

## Efeitos citotóxicos de um herbicida a base de glifosato no peixe *Astyanax altiparanae* Garutti & Britski, 2000

**Juliane Aparecida Turek**

Egressa de Ciências Biológicas. Universidade Estadual do Paraná, campus de União da Vitória.  
Contato: [julianeturek@yahoo.com.br](mailto:julianeturek@yahoo.com.br)

**Nédia de Castilhos Ghisi**

Docente da Universidade Tecnológica Federal do Paraná, campus de Dois Vizinhos.  
Contato: [nediaghisi@gmail.com](mailto:nediaghisi@gmail.com)

**Francielle Matozo**

Egressa de Ciências Biológicas. Universidade Estadual do Paraná, campus de União da Vitória.  
Contato: [francielle.matozo@hotmail.com](mailto:francielle.matozo@hotmail.com)

**Rafael Bueno Noleto**

Docente de Ciências Biológicas. Universidade Estadual do Paraná, campus de União da Vitória.  
Contato: [rafanoletto@yahoo.com.br](mailto:rafanoletto@yahoo.com.br)

**Resumo:** A constante preocupação em otimizar a produtividade agrícola frente a demanda aumentada por alimentos, traz consigo uma crescente utilização de pesticidas visando proteger as lavouras contra pragas. Nos últimos anos, com o aumento no uso de lavouras geneticamente modificadas, o glifosato se tornou um produto indispensável à agricultura, tornando-se um dos pesticidas mais utilizados ao redor do mundo. Desta forma, aumentou também as preocupações quanto à segurança ambiental e pública do uso deste pesticida. Assim o objetivo deste estudo foi avaliar a toxicidade do herbicida Roundup® WG nas concentrações 1,58 mgL<sup>-1</sup> e 5,0 mgL<sup>-1</sup> no peixe *Astyanax altiparanae*. Os indivíduos foram expostos pelo período de 120 horas (cinco dias) e, posteriormente amostras de sangue foram coletadas da veia caudal para realização do Teste do Micronúcleo Píscico (MN) e alterações nucleares eritrocitárias (ANE). Nossos resultados indicaram que os indivíduos expostos à concentração de 5 mgL<sup>-1</sup> foram os que apresentaram significativo índice de alterações nucleares eritrocitárias. Frente à diversidade de substâncias potencialmente tóxicas que acabam por alcançar e se acumular em ambientes aquáticos, conhecer os efeitos destes agentes xenobióticos sobre as espécies é fundamental para o monitoramento de ambientes, visando guiar ações que minimizem a contaminação e possivelmente regulamentar concentrações permitidas.

**Palavras-chave:** Roundup® WG; Alterações nucleares eritrocitárias; Pesticida.

### Cytotoxic effects of a glyphosate-based herbicide in fish *Astyanax altiparanae* Garutti & Britski, 2000

**Abstract:** The constant concern to optimize agricultural production in the face of increased demand for food, brings with it an increasing use of pesticides to protect crops against pests. In last years, with the increase in the use of genetically modified crops, glyphosate has become an indispensable product for agriculture, becoming one of the most used pesticides around the world. This has also raised concerns about the safe use of this pesticide. Thus the objective of this study was to evaluate the toxicity of the herbicide Roundup® WG at concentrations 1.58 mgL<sup>-1</sup> and 5.0 mgL<sup>-1</sup> on the fish *Astyanax altiparanae*. The individuals were exposed for a period of 120 hours (five days) and blood samples were collected from the caudal vein for the piscine micronucleus test (MN) and erythrocyte nuclear abnormalities (ENA). Our results indicated that Roundup® WG presented a mutagenic potential at the concentration of 5 mgL<sup>-1</sup>, based on index of erythrocyte nuclear abnormalities. In view of the diversity of potentially toxic substances that eventually reach and accumulate in aquatic environments, to understand the effects of these xenobiotic agents on on species is fundamental for the monitoring the environment aimed lead actions that minimize contamination adjusting permitted concentrations.

**Key-words:** Roundup® WG; Erythrocyte nuclear abnormalities; Pesticide.

Como citar este artigo:

TUREK, J. A.; GHISI, N. C.; MATOZO, S.; NOLETO, R. B. Efeitos citotóxicos de um herbicida a base de glifosato no peixe *Astyanax altiparanae* Garutti & Britski, 2000. **Luminária**, União da Vitória, v.19, n.02, p. 06 – 12, 2017.

## INTRODUÇÃO

O ambiente aquático possui uma organização altamente complexa. Todos os ecossistemas que compõe esse ambiente são muito dinâmicos possuindo uma estreita interação entre os seus constituintes, tanto bióticos como abióticos (RAND et al., 1995). Cada vez mais os ecossistemas aquáticos vêm sendo impactados, pois constituem os compartimentos finais de vários produtos gerados através das atividades antrópicas (TOMITA; BEYRUTH, 2002). Atualmente o Brasil enfrenta grandes problemas de deterioração das mais diversas fontes de água disponíveis. Fontes de poluição podem trazer sérias consequências à vida aquática, já que quando uma substância é depositada em um ambiente de forma contínua, pode levar a sua acumulação em níveis suficientes para se tornarem tóxicos aos animais que o habitam. Neste cenário, frente a crescente produção agrícola, os agrotóxicos representam perigosos contaminantes derivados da ação humana que acabam por se acumular em ambiente aquático (GRISOLIA, 2005). O Estado do Paraná é o terceiro maior consumidor de agrotóxicos do Brasil, e juntamente com São Paulo e Minas Gerais responde pelo consumo de 50% de todos os agrotóxicos utilizados na América Latina (SIAGRO, 2012).

Os agrotóxicos (herbicidas, fungicidas, inseticidas) são misturas químicas muito complexas e heterogêneas. O glifosato [N-(fosfometil) glicina] é um herbicida de amplo espectro largamente utilizado, que expandiu suas aplicações em variedades vegetais geneticamente modificadas para tolerar o tratamento (BAYLIS, 2000; MONSANTO, 2005). Este herbicida sistêmico inibe o crescimento de plantas ao interferir na produção de aminoácidos aromáticos, como fenilalanina, tirosina e triptofano, comprometendo a síntese proteica (FAUS et al., 2015). Roundup® é o nome comercial de um herbicida no qual o glifosato é formulado como sal de isopropilamina e uma amina surfactante que facilita a absorção

pelas folhas (BRADBERRY et al., 2004). A clara identificação do xenobiótico é crucial em estudos toxicológicos diante das diferenças de toxicidade entre as formulações. A formulação original de Roundup® (MON 2139) contém 480 gL<sup>-1</sup> de glifosato, embora outras formulações são igualmente comercializadas variando a forma do glifosato, concentrações e sistemas surfactantes, como em Roundup® WG, cuja formulação apresenta a maior concentração do ingrediente ativo comercializada (792,5 gKg<sup>-1</sup>).

A espécie nativa *Astyanax altiparanae* (GARUTTI; BRITSKI, 2000) (Characiformes, Characidae), anteriormente chamada de *Astyanax bimaculatus*, é encontrada na bacia do alto Paraná (LIMA et al., 2007) e rio Iguazu (BAUMGARTNER et al., 2006). Espécie considerada herbívora, mas pode também se alimentar de insetos terrestres e fragmentos de peixes (DELARIVA, 2002). Representam bons bioindicadores para o monitoramento, uma vez que podem metabolizar, concentrar e armazenar poluentes transmitidos pela água (AL-SABTI, 1991). Esta espécie é inclusive citada pelo Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal (CONCEA) como uma espécie que vem sendo utilizada intensamente como modelo experimental em várias áreas (CONCEA, resolução normativa n.34, 2017).

Micronúcleos são fragmentos cromossômicos ou cromossomos acêntricos que não foram incorporados ao núcleo principal após a divisão celular, permanecendo como estruturas extra-nucleares (BOMBAIL et al., 2001). Adicionalmente anormalidades na forma do núcleo podem ser uma manifestação dos efeitos de xenobióticos e assim representam uma abordagem alternativa para se analisar citotoxicidade (FERRARO et al., 2004). No Brasil, estudos de mutagenicidade com espécies nativas representam um esforço importante para determinar os efeitos potenciais de agentes tóxicos na ictiofauna.

## *Efeitos citotóxicos de um herbicida a base de glifosato...*

Assim, para obter maiores informações sobre a ameaça a peixes neotropicais imposta pelo uso de pesticidas à base de glifosato, o presente estudo utiliza *A. altiparanae* como bioindicador para avaliar a genotoxicidade de Roundup® WG após exposição aguda às concentrações sub-letais do herbicida.

### **MATERIAL E MÉTODOS**

#### **Bioindicadores**

Sessenta espécimes de lambari (*Astyanax altiparanae*) pesando em média  $11,35 \pm 3,17$ g foram adquiridos no Centro de Piscicultura da Universidade Estadual do Paraná, campus de União da Vitória. Os peixes foram divididos aleatoriamente em três aquários (20 indivíduos por tratamento) de 60 L de água filtrada ( $21 \pm 2^\circ\text{C}$ ) sob aeração e o fotoperíodo de 12/12 horas. Antes dos testes de toxicidade os peixes foram aclimatados por quatro dias e alimentados a cada 48 horas, exceto durante o experimento. Os procedimentos do presente estudo estão em concordância com normas do Comitê de Ética em Experimentação Animal da Universidade Estadual do Paraná.

#### **Desenho experimental**

Após aclimatados os peixes foram expostos ao Roundup® WG (79,25% de glifosato) (Monsanto do Brazil Ltda) adquirido no comércio local. É um produto de classe toxicológica III (medianamente tóxico) e classe de periculosidade ambiental III (perigoso ao meio ambiente) (<http://www.monsantoglobal.com/global/br/produtos/Documents/roundup-wg-monsanto-bula.pdf>). Divididos em três grupos, os peixes foram assim distribuídos: (CTRL) controle negativo; (G1) concentração de  $1,58 \text{ mgL}^{-1}$  de Roundup® WG (correspondente a  $1,25 \text{ mgL}^{-1}$  de glifosato); (G2) concentração de  $5,0 \text{ mgL}^{-1}$  de Roundup® WG ( $3,96 \text{ mgL}^{-1}$  de glifosato). Ambas as concentrações do contaminante foram administrados por via hídrica, ou seja, foram misturados à água do aquário, e a duração dos bioensaios foi de 120 horas. As concentrações administradas foram baseadas em concentrações já testadas de formulações de Roundup® em testes genotóxicos em peixes (FERRARO, 2009; MORENO et. al., 2014), visando assim comparações com a formulação de maior concentração comercializada deste herbicida. Durante

o experimento a água foi continuamente monitorada para a temperatura, oxigênio dissolvido, pH e condutividade. O bioensaio foi semi-estático, trocando cerca de 1/3 da água a cada 24 horas com reposição proporcional do contaminante. Imediatamente depois de retirados do aquário cada indivíduo foi anestesiado com benzocaína 0,02% (etil-ester-3-ácido aminobenzóico), conforme recomendações éticas. O sangue periférico foi então coletado a partir da veia caudal com uma seringa heparinizada de 1 mL, e cerca de 15  $\mu\text{L}$  foram colocados sobre uma lâmina limpa e feito um esfregaço. Após secar foram fixadas em álcool 96% e coradas com corante Giemsa 5% em tampão fosfato pH 6,8.

#### **Teste do micronúcleo písceo e análises estatísticas**

Conforme Schmid (1975) 1.000 eritrócitos de cada indivíduo foram examinados em aumento de  $1.000\times$  e classificados conforme a presença de micronúcleos (MN) e/ou alterações nucleares eritrocitárias (ANE), manifestadas como mudanças da forma normal elíptica do núcleo. A frequência de micronúcleos e de outras anomalias morfológicas nucleares foi comparada entre os grupos contaminados e controle através da análise de variância (ANOVA) oneway. Havendo diferenças entre os tratamentos, estas foram analisadas pelo teste Student-Newman-Keuls. A decisão por usar testes paramétricos foi baseada na normalidade e homogeneidade da variância. Resultados com  $p < 0,05$  foram considerados estatisticamente significantes.

### **RESULTADOS E DISCUSSÃO**

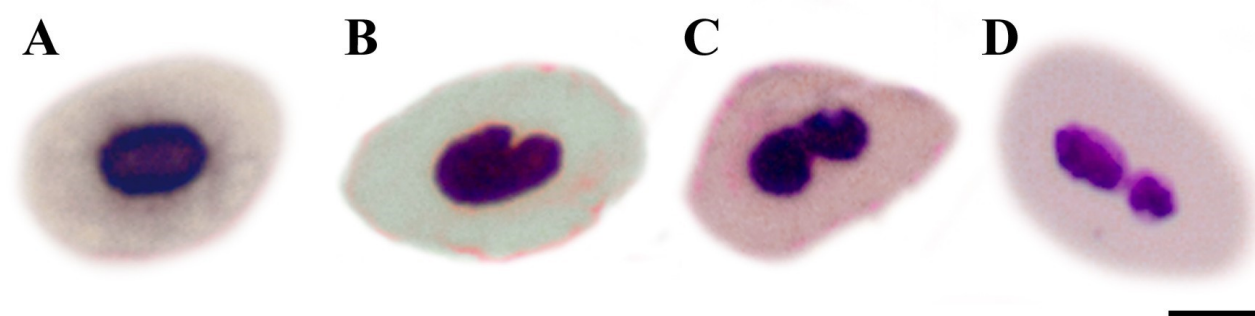
Durante os cinco dias do experimento não foi observada mortalidade de nenhum indivíduo. Silva Filho (2010) com a formulação original (Roundup®) estabeleceu para *Astyanax bimaculatus* a concentração letal ( $CL_{50}$ ) de  $14,0 \text{ mgL}^{-1}$  no período de 96 horas, enquanto DISNER et al. (2011) também com Roundup® em *Astyanax altiparanae* determinou uma  $CL_{75}$  de  $9,6 \text{ mgL}^{-1}$ . Uma vez que Roundup® WG é 65% mais concentrado do que a formulação original, proporcionalmente a maior concentração testada no presente estudo ( $5,0 \text{ mgL}^{-1}$ ) não se aproxima destas concentrações letais, o que justifica a ausência de mortalidade.

*Efeitos citotóxicos de um herbicida a base de glifosato...*

Em contrapartida ambas as concentrações testadas no presente estudo são superiores ao valor máximo permitido tanto pelo Conselho Nacional do Meio Ambiente resolução 357/2005 (65 µg/L<sup>-1</sup>, para águas de Classe 1), quanto pela Organização Mundial de Saúde (1,0 mg/L<sup>-1</sup>).

Espécies do gênero *Astyanax* são encontradas numa grande diversidade de ambientes aquáticos, reflexo de uma ampla distribuição geográfica. Apresentam boa sensibilidade na avaliação de efeitos genotóxicos de xenobióticos, representando bons bioindicadores para contaminação ambiental (RAMSDORF et al., 2012; CORT; GHISI, 2014; GHISI et al., 2014). *A. altiparanae* no presente estudo, confirmou essa peculiaridade ao indicar maior frequência de alterações nucleares quando submetida às concentrações teste de uma formulação comercial do herbicida glifosato. Na análise de eritrócitos periféricos em *A. altiparanae* não foi detectada a presença de MN, embora ANE foram encontradas (Figura 1) e sua frequência mostrou-se elevada estatisticamente apenas entre G2 (5,0 mg/L<sup>-1</sup>) e os demais tratamentos ( $p < 0,01$ ) (Figura 2). Este resultado está de acordo com o de Cavalcante et al. (2008), no qual o teste de MN em eritrócitos de *Prochilodus lineatus*

não indicou algum efeito genotóxico na concentração de Roundup® (10 mg/L<sup>-1</sup>), correspondente a 4,1 mg/L<sup>-1</sup> de glifosato. Igualmente em *Carassius auratus*, sendo 5 mg/L<sup>-1</sup> a menor concentração de glifosato capaz de induzir um aumento significativo de eritrócitos micronucleados após 96h de exposição (ÇAVAS; KONEN, 2007). Ferraro (2009) estudando *Astyanax bimaculatus* (*A. altiparanae*) expostos também à concentração de 1,58 mg/L<sup>-1</sup> de Roundup®, detectou diferenças estatísticas quanto a frequência de MN e ANE somente após 15 dias de exposição. Portanto, mesmo a formulação de Roundup® WG sendo 65% mais concentrada, em comparação com Roundup®, cinco dias de exposição não foram suficientes para causar danos relevantes. Uma vez que a meia-vida do glifosato tem média de 92 dias em água e 47 dias no solo (VENCILL, 2002; TOMLIN, 2006) mesmo em pequenas concentrações a exposição prolongada ao glifosato pode originar danos ao material genético, porém o biomarcador utilizado no presente estudo não foi capaz de detectá-los. Vale ressaltar também que a fotodegradação do glifosato na água é relatada como insignificante sob luz natural (CASTLE; RUZO; KATHERYN, 1990).



**Figura 1.** Exemplos de eritrócitos de *Astyanax altiparanae* com morfologia normal (A) e com alterações morfológicas: notched (B-C) e lobed (D). Coloração com Giemsa. Barra = 50µm.

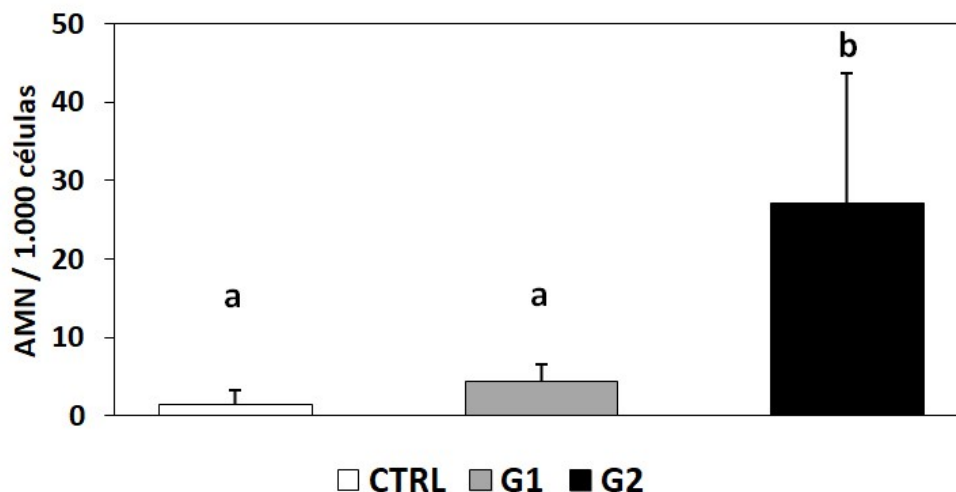
A formação de MN e/ou ANE em células em divisão é o resultado da quebra de cromossomos devido a lesões não reparadas, mal reparadas ou mal segregação de cromossomos devido a disfunções mitóticas. Estes eventos podem ser induzidos por: (1) estresse oxidativo, (2) exposição a agentes clastogênicos ou

aneugênicos, (3) defeitos genéticos em *check-points* do ciclo celular e/ou no sistema de reparo do DNA e (4) deficiências de nutrientes necessários ao metabolismo do DNA e segregação de cromossomo (LARMARCOVAI et al., 2008).

*Efeitos citotóxicos de um herbicida a base de glifosato...*

Alterações morfológicas nucleares ainda são induzidas devido à influência dos compostos citotóxicos sobre a integridade da lâmina nuclear, proteína responsável por conferir estabilidade e o formato oval regular do núcleo (ALBERTS et al., 2002). O mecanismo molecular responsável pela genotoxicidade do glifosato ainda não está totalmente entendido, contudo a formação de MN e/ou ANE ob-

servada em animais claramente indica que este composto interage com a cromatina induzindo danos. Peluso et al. (1998) relataram que tais danos podem ser principalmente causados pela maior incidência no DNA de sítios alcalinos-sensíveis, observados em células de camundongos após tratados com glifosato, ou relacionado também a um aumento dramático de espécies reativas de oxigênio (EROs).



**Figura 2.** Média do número de ANE encontradas em eritrócitos de *Astyanax altiparanae*. Nota: CTRL: controle; G1: concentração de 1,58 mgL<sup>-1</sup> de Roundup® WG (1,25 mgL<sup>-1</sup> de glifosato); G2: concentração de 5,0 mgL<sup>-1</sup> de Roundup® WG (3,96 mgL<sup>-1</sup> de glifosato). Letras diferentes sobre as barras indicam diferença estatística ( $p < 0.05$ ).

Estudos em peixes têm demonstrado que Roundup® e/ou glifosato induz estresse oxidativo ao comprometer a atividade de enzimas antioxidantes, e com o aumento de EROs, danos ao DNA podem ser originados por oxidação de bases nitrogenadas, quebras cromossômicas e inibição de enzimas do sistema de reparo (GLUSCZAK et al., 2007; LUSHCHAK et al., 2009; LANGIANO; MARTINEZ, 2008; GUILHERME et al., 2012). O ataque ao DNA pode também ser consequência da perda da integridade de membrana causada pela peroxidação lipídica (GRISOLIA, 2002).

A sensibilidade do teste de MN em eritrócitos de peixe sempre tem sido discutida devido ao seu baixo nível de indução (JHA, 2008), logo não é surpreendente não termos encontrado indicativo de mutagenicidade na menor concentração testada (1,58 mgL<sup>-1</sup>). Outros biomarcadores como o ensaio cometa têm uma sensibilidade muito maior, capaz de

detectar danos no DNA em concentrações muito menores das testadas no presente estudo (FERRARO et al., 2004; GHISI; CESTARI, 2013; RAMSDORF et al., 2012).

No Brasil a concentração máxima de glifosato permitida pela resolução 357/2005, para águas de classe tipo I (águas doces) é de 65 µgL<sup>-1</sup> (CONAMA, 2005), cerca de 22 vezes inferior a menor concentração testada de Roundup® WG no presente estudo. Contudo, tais valores são para o princípio ativo e não para o produto vendido comercialmente. É comprovado que o aumento na frequência de ANE está relacionado à exposição ao glifosato, principalmente as suas formulações comerciais quando comparadas ao herbicida puro (GHISI et al., 2016). Em complexas formulações comerciais têm adicionados surfactantes, geralmente etilaminas, que facilitam a penetração do glifosato na superfície foliar (KIER; KIRKLAND, 2013). Tal associação com o glifosato torna a fórmula muitas vezes

mais tóxica para peixes do que o glifosato puro (SERVIZI et al., 1987; JIRAUNGKOROSKUL et al., 2002).

### CONSIDERAÇÕES FINAIS

Nossos resultados revelaram que Roundup® WG produziu efeitos genotóxicos sobre o peixe *Astyanax altiparanae* na concentração de 5,0 mgL<sup>-1</sup>. O teste MN mostrou ser uma importante ferramenta complementar para detectar genotoxicidade, pois revelou danos ao DNA consequentes de um efeito clastogênico e/ou aneugênico do glifosato. Acreditamos também que danos ao material genético sejam subproduto de estresse oxidativo desencadeado pelo Roundup® WG. Os efeitos celulares são bastante complexos e pelo fato de ainda não serem totalmente compreendidos, se faz necessário estudos adicionais com testes de maior sensibilidade, para o melhor entendimento dos mecanismos responsáveis pela citotoxicidade e genotoxicidade do glifosato.

Por fim, cada vez mais estudos mostram que concentrações mesmo abaixo dos limites permitidos pela legislação são danosas aos organismos conforme prolongada exposição, e neste contexto estudos como o presente vem reforçar a necessidade de se analisar concentrações não letais de pesticidas, cujos efeitos silenciosos podem afetar os organismos em vários níveis.

### REFERÊNCIAS

- ALBERTS, B.; BRAY, D.; LEWIS, J.; RAFF, M.; ROBERTS, K.; WALTER, P. **Biologia Molecular da Célula**. 4. ed. Porto Alegre: Artmed, 2002.
- AL-SABTI, K. **Handbook of genotoxic effects and fish chromosomes**. 97pp, 1991.
- BAUMGARTNER, D. et al. Fish, Salto Osório Reservoir, Iguçu River basin, Paraná State, Brazil. **Check List**, v. 2, n. 1, p. 1-4, 2006.
- BAYLIS, A. D. Why glyphosate is a global herbicide: strengths, weaknesses and prospects. **Pest Management Science**, v. 56, n. 4, p. 299-308, 2000.
- BOMBAIL, V. et al. Application of the comet and micronucleus assays to butterflyfish (*Pholis gunnellus*) erythrocytes from the Firth of Forth, Scotland. **Chemosphere**, v. 44, n. 3, p. 383-392, 2001.
- BRADBERRY, S. M. et al. Glyphosate poisoning. **Toxicological reviews**, v. 23, n. 3, p. 159-167, 2004.
- CASTLE, S.; RUZO, L. Degradation study: photodegradation of carbon 14 glyphosate in a buffered aqueous solution at pH 5, 7, and 9 by natural sunlight. **Unpublished report**, n. 233W-1, 1993.
- CAVALCANTE, D. G. S. M. et al. Genotoxic effects of Roundup® on the fish *Prochilodus lineatus*. **Mutation Research/Genetic Toxicology and Environmental Mutagenesis**, v. 655, n. 1, p. 41-46, 2008.
- ÇAVAŞ, T.; KÖNEN, S. Detection of cytogenetic and DNA damage in peripheral erythrocytes of goldfish (*Carassius auratus*) exposed to a glyphosate formulation using the micronucleus test and the comet assay. **Mutagenesis**, v. 22, n. 4, p. 263-268, 2007.
- CONAMA. **Conselho Nacional do Meio Ambiente**. Resolução Nº 357 de 17 de março de 2005.
- CORT, C. C. W. D.; GHISI, N. de C. Uso de alterações morfológicas nucleares no peixe *Astyanax* spp. para avaliação da contaminação aquática. **O Mundo da Saúde** (Online), v. 38, p. 31-39, 2014.
- DELARIVA, R. L. **Ecologia trófica da ictiofauna do rio Iguçu-PR sob efeito do represamento de Salto Caxias**. Tese de doutorado, Universidade Estadual de Maringá, Maringá, 2002.
- DISNER, G. R. et al. Avaliação da atividade mutagênica do Roundup® em *Astyanax altiparanae* (Chordata, Actinopterygii). **Evidência-Ciência e Biotecnologia**, v. 11, n. 1, p. 33-42, 2011.
- FAUS, I. et al. Protein kinase GCN2 mediates responses to glyphosate in *Arabidopsis*. **BMC plant biology**, v. 15, n. 1, p. 14, 2015.
- FERRARO, M. V. M. et al. Mutagenic effects of tributyltin and inorganic lead (Pb II) on the fish *H. malabaricus* as evaluated using the comet assay and the piscine micronucleus and chromosome aberration tests. **Genetics and Molecular Biology**, v. 27, n. 1, p. 103-107, 2004.

*Efeitos citotóxicos de um herbicida a base de glifosato...*

- JHA, A. N. Ecotoxicological applications and significance of the comet assay. **Mutagenesis**, v. 23, n. 3, p. 207-221, 2008.
- JIRAUNGKOORSKUL, W. et al. Histopathological effects of Roundup, a glyphosate herbicide, on Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*). **Science Asia**, v. 28, p. 121-127, 2002.
- KIER, L. D.; KIRKLAND, D. J. Review of genotoxicity studies of glyphosate and glyphosate-based formulations. **Critical reviews in toxicology**, v. 43, n. 4, p. 283-315, 2013.
- LANGIANO, V. do C.; MARTINEZ, C. B. Toxicity and effects of a glyphosate-based herbicide on the Neotropical fish *Prochilodus lineatus*. *Comparative Biochemistry and Physiology Part C: Toxicology & Pharmacology*, v. 147, n. 2, p. 222-231, 2008.
- LIMA, F. C. T. et al. Família Characidae: Gêneros *incertae sedis*. In: BUCKUP, P. A.; MENEZES, N. A.; GHAZZI, M. S. (Ed.). **Catálogo das espécies de peixes de água doce do Brasil**. Rio de Janeiro: Museu Nacional, 44-62, 2007.
- LUSHCHAK, V. et al. Low toxic herbicide Roundup induces mild oxidative stress in goldfish tissues. **Chemosphere**, v. 76, n. 7, p. 932-937, 2009.
- MONSANTO, 2005. **Backgrounder e History of Monsanto's Glyphosate Herbicides** [www Document]. b. URL [www.monsanto.com/products/Documents/glyphosate-background-materials/back\\_history.pdf](http://www.monsanto.com/products/Documents/glyphosate-background-materials/back_history.pdf).
- MORENO, N. C. et al. Genotoxic effects of the herbicide Roundup Transorb® and its active ingredient glyphosate on the fish *Prochilodus lineatus*. **Environmental toxicology and pharmacology**, v. 37, n. 1, p. 448-454, 2014.
- PELUSO, M. et al. <sup>32</sup>P-postlabeling detection of DNA adducts in mice treated with the herbicide roundup. **Environmental and molecular mutagenesis**, v. 31, n. 1, p. 55-59, 1998.
- RAMSDORF, W. A. et al. Handling of *Astyanax* sp. for biomonitoring in Cangüiri Farm within a fountainhead (Iraí River Environment Preservation Area) through the use of genetic biomarkers. **Environmental monitoring and assessment**, v. 184, n. 10, p. 5841-5849, 2012.
- RAND, G. M. (Ed.). **Fundamentals of aquatic toxicology: effects, environmental fate and risk assessment**. CRC press, 1995.
- SCHMID, W. The micronucleus test. **Mutation Research/Environmental Mutagenesis and Related Subjects**, v. 31, n. 1, p. 9-15, 1975.
- SERVIZI, J. A. et al. Acute toxicity of Garlon 4 and Roundup herbicides to salmon, Daphnia, and trout. **Bulletin of environmental contamination and toxicology**, v. 39, n. 1, p. 15-22, 1987.
- SIAGRO. Curitiba: ADAPAR/SEAB, 2012. Disponível em: <<http://www.siaagro.seab.pr.gov.br/siaagro/>>.
- SILVA FILHO, P. B. et al. **Efeitos do Roundup™ e do Thiodan® em adultos de *Astyanax bimaculatus* (Characidae: Teleostei): Valores de CL50 e morfologia testicular**. Dissertação de Mestrado, Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, 2010.
- TOMITA, R. Y.; BEYRUTH, Z. Toxicologia de agrotóxicos em ambiente aquático. **Biológico**, v. 64, n. 2, p. 135-142, 2002.
- TOMLIN C. D. S. **The Pesticide Manual: A World Compendium**. 14th ed. British Crop Protection Council; Hampshire, UK: 2006. pp. 545-548.
- VENCILL W. K., editor. **Herbicide Handbook**. 8th ed. Weed Science Society of America; Lawrence, KS, USA: 2002. pp. 231-234.

Submetido: 17/10/2017.

Aceito: 01/12/2017.