

Comportamento sexual de camundongos machos expostos a agrotóxicos

Sexual behavior of male mice exposed to pesticides

Náyra Oliveira Dias Silva¹; Adriano José de Deus Guimarães¹, Kayo Rodrigo dos Santos Borges¹, Weslen Lima Verdiono¹, Daniel Ramalho Santos¹, Denilson Rodrigues Vieira¹, Renata Mazaro e Costa²; Walter Dias Júnior^{1*}

¹ Universidade Estadual de Goiás, Campus Ceres, Ceres, Goiás, Brasil

² Universidade Federal de Goiás, ICB II, Campus Samambaia, Goiânia, Goiás, Brasil

*Autor correspondente. E-mail: walter.dias@ueg.br

Recebido: 29/11/2018; Aceito: 27/08/2019

RESUMO

Atualmente pesticidas são substâncias mais utilizadas na eliminação e controle de pragas em ambientes agrícolas. Seu uso indiscriminado gera resíduos no solo, água, ar e alimentos, podendo causar diversos distúrbios à saúde a curto e longo prazo. Este estudo tem como objetivo avaliar os efeitos da exposição diária de Metamidofós, Glifosato e Mancozebe sobre o sistema reprodutor masculino. Foram utilizados 240 camundongos *Swiss*, 120 machos, 120 fêmeas adultos, pesando 30g, 60 dias idade. Os animais foram distribuídos aleatoriamente em casais, para experiência sexual prévia, antes do tratamento com agrotóxicos na dose de ingestão diária aceitável (IDA) determinada pela Anvisa durante 15, 30 e 60 dias consecutivos com filmagem do comportamento sexual. Os agrotóxicos glifosato e mancozebe favoreceram o comportamento sexual em 30 dias de exposição. No entanto, o inseticida metamidofós prejudicou a consumação, o desempenho ou a performance sexual em 15 dias de exposição. Esse efeito pode estar relacionado ao tempo insuficiente para completar a cópula, e a pouca eficácia da experiência sexual prévia mediante a exposição súbita a um produto com potencial disruptor endócrino

Palavras-chave: Comportamento Sexual. Reprodução. Agrotóxicos.

ABSTRACT

Pesticides are currently most used for pest control and elimination in agricultural environments. Its indiscriminate use generates residues in the soil, water, air and food, which can cause several health disturbances in short and long term. This study aims to evaluate the effects of daily exposure of Methamidophos, Glyphosate and Mancozeb on the male reproductive system. We used 240 Swiss mice, 120 male, 120 adult females, weighing 30g, 60 days old. Animals were randomly assigned to couples for prior sexual experience, following to treatment with pesticides at Anvisa's acceptable daily intake (IDA) dose for 15, 30, and 60 consecutive days with filming sexual behavior at the end of treatment. Glyphosate and mancozeb favored sexual behavior in 30 days of exposure. However, the insecticide metamidophos impaired consummation, performance or sexual performance within 15 days of exposure. This effect may be related to insufficient time to complete copulation, and poor effectiveness of previous sexual experience through sudden exposure to a product with potential endocrine disruption.

Keywords: Sexual Behavior. Reproduction. Pesticides.

INTRODUÇÃO

Devido à grande atividade agrícola, o Brasil é um dos países que mais utiliza agrotóxicos, sendo os herbicidas, a classe que representa 45% do total comercializado (CASSAL et al., 2014; CALDAS; DE SOUZA; JARDIM, 2011; DO NASCIMENTO et al., 2017; MELNYK et al., 2016; PIGNATI et al., 2017).

O metamidofós é um inseticida organofosforado altamente tóxico, empregado no controle de insetos e outros animais presentes em culturas como algodão, batata, feijão, tomate (rasteiro) apenas para fins industriais, tabaco, pimentão, milho, brócolis, couve-flor, repolho, morango, pêssego e soja. Sua ação nos organismos é pela diminuição da atividade da enzima acetilcolinesterase, importante na função do sistema nervoso (DO NASCIMENTO et al., 2017; EROSCHENKO et al., 2002).

O glifosato é outro pesticida, da classe dos herbicidas de amplo espectro e dessecante de culturas. Aproximadamente dois terços do total dessa substância foi lançada no meio ambiente nos últimos anos, correspondente ao avanço da engenharia genética, que promoveu resistência ao glifosato nas culturas, mas manteve a sua eficácia no combate a ervas daninhas (AIT BALI; BA-MHAMED; BENNIS, 2017; MESNAGE et al., 2015).

O mancozebe é um fungicida etileno bisditiocarbamato (EBDC), que há 70 anos vem demonstrando efetividade nas aplicações agrícolas e industriais, além de atuar contra cerca de 400 patógenos diferentes de culturas como batata, tomate, videira entre outras. Apesar disso, diversos estudos comprovam a baixa intensidade de toxicidade aguda. Porém, a exposição crônica tem revelado efeitos disruptores endócrinos, teratogênicos, mutagênicos, e riscos carcinogênicos para a saúde humana (AXELSTAD et al., 2011; CALDAS; DE SOUZA; JARDIM, 2011; RUNKLE et al., 2016).

Embora vários estudos confirmem os efeitos prejudiciais à saúde pela exposição a esses pesticidas, o efeito no comportamento sexual através da exposição aguda, subcrônica e crônica ainda permanece pouco explorado, sendo essa avaliação muito importante para traçar a influência dessas substâncias na motivação e no desempenho sexual, que estão diretamente relacionados às funções reprodutivas.

Este estudo tem como objetivo avaliar os efeitos da exposição diária de Metamidofós, Glifosato e Mancozebe sobre o sistema reprodutor masculino, investigando seus efeitos sobre parâmetros reprodutivos como: comportamento sexual masculino, frequências e latência de montas, intromissões e ejaculações, total de montas, e eficiência copulatória.

MATERIAL E MÉTODOS

População Amostral

Foram utilizados 240 camundongos *Swiss*, 120 machos e 120 fêmeas, adultos, pesando aproximadamente 30g e com 60 dias de idade. Os animais foram obtidos no Biotério Central da Universidade Federal de Goiás (UFG), e mantidos por pelo menos 15 dias antes de iniciar os tratamentos/experimento, no Biotério de Manutenção do Laboratório de Fisiologia e Bioquímica Toxicológica da UEG Câmpus Ceres-GO, após ter sido aprovado pela Comissão de Ética no Uso de Animais da UEG (protocolo de aprovação n. 059/14).

Os camundongos foram mantidos em caixas de polipropileno (41x36x16cm), alojadas em estantes de ferro, com água e ração comercial para roedores “*ad libitum*”, tendo a caixa lavada e a serragem trocada 3 vezes por semana, juntamente com a manutenção e limpeza da sala e das estantes.

A temperatura da sala foi mantida em aproximadamente $23\pm 2^{\circ}\text{C}$ com auxílio de um aparelho de ar condicionado, e o fotoperíodo mantido em 12:12h claro/escuro. O ambiente dos animais também teve a renovação do ar realizada por um exaustor, que automaticamente funcionava por 15 minutos, 10 vezes no período de 24 horas (15min/150min).

Experiência Sexual

Antes do experimento de intoxicação e filmagem do comportamento sexual, os animais foram distribuídos aleatoriamente em casais, para adquirirem experiência sexual prévia. Os animais receberam uma marcação provisória para que pudessem ser redistribuídos homogeneamente nos grupos de intoxicação e avaliados futuramente.

O cruzamento era confirmado pela presença do plug ou tampão vaginal, e as fêmeas separadas dos machos até o parto. Ao nascer, os filhotes foram eutanasiados e as fêmeas ficaram aguardando até completar o período de tratamento dos machos para serem utilizadas novamente nos testes de comportamento sexual.

Intoxicação

Para os experimentos de intoxicação foram utilizados 120 machos, divididos em 12 grupos com 10 animais em cada um. Os grupos intoxicados receberam a dose de agrotóxico em um volume total de 100microlitros, correspondente ao valor mínimo de ingestão diária aceita (IDA) pela Agência Nacional de Vigilância Sanitária (Anvisa). A administração via oral foi por gavagem, realizada por pessoas treinadas nesse procedimento, uma vez ao dia, sempre no mesmo horário (11-13h).

A dose desses agrotóxicos (IDA/Anvisa) foi corrigida de acordo com a área superficial do corpo para os camundongos, como recomendado por Reagan-Shaw, Nihal e Ahmad (2008), determinada como HED (*Human Equivalent Dose*).

Os tratamentos, com suas respectivas doses (HED), consistiram nos grupos: Controle: água; Metamidofós: 0,04mg/KgPC; Glifosato: 0,55mg/KgPC; Mancozebe: 0,37mg/KgPC, tratados durante 15, 30 e 60 dias consecutivos.

Comportamento Sexual

Para o experimento de comportamento sexual, os machos foram colocados com as fêmeas, na proporção de 1:1. Após completar cada período de intoxicação, os animais foram avaliados quanto ao comportamento sexual (filmagens) e posteriormente sacrificados. Para tanto, diariamente, no ciclo escuro desses animais, foi realizada a citologia vaginal nas fêmeas, por observações microscópicas diárias para identificar a fase estral, na qual a fêmea encontra-se sexualmente receptiva ao macho, caracterizada, principalmente, pela presença de células queratinizadas, anucleadas com formato de floco no esfregaço vaginal (Figura 1a). As fêmeas em estro foram selecionadas para o acasalamento.

As filmagens ocorreram durante o ciclo escuro dos animais, em uma sala com luz vermelha (sala de observação). Para este procedimento foi utilizado uma caixa de vidro transparente (30x40x40cm) e superfície coberta com uma camada de aproximadamente 3,0cm de serragem. Cada macho foi colocado individualmente, por um período de 5 minutos para ambientação e em seguida, foi colocada a fêmea e iniciando a filmagem do casal por 30 minutos (Figura 1b) (AHLENIUS e LARSSON, 1984).

Os seguintes parâmetros foram avaliados: 1)Frequência de Montas = quantidade de montas sem intromissão até a primeira ejaculação; 2)Frequência de Intromissão = quantidade de montas com intromissão até a primeira ejaculação; 3)Frequência de Ejaculação = quantidade de ejaculação no tempo total de observação; 4)Latência para a Primeira Monta = corresponde ao tempo (minutos) transcorrido desde a introdução da fêmea na

caixa de observação até a primeira monta sem a intromissão vaginal; 5) Latência para a Primeira Intromissão = tempo transcorrido desde a introdução da fêmea até a primeira intromissão; 6) Latência para a Primeira Ejaculação = tempo transcorrido desde a introdução da fêmea até a primeira ejaculação; 7) Total de Montas = número total de montas e intromissões até a primeira ejaculação; 8) Eficiência Copulatória = número total de intromissões dividido pelo número de montas e multiplicado por 100.

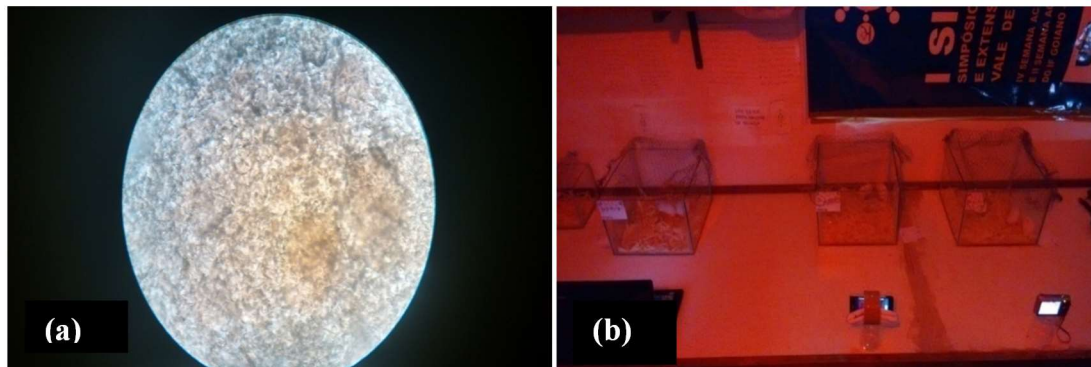


Figura 1: (a) Esfregaço vaginal de camundongas apresentando células queratinizadas, que caracterizam fase estral. (b) Ambiente durante a filmagem do Comportamento Sexual. Detalhe das caixas de vidro transparente, na qual os casais de camundongos eram colocados para realização da filmagem, e era feita com luz vermelha para simular a escuridão para os animais

Eutanásia

Após a avaliação do comportamento reprodutivo, os machos foram eutanasiados por decapitação e as fêmeas por deslocamento cervical. Esse processo foi realizado em uma sala diferente da que os animais eram mantidos. Cada animal foi conduzido individualmente para o local da eutanásia, a qual foi realizada por um técnico com experiência. Todos os animais eutanasiados foram congelados e posteriormente recolhidos por uma empresa de incineração.

A bancada de eutanásia era limpa, após cada sacrifício, com pano embebido em álcool 70%, e todos os instrumentos lavados e posteriormente limpos com álcool 70%, para minimizar o cheiro de sangue no ambiente do sacrifício.

Análise Estatística

Para análise dos dados foi utilizado o test t-Student para variáveis contínuas. O nível de significância foi de 5%.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Experiência Sexual

Os resultados referentes ao treinamento sexual ou experiência sexual (fase pré-experimental) estão apresentados na Figura 2. Nela pode-se observar que 80,66% ejacularam e 19,33% dos camundongos machos não ejacularam. Esses animais foram distribuídos de forma homogênea nos grupos de intoxicação (experimentais). Já no experimento de comportamento sexual apenas 7,63% ejacularam, enquanto 92,36% dos camundongos não ejacularam.

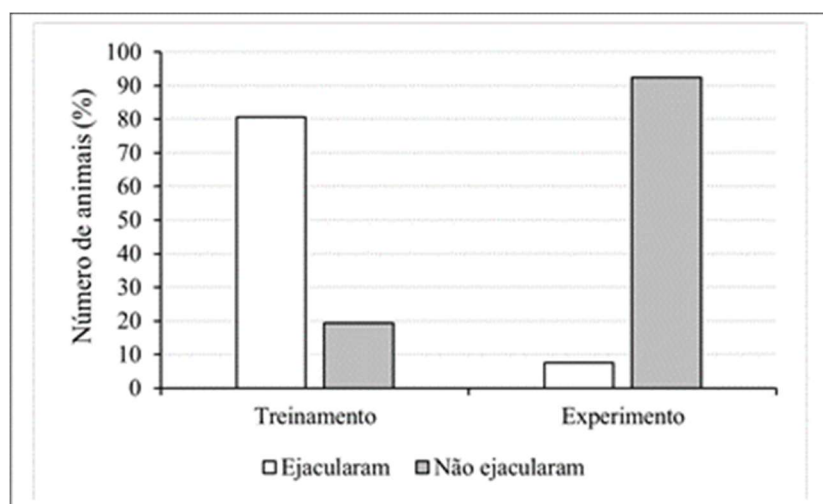


Figura 2: Número de animais (%) que ejacularam e que não ejacularam, em até 15 dias de alojamento conjunto no treinamento do comportamento sexual, e em 30 minutos de filmagem do comportamento sexual (experimento).

O baixo percentual de machos que ejacularam no experimento de comportamento sexual certamente está relacionado ao tempo que o casal necessita para completar a cópula. Durante a fase de aquisição de experiência sexual (pré-experimento) 80,66% dos machos desenvolveram o tampão nas fêmeas entre 5 e 10 dias de alojamento consecutivos. Isso mostra que os camundongos necessitam de mais tempo para cópula, além dos 30 minutos de observação, como recomendado por Ahlenius e Larsson (1984).

A literatura mostra que a experiência sexual em roedores promove uma melhora quantitativa no desempenho sexual, principalmente sobre os parâmetros de motivação considerados mais sensíveis (CRUZ-CASALLAS et al., 2000).

Por outro lado, Alvarenga, Andersen e Tufik (2010) constataram que a experiência sexual não foi suficiente para alguns animais adquirirem um bom nível de desempenho sexual, uma vez que 32,5% deles não apresentaram comportamento sexual. Além disso, sugerem que as discrepâncias existentes entre os estudos podem ter influência de vários fatores, como tensão e diferentes protocolos de experiência sexual.

Frequência de monta

A frequência de monta, ilustrada na Figura 3, apresentou um aumento ($p < 0,05$) de 137,6% para os animais tratados com glifosato (GL) e 116,2% para os animais tratados com mancozebe (MZ) durante 30 dias. Já em 15 e 60 dias não houve efeito dos agrotóxicos para esse parâmetro, sendo registrada uma frequência média de $36,99 \pm 28,04$ montas.

Esse parâmetro é uma medida tanto da motivação, do apetite sexual ou da libido, como também da consumação, do desempenho ou da performance sexual do animal (AGMO, 1997; MEISEL; O'HANLON; SACHS, 1984; RODRIGUES-ALVES et al., 2008).

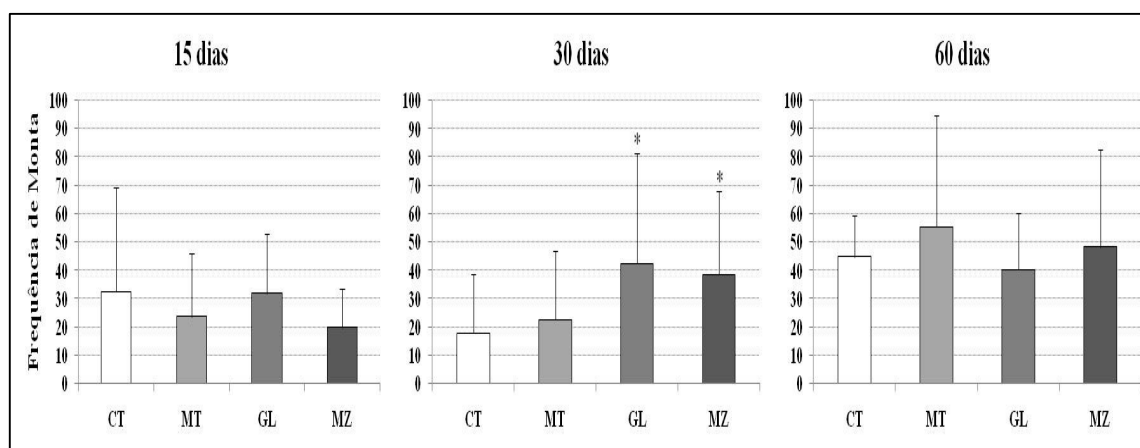


Figura 3: Frequência de monta (quantidade total de montas em 30 min.) de camundongos tratados com metamidofós (MT) (HED:0,04mg/PC mouse), glifosato (GL) (HED:0,55mg/PC mouse), e mancozebe (MZ) (HED: 0,37mg/KgPC), durante 15, 30 e 60 dias consecutivos. *($p < 0,05$) versus controle (CT). HED: *Human Equivalent Dose*.

Vieira et al. (2017) constataram que a exposição a produtos químicos na fase adulta pode ser um fator determinante para a ausência de alterações negativas no comportamento sexual, podendo estar relacionadas ao não comprometimento hormonal nesse período, uma vez que a maturidade sexual já foi atingida, ocorreu o aumento da secreção pulsátil da gonadotropina hormonal no hipotálamo, originando a secreção de hormônios esteróides e maturação gonadal.

Em um estudo semelhante a este, foi avaliado os efeitos reprodutivos em roedores machos, expostos ao diuron (herbicida de baixa toxicidade) nas doses de 0, 125 ou 250mg/Kg/dia por 30 dias e não houve alteração no comportamento sexual em nenhuma das doses utilizadas (FERNANDES et al., 2007).

Frequência de intromissão

Não houve efeito dos agrotóxicos em nenhum dos tempos de exposição na frequência de intromissão dos camundongos. Apenas 26,7% dos machos apresentaram intromissões, os quais exibiram uma frequência média de $2,54 \pm 5,64$ intromissões.

A frequência de intromissão é utilizada como parâmetro para avaliar a consumação, o desempenho ou a performance sexual do animal (AGMO, 1997; MEISEL; O'HANLON; SACHS, 1984; RODRIGUES-ALVES et al., 2008).

Estudos do comportamento sexual dos roedores evidenciaram que normalmente a ejaculação ocorre após 7 a 10 intromissões, com 1 a 2 minutos de intervalo entre elas. E a experiência sexual anterior facilita a cópula e aumenta a resistência aos efeitos de lesões, castração e estresse (HULL e DOMINGUEZ, 2007).

A regulação do comportamento sexual possui uma importante influência do neurotransmissor ácido- γ -aminobutírico (GABA), que atua como inibidor neurossináptico através da ligação em receptores específicos das células neuronais. Nesse sentido, se uma substância tem ação gabaérgica ou agonista dos receptores do GABA, pode causar efeitos negativos na atividade sexual, como a redução da frequência de montas e intromissões (MOREIRA et al., 2017; RODRIGUES-ALVES et al., 2008).

Assim, a ausência de alterações na frequência de intromissão pode estar relacionada à experiência sexual anterior ao experimento e a baixa dose dos agrotóxicos, no entanto, a baixa média de intromissões em geral, pode sugerir que as substâncias utilizadas têm um perfil de ação gabaérgica.

Frequência de ejaculação

Não houve efeito dos agrotóxicos em nenhum dos tempos de exposição na frequência de ejaculação dos camundongos. Somente 7,63% dos machos ejacularam, sendo observada uma frequência média de $0,08 \pm 0,27$ ejaculações por macho. O comportamento sexual desses animais durante 15, 30 e 60 dias, mostrou que aproximadamente 92,36% deles, independente do tratamento, não ejacularam durante os 30 minutos de filmagem.

A frequência de ejaculação diz respeito à consumação, ao desempenho ou a performance sexual do animal (AGMO, 1997; MEISEL; O'HANLON; SACHS, 1984; RODRIGUES-ALVES et al., 2008).

O comportamento sexual é controlado por uma sofisticada interação de hormônios esteróides no cérebro. A testosterona tem sido identificada como o principal hormônio responsável pela modulação da função sexual masculina, no entanto, foi evidenciado que animais com frequências normais de ejaculações tiveram maiores concentrações de progesterona, elucidando que o bom desempenho sexual requer níveis adequados de ambos os hormônios (ALVARENGA; ANDERSEN; TUFIK, 2010).

Ferri et al. (2013) demonstraram que a experiência comportamental é outro fator que contribui no comportamento sexual, alterando o cérebro, elevando os níveis metabólicos, a capacidade do sistema límbico e a plasticidade das sinapses excitatórias na área pré-óptica medial, onde pode ocorrer a modulação da capacidade hormonal e controlar o comportamento.

Latência de primeira monta

Na Latência de Primeira Monta (LPM) houve apenas uma diminuição de 71,8% no grupo tratado com Mancozebe (Mz) durante 30 dias, enquanto os grupos tratados durante 15 e 60 dias não demonstraram nenhum efeito, e registram uma latência de primeira monta média de $4,56 \pm 5,56$ minutos (Figura 4).

Esse parâmetro está relacionado principalmente à motivação, ao apetite sexual ou a libido do animal (AGMO, 1997; MEISEL; O'HANLON; SACHS, 1984; RODRIGUES-ALVES et al., 2008), assim os animais expostos ao mancozebe em um período de 30 dias apresentaram maior motivação sexual, uma vez que levaram menos tempo para montar na fêmea, ou seja, iniciar o comportamento sexual.

Ferri et al. (2013) concordam que a Latência de Primeira Monta é um indicador de motivação sexual, contudo, acrescentam que todas as respostas sexuais são provenientes da motivação, de forma que, se houver queda na Latência de Primeira Monta e aumento na Latência de Primeira Ejaculação, significa que a motivação tenha sido insuficiente na avaliação geral do comportamento sexual.

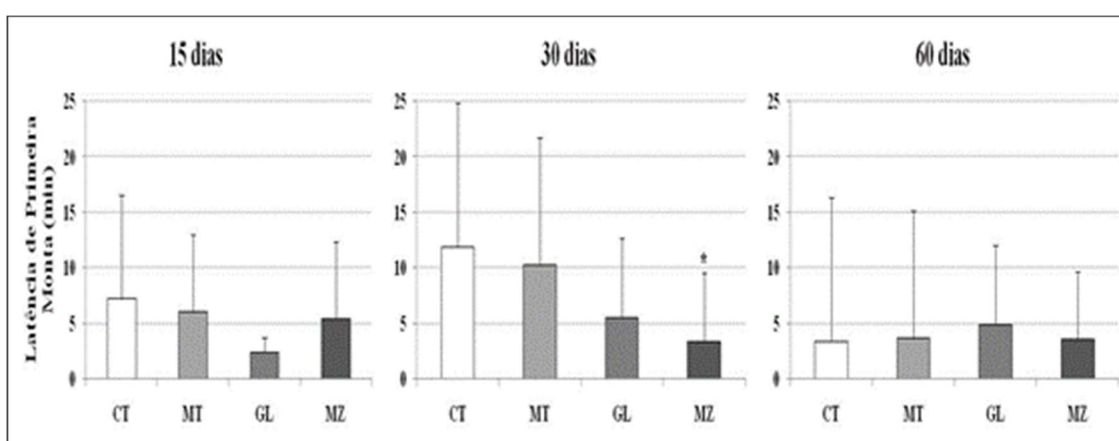


Figura 4: Latência de primeira monta (tempo, em minuto, decorrido desde a introdução da fêmea na caixa até a 1ª monta) de camundongos tratados com metamidofós (MT) (HED: 0,04 mg/KgPC), glifosato (GL) (HED: 0,55

mg/KgPC), e mancozebe (MZ) (HED: 0,37 mg/KgPC), durante 15, 30 e 60 dias consecutivos. *($p < 0,05$) versus controle (CT). HED: *Human Equivalent Dose*.

A partir desses dados, é possível supor que a experiência sexual anterior e a baixa dose dos agrotóxicos colaboraram para a ausência de alterações e a diminuição positiva da Latência de Primeira Monta no grupo tratado com mancozebe em 30 dias no presente trabalho (Figura 4).

Latência de primeira intromissão

Na Latência de Primeira Intromissão (LPI) houve apenas um aumento de 42,1% no grupo tratado com metamidofós durante 15 dias, enquanto os grupos tratados durante 30 e 60 dias não demonstraram nenhuma alteração, sendo verificada uma média de $24,03 \pm 10,62$ minutos (Figura 5).

A latência de primeira intromissão está associada à motivação, ao apetite sexual ou a libido (AGMO, 1997; MEISEL; O'HANLON; SACHS, 1984; RODRIGUES-ALVES et al., 2008).

O aumento da latência de primeira intromissão indica que o tempo decorrido até a primeira monta com intromissão vaginal foi maior, assim, o grupo exposto ao metamidofós, por um período menor de tempo (15 dias), mostrou um atraso de $6,93 \pm 11,39$ minutos para realizar a primeira intromissão em relação aos grupos tratados em tempo superior (Figura 5).

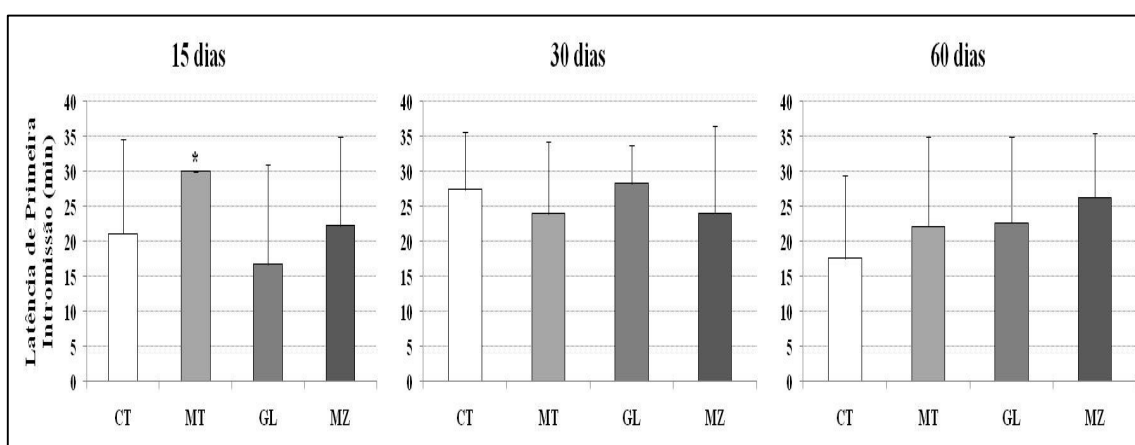


Figura 5: Latência de primeira intromissão (tempo, em minuto, decorrido desde a introdução da fêmea na caixa até a primeira monta com intromissão vaginal) de camundongos tratados com metamidofós (MT) (HED: 0,04 mg/KgPC), glifosato (GL) (HED: 0,55 mg/KgPC), e mancozebe (MZ) (HED: 0,37 mg/KgPC), durante 15, 30 e 60 dias consecutivos. *($p < 0,05$) versus controle (CT). HED: *Human Equivalent Dose*.

Um estudo semelhante ao nosso, propõe que a adaptação pode ser benéfica para a saúde, mas existem exceções, como quando o animal é adaptado a um ambiente e é bruscamente submetido a um ambiente oposto com a presença de produtos químicos, o que pode desencadear doenças nesse indivíduo (VIEIRA et al., 2017).

Semelhante aos efeitos do inseticida deltametrina, o metamidofós parece perturbar o eixo hipotalâmico-hipofisário-gonadal, prejudicar a libido e com potencial para alterar o perfil hormonal masculino, atuando como um disruptor endócrino por interferir na produção, liberação, transporte, metabolismo, ligação, ação ou eliminação de hormônios naturais no organismo, responsáveis pela homeostase (BEN et al., 2017; FERNANDES et al., 2007).

Latência de primeira ejaculação

Não houve efeito dos agrotóxicos em nenhum dos tempos de exposição na Latência de Primeira Ejaculação (LPE) dos camundongos, sendo observada uma latência de $28,85 \pm 4,57$ minutos.

Esse parâmetro avalia a consumação, o desempenho ou a performance sexual (AGMO, 1997; MEISEL; O'HANLON; SACHS, 1984; RODRIGUES-ALVES et al., 2008). Ferri et al. (2013) constataram que a experiência sexual produz pouca influência sobre o desempenho sexual, pois foi pouco eficaz na reversão do efeito do antiparasitário Doramectina, na dose de 0,3 mg/Kg, 24h antes do teste de comportamento sexual, em ratos inexperientes e experientes.

Snoeren et al. (2014) propõem que o ciclo sexual comportamental pode ser dividido em três fases: a fase introdutória (pré-copulatória), que é caracterizada pela aproximação e cheiro em busca de pista ferormoniais de receptividade sexual, a copulatória, que inclui montas e intromissões do macho, e a fase executiva, que diz respeito a ejaculação. Nesse estudo observaram que a serotonina ou 5-hidroxitriptamina (5-HT), um neurotransmissor que interage com diversos receptores, especialmente com o 5-HT_{1A}, desempenha um papel importante no controle do comportamento sexual através da sua inibição e desinibição, além de demonstrar um efeito facilitador sobre a fase executiva, diminuindo a latência de primeira ejaculação.

Embora os agrotóxicos não demonstraram alterar a Latência de Primeira Ejaculação, vários fatores podem estar envolvidos para que tenha ocorrido um retardo na ejaculação dos camundongos, como a pouca eficácia da experiência prévia ou até mesmo tempo insuficiente do experimento para registrar o comportamento sexual.

Total de montas

No Total de Montas foi registrado um aumento de 107,8% no grupo tratado com mancozebe durante 30 dias, enquanto os grupos tratados em 15 e 60 dias não demonstraram nenhum efeito, sendo averiguada uma média de $40,09 \pm 30,94$ (Figura 6).

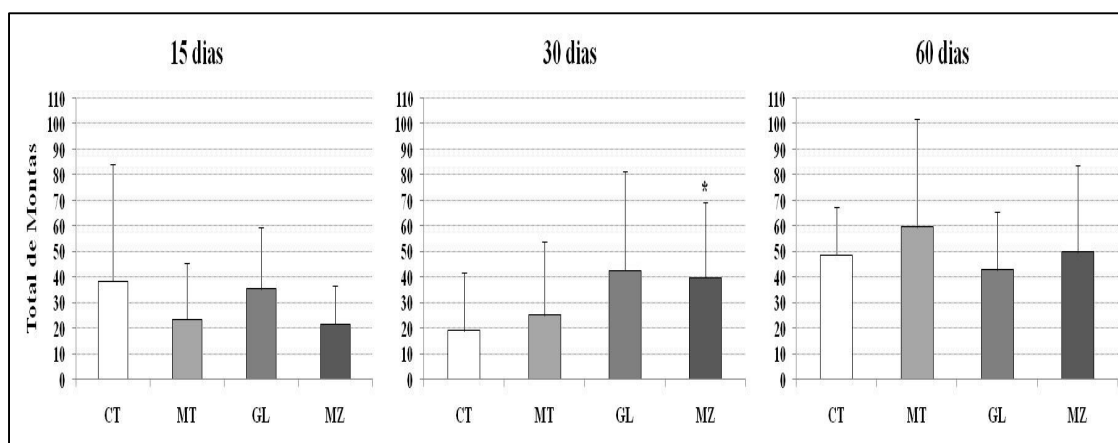


Figura 6: Total de montas (obtido somando o número absoluto de montas incompletas com número de intromissões) de camundongos tratados com metamidofós (MT) (HED: 0,04 mg/KgPC), glifosato (GL) (HED: 0,55 mg/KgPC), e mancozebe (MZ) (HED: 0,37 mg/KgPC), durante 15, 30 e 60 dias consecutivos. *($p < 0,05$) versus controle (CT). HED: *Human Equivalent Dose*.

Esse parâmetro é utilizado para avaliar tanto a motivação, o apetite sexual ou a libido, como a consumação, o desempenho ou a performance sexual do animal (AGMO, 1997; MEISEL; O'HANLON; SACHS, 1984; RODRIGUES-ALVES et al., 2008).

Axelstad et al. (2011) afirmam que o risco de intoxicação aguda por altas doses de mancozebe é mínimo, visto que os efeitos tóxicos são observados em exposição a doses entre 500 e 1.500mg/Kg/dia durante um ano, com taxas de mortalidade entre 15 e 20%. Em seu estudo, investigaram a exposição de ratos ao mancozebe durante o período pré e pós-natal, nas doses 0, 50, 100 e 150mg/Kg(PC)/dia, e concluíram que a exposição perinatal não afetou o desenvolvimento reprodutivo da prole, porém no 15º dia gestacional causou hipotiroxinemia nas mães em todos os três grupos.

Assim, o aumento do total de montas apresentado no grupo tratado com mancozebe durante 30 dias de nosso trabalho pode sugerir que a baixa dose utilizada, a experiência prévia e o tempo de exposição colaboraram para esse resultado (Figura 6).

Eficiência copulatória

A Eficiência Copulatória dos machos tratados com metamidofós durante 15 dias mostrou uma queda de 100%, enquanto os grupos tratados em 30 e 60 dias não demonstraram nenhum efeito, sendo constatado que 26,58% camundongos apresentaram eficiência copulatória (Figura 7).

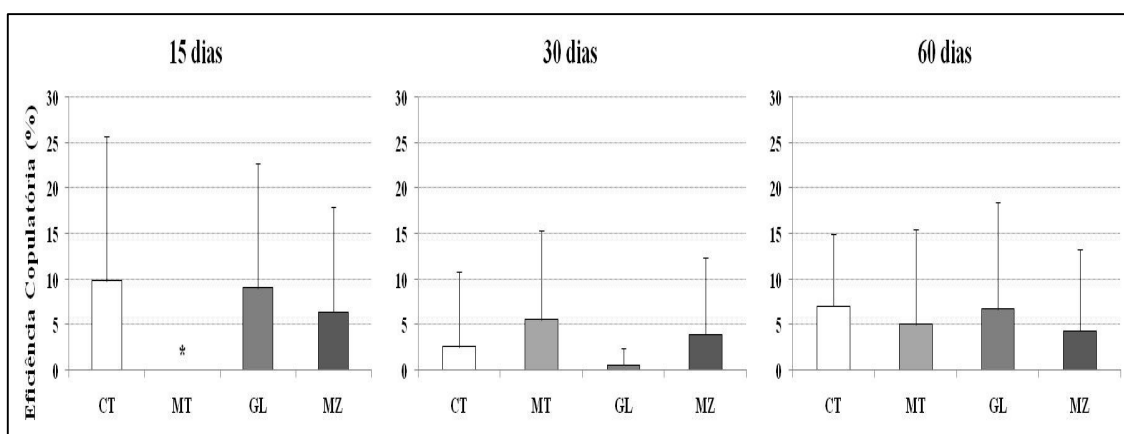


Figura 7: Eficiência copulatória (obtida dividindo o número de intromissões pelo número total de montas até a 1ª ejaculação x 100) de camundongos tratados metamidofós (MT) (HED: 0,04 mg/KgPC), glifosato (GL) (HED: 0,55 mg/KgPC) e mancozebe (MZ) (HED: 0,37 mg/KgPC), durante 15, 30 e 60 dias consecutivos. *($p < 0,05$) versus controle (CT). HED: *Human Equivalent Dose*.

Esse parâmetro avalia a consumação, o desempenho ou a performance sexual do animal (AGMO, 1997; MEISEL; O'HANLON; SACHS, 1984; RODRIGUES-ALVES et al., 2008), assim, supõe-se que a exposição aguda ao metamidofós causou um déficit no padrão de comportamento diretamente relacionado às funções reprodutivas.

Em um estudo semelhante a este, que investigou a alteração comportamental em camundongos machos após exposições precoces ao pesticida methoxychlor, revelou que o comportamento sexual e os níveis hormonais foram deprimidos, além de sugerir que esse produto químico perturba os sistemas nervoso e endócrino. Também foi observado que, no início da vida adulta, a ação do methoxychlor causou um atraso na motivação sexual, mas com o aumento da idade esse efeito foi atenuado (EROSCHENKO et al., 2002).

Outros estudos de comportamento sexual também corroboram com esse achado, demonstrando que a capacidade reprodutiva, neurocomportamental e morfológica podem ser alteradas mediante a exposição a produtos químicos, especialmente nos períodos pré e pós-natal, infantil e puberal, fase de desenvolvimento sexual em que

ocorrem eventos hormonais complexos, e que os tornam suscetíveis a alterações comportamentais na vida adulta (GRAY JR. e OSTBY, 1998; VIEIRA et al., 2017).

Gore, Holley e Crews (2017) defendem que a exposição a produtos químicos como pesticidas, podem promover anomalias anatômicas e funcionais em órgãos reprodutivos masculinos, diminuição da qualidade do sêmen e fertilidade.

Com base na literatura e a partir dos resultados encontrados, supõe-se que o metamidofós tem o potencial de afetar a eficiência copulatória dos animais, mesmo em baixa dose e em um curto período de exposição (15 dias) (Figura 7).

CONCLUSÃO

A partir dos resultados encontrados, concluímos que os agrotóxicos glifosato e mancozebe favoreceram o comportamento sexual em 30 dias de exposição, supomos que associado à baixa dose utilizada, a experiência sexual prévia, a maturidade sexual e ao tempo de exposição. No entanto, o inseticida metamidofós prejudicou a consumação, o desempenho ou a performance sexual em 15 dias de exposição, acreditamos que esteja relacionado ao tempo insuficiente para completar a cópula, e a pouca eficácia da experiência sexual prévia mediante a exposição súbita a um produto com potencial disruptor endócrino.

AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem a Universidade Estadual de Goiás, pelas bolsas de iniciação científica do Programa de Bolsa de Iniciação Científica (PBIC e PVIC - UEG) concedida aos discentes, Nayra Oliveira Dias Silva, Adriano José de Deus Guimarães, Kayo Rodrigo dos Santos Borges, Weslen Lima Verdiono.

REFERÊNCIAS

AGMO, A. Male rat sexual behavior. **Brain Research Protocols**, v.1, n.2, p.203-209, 1997. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/9385085>>. Acesso em: 26 nov. 2018.

AIT BALI, Y.; BA-MHAMED, S.; BENNIS, M. Behavioral and immunohistochemical study of the effects of subchronic and chronic exposure to glyphosate in mice. **Frontiers in Behavioral Neuroscience**, v.11, n.146, p.1-13, 2017. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5550406/>>. Acesso em: 17 jul. 2018.

AHLENIUS, S.; LARSSON, K. Apomorphine and haloperidol-induced effects on male rat sexual behavior: no evidence for actions due to stimulation of central dopamine auto receptors. **Pharmacology Biochemistry and Behavior**, v.21, p.463-466, 1984.

ALVARENGA, T. A.; ANDERSEN, M. L.; TUFIK, S. Influence of progesterone on sexual performance in male rats. **The Journal of Sexual Medicine**, v.7, n.7, p.2435-2444, 2010. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20497305>>. Acesso em: 13 abr. 2017.

AXELSTAD, M.; BOBERG, J.; NELLEMAN, C.; KIERSGAARD, M.; JACOBSEN, P.R.; CHRISTIANSEN, S.; HOUGAARD, K.S.; HASS, U. Exposure to the widely used fungicide mancozeb causes thyroid hormone disruption in rat dams but no behavioral effects in the offspring. **Toxicological Sciences**, v.120, n.2, p.439-446, 2011. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21266532>>. Acesso em: 19 set. 2017.

BEN SLIMA, A.; CHTOUROU, Y.; BARKALLAH, M.; FETOUI, H.; BOUDAWARA, T.; GDOURA, R. Endocrine disrupting potential and reproductive dysfunction in male mice exposed to deltamethrin. **Human and Experimental Toxicology**, v.36, n.3, p.218-226, 2017. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/27164926>>. Acesso em: 06 nov. 2018.

CALDAS, E.D.; DE SOUZA, M. V.; JARDIM, A. N. Dietary risk assessment of organophosphorus and dithiocarbamate pesticides in a total diet study at a Brazilian university restaurant. **Food Additives and Contaminants**, v.28, n.1, p.71-79, 2011. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21240829>>. Acesso em: 02 ago. 2018.

CASSAL, V. B.; AZEVEDO, L. F.; FERREIRA, R. P.; SILVA, D. G.; SIMÃO, R. S. Agrotóxicos: uma revisão de suas consequências para a saúde pública. **REGET**, v.18, n.1, p.437-445, 2014. Disponível em: <<https://periodicos.ufsm.br/reget/article/download/12498/pdf>>. Acesso em: 03 ago.

CRUZ-CASALLAS, P. E.; NASELLO, A. G.; FELÍCIO, L. F. A quantitative analysis of the role of experience in the regulation of sexual behavior in male rats. **Psychobiology**, v. 28, p. 406-410, 2000.

DO NASCIMENTO, C.P.; MARETTO, G.X.; MARQUES, G. L. M.; PASSAMANI, L. M.; ABDALA, A. P.; SCHENBERG, L. C.; BEIJAMINI, V.; SAMPAIO, K. N. Methamidophos, an organophosphorus insecticide, induces pro-aggressive behaviour in mice. **Neurotoxicity Research**, v.32, n.3, p.398-408, 2017. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/28540662>>. Acesso em: 25 jul. 2018.

EROSCHENKO, V. P.; AMSTISLAVSKY, S. Y.; SCHWABEL, H.; INGERMANN, R. L. Altered behaviors in male mice, male quail, and salamander larvae following exposures to the estrogenic pesticide methoxychlor. **Neurotoxicology and Teratology**, v.24, n.1, p.29-36, 2002. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11836069>>. Acesso em: 26 jul. 2018.

FERNANDES, G. S.; ARENA, A. C.; FERNANDEZ, C. D.; MERCADANTE, A.; BARBISAN, L. F.; KEMPINAS, W. G. Reproductive effects in male rats exposed to diuron. **Reproductive Toxicology**, v.23, n.1, p.106-112, 2007. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17070669>>. Acesso em: 06 nov. 2018.

FERRI, R.; TODON E SILVA, A. F.; CABRAL, D.; MOREIRA, N.; SPINOSA, H. S.; BERNARDI, M. M. Doramectin reduces sexual behavior and penile erection in male rats. **Neurotoxicology and Teratology**, v.39, p.63-68, 2013. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23899514>>. Acesso em: 26 jul. 2018.

GORE, A. C.; HOLLEY, A. M.; CREWS, D. Mate choice, sexual selection, and endocrine-disrupting chemicals. **Hormones and Behavior**, v.101, p.3-12, 2017. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/28888817>>. Acesso em: 19 set. 2017.

GRAY, J. R.; LEON, E.; OSTBY, J. Effects of pesticides and toxic substances on behavioral and morphological reproductive development: endocrine versus non endocrine mechanisms. **Toxicology and Industrial Health**, v.14, p.159-184, 1998. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/9460174>>. Acesso em: 26 jul. 2018.

HULL, E. M.; DOMINGUEZ, J. M. Sexual behavior in male rodents. **Hormones and Behavior**, v.52, n.1, p.45-55, 2007. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC1952538/>>. Acesso em: 20 fev. 2017.

MEISEL, R. L.; O'HANLON, J. K.; SACHS, B. D. Differential maintenance of penile responses and copulatory behavior by gonadal hormones in castrated male rats. **Hormones and Behavior**, v.18, n.1, p.56-64, 1984. Disponível em: <<https://experts.umn.edu/en/publications/differential-maintenance-of-penile-responses-and-copulatory-behav>>. Acesso em: 26 nov. 2018.

MELNYK, L. J.; WANG, Z.; LI, Z.; XUE, J. Prioritization of pesticides based on daily dietary exposure potential as determined from the SHEDS model. **Food and Chemical Toxicology**, v.96, p.167-173, 2016. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/27497764>>. Acesso em: 02 ago. 2018.

MESNAGE, R. et al. Potential toxic effects of glyphosate and its commercial formulations below low regulatory limits. **Food and Chemical Toxicology**, v.84, p.133-153, 2015. Disponível em: <<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S027869151530034X#!>>. Acesso em: 26 jul. 2018.

MOREIRA, N.; SANDINI, T. M.; REIS-SILVA, T. M.; NAVAS-SUÁREZ, P.; AUADA, A. V. V.; LEBRUN, I.; FLÓRIO, J. C.; BERNARDI, M. M.; SPINOSA, H. S. Ivermectin reduces motor coordination, serum testosterone, and central neurotransmitter levels but does not affect sexual motivation in male rats. **Reproductive Toxicology**, n.74, p.195-203, 2017. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/29055807>>. Acesso em: 09 out. 2018.

PIGNATI, W. A.; SOUZA E LIMA, F. A. N.; LARA, S. S.; CORREA, M. L. M.; BARBOSA, J. R.; LEÃO, L. F. C.; PIGNATTI, M. G. Distribuição espacial do uso de agrotóxicos no Brasil: uma ferramenta para a Vigilância em Saúde. **Ciência e saúde coletiva [online]**. v.22, n.10, pp.3281-3293, 2017. <<http://dx.doi.org/10.1590/1413-812320172210.17742017>> Acesso em: 03 ago. 2018.

REAGAN-SHAW, S.; NIHAL, M.; AHMAD, N. Dose translation from animal to human studies revisited. **The FASEB Journal**, v.22, n.3, p.659-661, 2008. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17942826>>. Acesso em: 12 nov. 2018.

RODRIGUES-ALVES, P. S.; LEBRUN, I.; FLÓRIO, J. C.; BERNARDI, M. M.; SPINOSA, H. S. Moxidectin interference on sexual behavior, penile erection and hypothalamic GABA levels of male rats. **Research in Veterinary Science**, v.84, n.1, p.100-106, 2008. <<https://doi.org/10.1016/j.rvsc.2007.04.003>> Acesso em: 20 fev. 2017.

RUNKLE, J.; FLOCKS, J.; ECONOMOS, J.; DUNLOP, A. L. A systematic review of mancozeb as a reproductive and developmental hazard. **Environment International**, v.99, p.29-42, 2016. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/27887783>>. Acesso em: 25 maio 2017.

SNOEREN, E. M.; VEENING, J. G.; OLIVIER, B.; OOSTING, R. S. Serotonin 1A receptors and sexual behavior in male rats: a review. **Pharmacology, Biochemistry and Behavior**, v.121, p.102-114, 2014. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24239787>>. Acesso em: 04 dez. 2017.

VIEIRA, M. L.; COSTA, N. O.; PEREIRA, M. R. F.; DE FÁTIMA PACCOLA MESQUITA, S.; MOREIRA, E. G.; GERARDIN, D. C. C. Chronic exposure to the fungicide propiconazole: Behavior and reproductive evaluation of F1 and F2 generations of male rats. **Toxicology**, v.389, p.85-93, 2017. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/28743513>>. Acesso em: 14 set. 2017.