que a maioria dos contaminantes não é regulamentada e a exposição prolongada a esses compostos representa potenciais riscos. Assim, essa situação dificulta ações políticas para conservação do bioma e, também, avaliação de risco à saúde humana e à biota aquática. Assim, destaca-se a importância de produzir informações científicas robustas sobre a situação atual do bioma, bem como de implementar estratégias voltadas à mitigação dos impactos antrópicos e conservação a longo prazo.

5. CONCLUSÃO

Neste estudo, foram detectados e quantificados contaminantes emergentes de diferentes classes, herbicidas, inseticidas, fungicidas, produtos de degradação, industriais, farmacêuticos e hormônios nas águas dos RA e RM, no Pantanal Sul-Mato-Grossense. No RA, foram identificados oito contaminantes ao longo das coletas, com destaque para os herbicidas atrazina e 2,4-D, que excederam os limites estabelecidos pela Resolução CONAMA nº 357/2005 em áreas com influência agrícola e urbana. No RM, vinte e três contaminantes foram detectados, sendo o malation um dos compostos com concentração acima dos padrões legais, principalmente em áreas com atividade agrícola intensa.

Os testes com embriões de *D. rerio* revelaram taxas de mortalidade variando entre 20% e 60% no RA, com maior impacto em áreas de uso urbano e agrícola. No RM, a mortalidade variou entre 20% e 38%, sendo a maior registrada em região do "Alto Rio", o que sugere influência de impactos antrópicos indiretos. A maioria dos óbitos ocorreu em até 24 hpf, indicando possível comprometimento da estrutura do córion e maior suscetibilidade à ação de contaminantes. Os efeitos teratogênicos foram observados em todos os pontos, com destaque para a bexiga natatória não inflada, alteração que compromete a sobrevivência e o desenvolvimento das larvas.

Os resultados indicam que, mesmo misturados e diluídos, os CEs podem comprometer significativamente a biota aquática, provocando mortalidade e efeitos teratogênicos, o que impacta negativamente a qualidade das águas dos rios do Pantanal Sul-Mato-Grossense. Além disso, destaca-se a importância da aplicação integrada de análises químicas e ecotoxicológicas, permitindo a quantificar e avaliar os impactos das misturas de CEs presentes nas amostras dos rios. Portanto, reforça-se a necessidade de programas de monitoramento ambiental no Pantanal, com foco na identificação de CEs e na avaliação dos riscos ecológicos, com a finalidade de subsidiar informações e estratégias de mitigação e contribuir para a conservação da biodiversidade do Pantanal.

REFERÊNCIAS

- Adeyemi, J. A., da Cunha Martins-Junior, A., & Barbosa, F., Jr. (2015). Teratogenicity, genotoxicity and oxidative stress in zebrafish embryos (*Danio rerio*) co-exposed to arsenic and atrazine. *Comparative Biochemistry and Physiology. Toxicology & Pharmacology: CBP*, 172–173, 7–12. <https://doi.org/10.1016/j.cbpc.2015.04.001>
- Alvarenga, G. C., Chiaverini, L., Cushman, S. A., Dröge, E., Macdonald, D. W., Kantek, D. L. Z., Morato, R. G., Thompson, J. J., Oscar, R. B. L. M., Abade, L., Azevedo, F. C. C. de, Ramalho, E. E., & Kaszta, Ž. (2021). Multi-scale path-level analysis of jaguar habitat use in the Pantanal ecosystem. *Biological Conservation*, 253(108900), 108900. <https://doi.org/10.1016/j.biocon.2020.108900>
- Agência Nacional de Vigilância Sanitária – ANVISA. (2020). Revisão do Anexo XX da Portaria de Consolidação nº5 de 28 de setembro de 2017 do Ministério da Saúde: Padrão de Potabilidade e Planos de Amostragem - Substâncias químicas - agrotóxicos. Disponível em: <<https://www.gov.br/saude/pt-br/aceso-a-informacao/participacao-social/consultas-publicas/2020/arquivos/DOCSNTESEAGROTXICOS2AGROTXICOSLISTADOS.pdf>>
- Bombardi, L. M. (2023). Agrotóxicos e colonialismo químico. WWF-Brasil & Fundação Heinrich Böll, 108 p. ISBN: 9786560080225.
- Branco, F.O.L., Cárdenas, S.M.M., Serrão, I.C.G., Cunha, I.R.V., Amado, L.L., Kütter, V.T., (2021). Contaminantes Emergentes nas Bacias Hidrográficas Brasileiras e seus potenciais efeitos a espécies ameaçadas de extinção. *Revista Brasileira de Meio Ambiente*, v.9, n.2, p.140-174.
- BRASIL. (2012). Conselho Nacional do Meio Ambiente (CONAMA). Resolução CONAMA nº357, de 17 de março de 2005. Diário Oficial da União, Brasília, DF.
- BRASIL. (1981). Lei nº 3.938, de 31 de agosto de 1981. Dispõe sobre a Política Nacional do Meio Ambiente, seus fins e mecanismos de formulação e aplicação, e dá outras providências. Brasília, DF: Congresso Nacional, 1981.
- Calvelli, I. Barbosa, J. V. , Nehme, T. M., Occhiutto, A. A., Pimenta, L., Rodrigues da Cunha, A., Souza Santos, L. V., Santos, B. R., Alves da Silva, G., & Barbosa, S. (2023). Contaminantes emergentes: uma visão ecotoxicológica sobre o impacto dos fármacos no meio ambiente e na saúde pública. Atena Editora, p. 91. <https://doi.org/10.22533/at.ed.132233108>.
- Vizioli, B. C., Silva da Silva, G., Ferreira de Medeiros, J., & Montagner, C. C. (2023). Atrazine and its degradation products in drinking water source and supply: Risk assessment for environmental and human health in Campinas, Brazil. *Chemosphere*, 336(139289), 139289. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2023.139289>
- CETESB - Companhia Ambiental do Estado de São Paulo, 2018. Introdução e Legislação de Poluentes Orgânicos Persistentes (2018) no Brasil. Disponível em: <<https://cetesb.sp.gov.br/pops/wp-content/uploads/sites/19/2018/06/Hist%C3%B3rico-e-legisla%C3%A7%C3%A3o-de-polu%C3%A9ntes-org%C3%A2nicos-persistentes-POPs-no-Brasil.pdf>>. Acesso em: 14 de fevereiro de 2025.

Chabchoubi, I. B., Bouchhima, R. A., Louhichi, N., Baanannou, A., Masmoudi, S., & Hentati, O. (2023). Short-term effects of various non-steroidal anti-inflammatory drugs (NSAIDs) on *Danio rerio* embryos. *MethodsX*, 10(102215), 102215. <https://doi.org/10.1016/j.mex.2023.102215>

Cui, J., Wei, Y., Jiang, J., Xiao, S., Liu, X., Zhou, Z., Liu, D., & Wang, P. (2023). Bioaccumulation, metabolism and toxicological effects of chiral insecticide malathion and its metabolites in zebrafish (*Danio rerio*). *Chemosphere*, 318(137898), 137898. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2023.137898>

Dehnert, G. K., Karasov, W. H., & Wolman, M. A. (2019). 2,4-Dichlorophenoxyacetic acid containing herbicide impairs essential visually guided behaviors of larval fish. *Aquatic Toxicology (Amsterdam, Netherlands)*, 209, 1–12. <https://doi.org/10.1016/j.aquatox.2019.01.015>

Faria, É., Girard, P., Nardes, C. S., Moreschi, A., Christo, S. W., Ferreira Junior, A. L., & Costa, M. F. (2021). Microplastics pollution in the south American Pantanal. *Case Studies in Chemical and Environmental Engineering*, 3(100088), 100088. <https://doi.org/10.1016/j.cscee.2021.100088>

Godfrey, A., Hooser, B., Abdelmoneim, A., Horzmann, K. A., Freemanc, J. L., & Sepúlveda, M. S. (2017). Thyroid disrupting effects of halogenated and next generation chemicals on the swim bladder development of zebrafish. *Aquatic Toxicology (Amsterdam, Netherlands)*, 193, 228–235. <https://doi.org/10.1016/j.aquatox.2017.10.024>

Gomes, F. B. R., Assunção, T. de O. G. de, Dias, Á. C. L., Castro, S. R., Brandt, E. M. F., & Pereira, R. de O. (2023). Assessment of exposure to simazine through drinking waters in Brazil. *Environmental Advances*, 11(100336), 100336. <https://doi.org/10.1016/j.envadv.2022.100336>

Health Canada. (2020). 2,4-Dichlorophenoxyacetic Acid in Drinking Water - Guideline Technical Document for Public Consultation. Disponível em: <https://www.canada.ca/content/dam/hc-sc/documents/programs/consultation-review/guideline-technical-document-2-4-d-drinking-water/2-4-D-GTDConsultation-20200727-eng.pdf>

IBAMA - Instituto Brasileiro do Meio Ambiente. (2022). Relatórios de comercialização de agrotóxicos.

Islam, F., Wang, J., Farooq, M. A., Khan, M. S. S., Xu, L., Zhu, J., Zhao, M., Muños, S., Li, Q. X., & Zhou, W. (2018). Potential impact of the herbicide 2,4-dichlorophenoxyacetic acid on human and ecosystems. *Environment International*, 111, 332–351. <https://doi.org/10.1016/j.envint.2017.10.020>

Joia, P. R., Anunciação, V. S. da, & Paixão, A. A. da. (2018). Implicações do uso e ocupação do solo para o planejamento e gestão ambiental da Bacia Hidrográfica do RA, Mato Grosso do Sul. *Interações (Campo Grande)*, 343–358. <https://doi.org/10.20435/inter.v19i2.1404>

- Kim, C., & Lee, S.-E. (2023). Developmental toxicity of fipronil and its two metabolites towards zebrafish (*Danio rerio*) embryos. *Environmental Pollution (Barking, Essex: 1987)*, 333(122119), 122119. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2023.122119>
- Kimmel, C. B., Ballard, W. W., Kimmel, S. R., Ullmann, B., & Schilling, T. F. (1995). Stages of embryonic development of the zebrafish. *Developmental Dynamics: An Official Publication of the American Association of Anatomists*, 203(3), 253–310. <https://doi.org/10.1002/aja.1002030302>
- Li, S., Jiang, Y., Sun, Q., Coffin, S., Chen, L., Qiao, K., Gui, W., & Zhu, G. (2020). Tebuconazole induced oxidative stress related hepatotoxicity in adult and larval zebrafish (*Danio rerio*). *Chemosphere*, 241(125129), 125129. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2019.125129>
- Liu, Z., Wang, Y., Zhu, Z., Yang, E., Feng, X., Fu, Z., & Jin, Y. (2016). Atrazine and its main metabolites alter the locomotor activity of larval zebrafish (*Danio rerio*). *Chemosphere*, 148, 163–170. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2016.01.007>
- Lopes-Ferreira, Falcão, M.A.P.; Disner, G.R.; Lima, C. (2021). O modelo Zebrafish e sua contribuição ao meio ambiente. In *Recurso Água: Tecnologias e Pesquisas Para o uso e a Conservação de Ecossistemas Aquáticos*, 1st ed.; Silva, C.V.R.D., Queiroz, L.G., Gomes, L.E.T., Eds.; Cubo Editora: São Carlos, Brazil; pp. 188–219
- Maia, M. E., Martins, R. X., Carvalho, M., Félix, L. M., Marques-Santos, L. F., & Farias, D. (2025). Effects of atrazine, diuron and glyphosate mixtures on zebrafish embryos: acute toxicity and oxidative stress responses. *Ecotoxicology (London, England)*, 34(2), 304–316. <https://doi.org/10.1007/s10646-024-02839-8>
- Martini, G. de A., Montagner, C. C., Viveiros, W., Quinaglia, G. A., França, D. D., Munin, N. C. G., Lopes-Ferreira, M., Rogero, S. O., & Rogero, J. R. (2021). Emerging contaminant occurrence and toxic effects on zebrafish embryos to assess the adverse effects caused by mixtures of substances in the environment. *Environmental Science and Pollution Research International*, 28(16), 20313–20329. <https://doi.org/10.1007/s11356-020-11963-x>
- Montagner, C. C., Vidal, C., e Acayaba, R. (2017). Contaminantes emergentes em matrizes aquáticas do Brasil: cenário atual e aspectos analíticos, ecotoxicológicos e regulatórios. *Química Nova*. <https://doi.org/10.21577/0100-4042.20170091>
- Montagner, C., Sodré, F., Acayaba, R., Vidal, C., Campestrini, I., Locatelli, M., Pescara, I., Albuquerque, A., Umbuzeiro, G., & Jardim, W. (2018). Ten years-snapshot of the occurrence of emerging contaminants in drinking, surface and ground waters and wastewaters from São Paulo state, Brazil. *Journal of the Brazilian Chemical Society*. <https://doi.org/10.21577/0103-5053.20180232>
- OECD. (2013). Test no. 236: Fish embryo acute toxicity (FET) test. Paris: OECD, Guidelines for the Testing of Chemicals.
- Oliveira, M. R. B., Profeta, I. V., Saraiva Raimondi Lopes, J. V., Costa, R. M., Matos e Chaib, V. R., Domingues, A. G., Beirão, M. V., Santos Rubio, K. T., Martucci, M. E. P., Eskinazi-Sant'Anna, E. M., & de Azevedo, C. S. (2024). Effects of the fungicide carbendazim on the

behaviour of the zebrafish *Danio rerio* (Cypriniformes, Cyprinidae). *Acta Ethologica*, 27(2), 101–111. <https://doi.org/10.1007/s10211-024-00438-8>

Padovani, C. R., (2017). Conservação da vegetação natural do Pantanal para uso antrópico de 1976 até 2017 e projeção para 2050. Comunicado Técnico 109. Embrapa Pantanal, Corumbá.

Riveros, A. F., Jut Solórzano, J. C., Monaco, I. de A., Lima Cardoso, C. A., Suárez, Y. R., & Viana, L. F. (2021). Toxicogenetic effects on fish species in two sub-basins of the upper Paraguay river, Southern Pantanal – Brazil. *Chemosphere*, 264(128383), 128383. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2020.128383>

Roque, F. O., Ochoa-Quintero, J., Ribeiro, D. B., Sugai, L. S. M., Costa-Pereira, R., Lourival, R., & Bino, G. (2016). Upland habitat loss as a threat to Pantanal wetlands. *Conservation Biology: The Journal of the Society for Conservation Biology*, 30(5), 1131–1134. <https://doi.org/10.1111/cobi.12713>

Santos, N., Picolo, V., Domingues, I., Perillo, V., Villacis, R. A. R., Grisolia, C. K., & Oliveira, M. (2023). Effects of environmental concentrations of caffeine on adult zebrafish behaviour: a short-term exposure scenario. *Environmental Science and Pollution Research International*, 30(23), 63776–63787

Scopel, C. F. V., Sousa, C., Machado, M. R. F., & Santos, W. G. D. (2021). Toxicidade do BPA durante o desenvolvimento do embrião de peixe-zebra. *Revista Brasileira de Biologia*, 81 (2), 437–447. <https://doi.org/10.1590/1519-6984.230562>

Silva Neto, S. P., Moreira, C. T. & Silva, S. A. (2010). Plantio da soja na época certa. Agrolink. Disponível em <https://www.agrolink.com.br/sementes/artigo/plantio-da-soja-na-epoca-certa_118511.html>

Silva, R. (2023). Brasil é um dos principais receptores de agrotóxicos proibidos na União Europeia. EcoDebate. Disponível em: <<https://www.ecodebate.com.br/2023/10/10/brasil-e-um-dos-principais-receptores-de-agrotoxicos-proibidos-na-uniao-europeia/>>. Acesso em: 20 de abril de 2025

Sousa, V. (2024). ‘Matador de abelhas’: conheça o agrotóxico que sofre restrições pelo Ibama. G1. Disponível em: <<https://g1.globo.com/economia/agronegocios/noticia/2024/01/20/matador-de-abelhas-conheca-o-agrotoxico-que-sofreu-restricoes-pelo-ibama.ghtml>>. Acesso em: 20 de abril de 2025.

Sposito, J. C. V., Montagner, C. C., Casado, M., Navarro-Martín, L., Jut Solórzano, J. C., Piña, B., & Grisolia, A. B. (2018). Emerging contaminants in Brazilian rivers: Occurrence and effects on gene expression in zebrafish (*Danio rerio*) embryos. *Chemosphere*, 209, 696–704. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2018.06.046>

Stewart, M. K., Hoehne, L., Dudczig, S., Mattiske, D. M., Pask, A. J., & Jusuf, P. R. (2023). Exposure to an environmentally relevant concentration of 17 α -ethinylestradiol disrupts craniofacial development of juvenile zebrafish. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 251(114541), 114541. <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2023.114541>

- Trigueiro, N. S. de S., Canedo, A., Braga, D. L. de S., Luchiari, A. C., & Rocha, T. L. (2020). Zebrafish as an emerging model system in the global south: Two decades of research in Brazil. *Zebrafish*, 17(6), 412–425. <https://doi.org/10.1089/zeb.2020.1930>
- Venuto, A., Thibodeau-Beganny, S., Trapani, J. G., & Erickson, T. (2023). A sensation for inflation: initial swim bladder inflation in larval zebrafish is mediated by the mechanosensory lateral line. *The Journal of Experimental Biology*, 226(11). <https://doi.org/10.1242/jeb.245635>
- Vieira, R. S. F., Venâncio, C. A. S., & Félix, L. M. (2021). Embryonic zebrafish response to a commercial formulation of azoxystrobin at environmental concentrations. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 211(111920), 111920. <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2021.111920>
- Viana, F. L., do Amaral Crispim, B., Kummrow, F., Alice de Lima, N., Amaral Dias, M., Carolina Montagner, C., Henrique Gentil Pereira, R., de Barros, A., & Barufatti, A. (2023). Occurrence of contaminants of emerging concern and their risks to the Pantanal Sul-Mato-Grossense aquatic biota, Brazil. *Chemosphere*, 337(139429), 139429. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2023.139429>
- Xu, H., Liu, X., Jia, Y., Dong, F., Xu, J., Wu, X., Yang, Y., & Zheng, Y. (2018). Fipronil-induced toxic effects in zebrafish (*Danio rerio*) larvae by using digital gene expression profiling. *The Science of the Total Environment*, 639, 550–559. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2018.05.159>
- Xu, C., Niu, L., Liu, J., Sun, X., Zhang, C., Ye, J., & Liu, W. (2019). Maternal exposure to fipronil results in sulfone metabolite enrichment and transgenerational toxicity in zebrafish offspring: Indication for an overlooked risk in maternal transfer? *Environmental Pollution (Barking, Essex: 1987)*, 246, 876–884. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2018.12.096>
- Weng, Y., Huang, Z., Wu, A., Yu, Q., Lu, H., Lou, Z., Lu, L., Bao, Z., & Jin, Y. (2021). Embryonic toxicity of epoxiconazole exposure to the early life stage of zebrafish. *The Science of the Total Environment*, 778(146407), 146407. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2021.146407>
- Who. (2011). Pharmaceuticals in Drinking Water: Public Health and Environment Water, Sanitation, Hygiene and Health. World Health Organization, Geneva.
- Who. (2011). Atrazine and Its Metabolites in Drinking-water. Word Health Organization, International Programme on Chemical Safety, Geneva
- Wu, C. C., Shields, J. N., Akemann, C., Meyer, D. N., Connell, M., Baker, B. B., Pitts, D. K., & Baker, T. R. (2021). The phenotypic and transcriptomic effects of developmental exposure to nanomolar levels of estrone and bisphenol A in zebrafish. *The Science of the Total Environment*, 757(143736), 143736. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2020.143736>
- Wu, S., Li, X., Liu, X., Yang, G., An, X., Wang, Q., & Wang, Y. (2018). Joint toxic effects of triazophos and imidacloprid on zebrafish (*Danio rerio*). *Environmental Pollution (Barking, Essex: 1987)*, 235, 470–481. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2017.12.120>
- Zaluski, A. B., Wiprich, M. T., de Almeida, L. F., de Azevedo, A. P., Bonan, C. D., & Vianna, M. R. M. (2022). Atrazine and diuron effects on survival, embryo development, and behavior

in larvae and adult zebrafish. *Frontiers in Pharmacology*, 13.
<https://doi.org/10.3389/fphar.2022.841826>

Zhao, H., Qian, H., Cui, J., Ge, Z., Shi, J., Huo, Y., Zhang, Y., & Ye, L. (2024). Endocrine toxicity of atrazine and its underlying mechanisms. *Toxicology*, 505(153846), 153846.
<https://doi.org/10.1016/j.tox.2024.153846>

ANEXO 1

Concentrações máximas e mínimas (µg/L) de contaminantes emergentes detectados nos rios Aquidauana (RA) e Miranda (RM), com respectivos pontos de amostragem, Valor Máximo Permitido (VMP) e Limite de Quantificação (LOQ).

Classes	Contaminantes	Rio Aquidauana				Rio Miranda				VMP	LOQ
		Conc. Máx.	Ponto Máx.	Conc. Mín.	Ponto Mín.	Conc. Máx.	Ponto Máx.	Conc. Mín.	Ponto Mín.		
Herbicida	2,4-D	6.731	A3C1	0.005	A4C4	0.074	M3C3	0.002	M6C4	4.0	0,001
	Simazina	<LD		<LD		0.013	M1C2	0.002	M4C3	-	0.001
	Diuron	<LD		<LD		0.168	M4C2	0.003	M4C1	-	0.001
	Atrazina	10.757	A2C3	0.003	A2C2	1.668	M1C2	0.021	M1C4	2.0	0.001
Herbicida PD Atrazina	2-HA	0.731	A2C3	0.001	A1C4	0.191	M4C1	0.009	M1C4	2.0	0.001
	DIA	<LD		<LD		0.065	M3C3	0.011	M3C2	2.0	0.001
	DEA	<LD		<LD		0.244	M4C1	0.022	M6C4	2.0	0.001
	DACT	<LD		<LD		0.027	M3C3	0.005	M3C1	2.0	0.001
Inseticida	Imidacloprido	0.114	A3C3	0.003	A2C2	0.325	M3C3	0.006	M2C2, M3C2	-	0.001
	Malation	0.147	A4C4	<LQ		0.137	M3C4, M4C4	0.015	M4C1, M2C3	0.1	0.01
	Fipronil	<LD		<LD		0.012	M1C1	0.001	M3C1, M5C1, M2C2	-	0.001
Inseticida PD Fipronil	Fipronil Sulfeto	<LD		<LD		0.357	M2C3	0.052	M5C3	-	0.005
	Fipronil Sulfona	<LD		<LD		0.286	M2C1	0.002	M6C4	-	0.001
Fungicida	Azoxistrobina	0.006	A2C3, A3C3	0.002	A4C1, A1C3	0.009	M4C3	0.001	M1C1, M2C1, M1C2	-	0.001

	Carbendazim	<LD	<LD	0.467	M1C2	0.004	M3C2	-	0.001		
	Epoxiconazol	<LD	<LD	0.022	M3C3	0.001	M5C1, M6C1, M2C2, M5C2, M6C2	-	0.001		
	Tebuconazol	<LD	<LD	0.068	M4C3	0.001	M1C1, M1C2, M5C2, M6C2	-	0.001		
Industrial	BPA	2.546	A2C1	0.023	A1C4	5.123	M6C1	0.003	M1C4	-	0.001
Fármacos	Cafeína	0.607	A3C1	0.000	A1C4, A2C4, A3C4	1.754	M2C2	0.012	M2C4	-	0.001
	Diclofenaco	<LD	<LD	0.009	M1C2	0.003	M4C3	-	0.005		
	Paracetamol	<LD	<LD	1.026	M2C2	0.024	M5C3	-	0.001		
Hormônios	Estrona	<LD	<LD	0.019	M6C1	0.001	M1C4	-	0.001		
	17 α - etinilestradiol	<LD	<LD	1.973	M2C4	<LQ	-	0.001			

PD: Produto de degradação; VMP: Valor Máximo Permitido conforme normativa CONAMA nº357/2005; LOQ: Limite de Quantificação.