

UNIVERSIDADE FEDERAL DA FRONTEIRA SUL

CAMPUS LARANJEIRAS DO SUL

CURSO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS

MAIARA KRUGER

**ALTERAÇÕES MORFOLÓGICAS EM PROLE DE PEIXES *Poecilia reticulata*
Peters1859 (Cyprinodontiformes, Poeciliidae) EXPOSTOS A GLIFOSATO NO
PERÍODO DE REPRODUÇÃO**

LARANJEIRAS DO SUL

2024

MAIARA KRUGER

**ALTERAÇÕES MORFOLÓGICAS EM PROLE DE PEIXES *Poecilia reticulata*
Peters 1859 (Cyprinodontiformes, Poeciliidae) EXPOSTOS A GLIFOSATO NO
PERÍODO DE REPRODUÇÃO**

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado no componente curricular TCCII, Curso de Licenciatura em Ciências Biológicas da Universidade Federal da Fronteira Sul (UFFS), como requisito parcial para aprovação no CCR.

Orientadora: Prof.^a Dra. Silvia Romão

LARANJEIRAS DO SUL

2024

Bibliotecas da Universidade Federal da Fronteira Sul - UFFS

Kruger, Maíara

ALTERAÇÕES MORFOLÓGICAS EM PROLE DE PEIXES *Poecilia reticulata* Peters1859 (Cyprinodontiformes, Poeciliidae) EXPOSTOS A GLIFOSATO NO PERÍODO DE REPRODUÇÃO / Maíara Kruger. -- 2024.

34 f.:il.

Orientadora: Doutora Sílvia Romão

Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação) - Universidade Federal da Fronteira Sul, Curso de Licenciatura em Ciências Biológicas, Laranjeiras do Sul, PR, 2024.

1. Agrotóxico, Herbicida, Lebistes, Toxicidade.. I. Romão, Sílvia, orient. II. Universidade Federal da Fronteira Sul. III. Título.

Elaborada pelo sistema de Geração Automática de Ficha de Identificação da Obra pela UFFS com os dados fornecidos pelo(a) autor(a).

MAIARA KRUGER

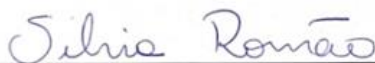
**ALTERAÇÕES MORFOLÓGICAS EM PROLE DE PEIXES *Poecilia reticulata*
EXPOSTOS A GLIFOSATO NO PERÍODO DE REPRODUÇÃO**

Trabalho de conclusão de curso de graduação apresentado como requisito para a obtenção do grau de Licenciada em Ciências Biológicas da Universidade Federal da Fronteira Sul - *Campus* Laranjeiras do Sul.

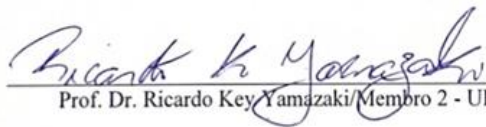
Orientadora: Silvia Romão

Este trabalho de conclusão de curso foi defendido e aprovado pela banca em: 08/07/2024.

BANCA EXAMINADORA



Profª Dra Silvia Romão/Orientadora - UFFS



Prof. Dr. Ricardo Key Yamazaki/Membro 2 - UFFS



Profª Dra Sandra Ludwig/Membro 3

Dedico este trabalho aos meus pais, que não pouparam esforços para que eu pudesse concluir meus estudos.

AGRADECIMENTOS

Em primeiro lugar, a Deus, que fez com que meus objetivos fossem alcançados, durante todos os meus anos de estudos.

Agradeço aos meus pais, por todo o zelo e dedicação que sempre despenderam comigo.

Aos amigos, que sempre estiveram ao meu lado, pela amizade incondicional e pelo apoio demonstrado ao longo de todo o período de tempo em que me dediquei a este trabalho.

Aos professores, pelas correções, ensinamentos e conselhos que me permitiram apresentar um melhor desempenho no meu processo de formação profissional ao longo do curso.

Às pessoas com quem convivi ao longo desses anos de curso, que me incentivaram e que certamente tiveram impacto na minha formação acadêmica.

RESUMO

Os pesticidas mais comercializados mundialmente são à base de glifosato, com destaque para o produto comercial ROUNDUP® WG. Sua alta demanda na agricultura se deve ao seu amplo espectro de ação. Embora se saiba que esse composto apresenta baixa nocividade para mamíferos, os efeitos sobre organismos aquáticos ainda são pouco conhecidos. Diante disso, o presente estudo avaliou o uso do glifosato no cultivo do peixe ornamental (*Poecilia reticulata*) e seus efeitos sobre a prole. O delineamento experimental foi constituído em duas fases. Na fase I, foram utilizados 108 indivíduos da espécie, alojados em 6 unidades experimentais com volume útil de 10 L cada, sendo 3 tratamentos controle e 3 tratamentos teste (Roundup 1 mg.L⁻¹) com densidade de 18 peixes por unidade experimental. Nesta fase, foi realizado o cultivo e reprodução dos exemplares. Na fase II, a prole resultante da reprodução da fase I foi mantida por 30 dias em ambiente livre de glifosato, e observados os efeitos crônicos da fase anterior sobre o desenvolvimento dos juvenis, utilizando como marcadores os efeitos morfológicos em brânquia, fígado, intestino e rim. Ao analisar os resultados obtidos não foi identificada alterações nas brânquias, fígado e intestino da prole, mas foram observados no rim da prole, representados por degeneração tubular, necrose e presença de material celular no interior dos túbulos renais. Os resultados indicam que a exposição dos peixes parentais ao glifosato durante as fases de amadurecimento gonadal, reprodução e desenvolvimento embrionário causou interferência no desenvolvimento da prole indicando que a presença do composto poderá ter efeito morfológico e funcional para essa espécie ao longo das gerações.

Palavras-chave: agrotóxico, herbicida, lebetes, toxicidade.

ABSTRACT

The most sold pesticides worldwide are glyphosate-based, with emphasis on the commercial product ROUNDUP® WG. Its high demand in agriculture must be due to its wide spectrum of action. Although this compound is known to be of low harm to mammals, the effects on aquatic organisms are still little known. Therefore, the present study evaluated the use of glyphosate in the cultivation of ornamental fish (*Poecilia reticulata*) and its effects on the profile. The experimental design consisted of two phases. In phase I, 108 copies of the species were used, housed in 6 experimental units with a useful volume of 10 L each, with 3 control treatments and 3 test treatments (Roundup 1 mg.L⁻¹) with a density of 18 fish per experimental unit. At this stage, the cultivation and reproduction of the specimens was carried out. In phase II, a profile resulting from the reproduction of phase I was maintained for 30 days in a glyphosate-free environment, and the continuous effects of the previous phase on the development of juveniles were observed, using as markers the morphological effects on gill, liver, intestine and kidney. When analyzing the results obtained, no changes were identified in the gills, liver and intestine of the offspring, resulting from the, but were observed in the profile kidney, represented by tubular degeneration, necrosis and the presence of cellular material inside the renal tubules. The results indicate that the exposure of parental fish to glyphosate during the stages of gonadal maturation, reproduction and embryonic development caused interference in the development of the profile, meaning that the presence of the compound may have moldological and functional effects on this species over generations.

Keywords: pesticide, herbicide, guppies, toxicity.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1- Corte histológico branquial de espécime do grupo controle.....	16
Figura 2- Corte histológico branquial de espécime submetido ao glifosato.....	17
Figura 3- Corte histológico de rim de espécime do grupo controle	18
Figura 4- Corte histológico de rim de espécime submetidos ao glifosato.....	19
Figura 5- Corte histológico de fígado de espécime do grupo controle	20
Figura 6- Corte histológico de fígado de espécime do grupo submetido ao glifosato ...	20
Figura 7- Corte histológico do intestino de espécime do grupo controle	21
Figura 8- Corte histológico do intestino de espécime do grupo submetido ao glifosato	22

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO.....	9
2 OBJETIVOS.....	11
2.1 OBJETIVO GERAL.....	11
2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	11
3 REVISÃO DE LITERATURA.....	12
3.1 A IMPORTÂNCIA DE EXPOSIÇÃO DE GLIFOSATO NA ESPÉCIE DE PEIXES <i>POECILIA RETICULATA</i>	12
3.2 ALTERAÇÕES MORFOLÓGICAS.	13
4 METODOLOGIA.	16
5 RESULTADOS	17
5.1 BRÂQUIAS.....	17
5.2 RIM.....	19
5.3 FÍGADO.....	21
5.4 INTESTINO.....	22
6 DISCUSSÃO.....	23
7 CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	27
8 REFERÊNCIAS	28

1. INTRODUÇÃO

A qualidade da produção agrícola sempre foi impactada pela presença de formas de vidas indesejáveis como insetos e ervas daninhas. Para combater esses problemas, tornou-se essencial o uso de agrotóxicos ou pesticidas de diversas classes químicas. Os primeiros pesticidas utilizados incluíam substâncias tóxicas de origem natural, como o piretro e a nicotina, além de elementos inorgânicos como o mercúrio e o enxofre. (JONATAN, 1989).

Os pesticidas são usados para controlar os fatores que afetam a produtividade. Essas substâncias podem ter muitos efeitos adversos no meio ambiente, principalmente na destruição de espécies não-alvo, contaminação do solo e das espécies subterrâneas ou superficiais, desenvolvimento de imunidade aos agrotóxicos e passagem dessas substâncias na cadeia alimentar para diversos sistemas ecológicos (RODRIGUES; ALMEIDA, 2007).

O uso em grande quantidade de agrotóxicos na agricultura começou nos Estados Unidos em meados de 1950 com a chamada “Revolução Verde”, que visava modernizar a agricultura e sua produtividade (ALVEZ, 2013). O Brasil, tornou-se o maior consumidor mundial de agrotóxicos, sendo a região sul responsável por 30 % desse consumo e o estado do Paraná destacando-se no uso de agrotóxicos comparados com o resto do Brasil, com 12 kg por hectare por ano, contra a média brasileira de 4 kg de hectare por ano (LOPEZ, 2018).

A modernização do campo, visando erradicar a fome e aumentar a produtividade, trouxe consigo o uso intensivo de agrotóxicos, cujos impactos incluem a degradação do solo, poluição das águas e da atmosfera (PORTO; SOARES, 2012; SIQUEIRA, 2013; LAZZARI; SOUZA, 2017). A "Revolução Verde" incorporou os agrotóxicos como parte essencial do pacote tecnológico da modernização agrícola, impulsionando a agricultura brasileira. Essa transformação permitiu a produção em regiões anteriormente de baixa fertilidade e especialização em diversas variedades de grãos (CARVALHO, 2017; PORTO; SOARES, 2012). Atualmente, o Brasil se destaca economicamente como um dos principais atores globais na agricultura, sendo o maior produtor mundial de soja e um dos principais exportadores de produtos agrícolas. No entanto, essa produção em larga escala é suportada pelo uso contínuo de sementes transgênicas, fertilizantes e agrotóxicos, o que

tem contribuído para posicionar o país como o maior consumidor global de agrotóxicos desde 2008 (CARNEIRO, 2015; PIGNATI, 2017; LARA, 2019;).

Os agrotóxicos são divididos em diferentes classes, dentre as quais pode-se citar herbicidas, fungicidas, acaricidas, algicidas, larvicidas e inseticidas. Além de compostos orgânicos, substâncias usadas como reguladores de crescimento, desfolhantes e desseccantes (BRAIBANTE, ZAPPE; 2012). Suas funções básicas na agricultura incluem a elevação da produção, a melhoria da qualidade dos produtos e a redução do trabalho e dos gastos com energia. Sem dúvida esses objetivos foram alcançados nas últimas décadas. No entanto, o uso indiscriminado e pouco criterioso de agrotóxicos trouxe e continua gerando sérios efeitos para o ambiente e para a saúde humana. No período entre 2010 a 2020, a quantidade de agrotóxicos comercializados no Brasil aumentou 78,3%, quase o triplo do que cresceu a área cultivada no país (27,6%) (HESS, 2022).

O herbicida glifosato é tóxico e pode ser transportado pela água, atingindo organismos não alvo, interferindo na reprodução e potencialmente causando efeitos em futuras gerações. Os contaminantes ambientais causam danos histológicos e no DNA dos animais, assim como promovem estresse oxidativo e inibem a produção de enzimas importantes para o funcionamento do sistema nervoso do animal. Neste sentido, o objetivo desse estudo é analisar as alterações morfológicas em brânquias, fígados, intestino e rim de juvenis da espécie *Poecilia reticulata*, gerados por animais submetidos a ensaios crônicos de exposição ao glifosato durante período de amadurecimento gonadal, reprodução e gestação.

2.OBJETIVO

2.1 OBJETIVO GERAL

Avaliar o efeito do glifosato na morfologia de diferentes órgãos de juvenis de *Poecilia reticulata* originários de parentais submetidos a exposição crônica ao agrotóxico.

2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Analisar as a morfologia de brânquias em juvenis de *Poecilia reticulata* cujos parentais foram expostos ao glifosato no período da reprodução.

- Analisar a morfologia de fígado em juvenis de *Poecilia reticulata* cujos parentais foram expostos ao glifosato no período da reprodução.
- Analisar a morfologia de rim em juvenis de *Poecilia reticulata* cujos parentais foram expostos ao glifosato no período da reprodução.
- Analisar a morfologia de intestino em juvenis de *Poecilia reticulata* cujos parentais foram expostos ao glifosato no período da reprodução.

3. REVISÃO DE LITERATURA

3.1 A IMPORTÂNCIA DE EXPOSIÇÃO DE GLIFOSATO NA ESPÉCIE DE PEIXES *P. reticulata*

O glifosato (N-(fosfonometil) glicina) é um composto organofosforado, de fórmula empírica (C₃H₈NO₅P) e princípio ativo de diversos defensivos agrícolas (fig 1). É um herbicida não seletivo, sistêmico, pós-emergente, com rápida absorção foliar e translocação, tanto pelo xilema quanto pelo floema da planta tratada. (TEÓFILO, 2003). Trata-se de um herbicida dessecante de culturas, usado para matar ervas daninhas, especialmente folhosas perenes e gramíneas que competem com as culturas (AMARANTE JUNIOR; 2002).

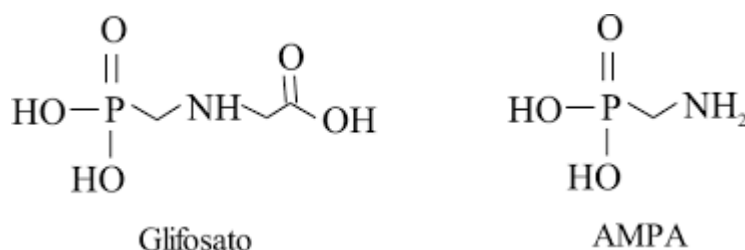


Figura 1. Fórmula estrutural do glifosato e seu principal produto de degradação (AMPA).

Há três classes de glifosatos que vem sendo comercializados: glifosato-isopropilamônio, glifosato-sesquisódio (patenteados por Monsanto e vendido como Round-up R), e glifosato-trimesium (patenteado por ICI, atual Syngenta R)

(AMARANTE JUNIOR; 2002).

É um herbicida importante pois apresenta enorme capacidade de translocação na planta (SHANER, 2009) tem ótimo controle, rápida inativação no solo, toxicidade baixa em animais e para manipuladores do produto (FRANZ 1997).

Os peixes são o maior grupo diversificado, não alvo, que continuamente são expostos aos pesticidas, portanto são importantes indicadores de efeitos da ação tóxica dessas substâncias, permitindo a detecção de toxicidade aquática (CRISTHIAN ALVES LORENSI; 2017). Além dos peixes, alguns invertebrados do solo, assim como bactérias e fungos apresentam efeitos adversos quando expostos ao glifosato (AMARANTE JUNIOR; 2002).

A espécie *P. reticulata* pertence ao reino animalia, filo Chordata, classe Actinopterygii, ordem Cyprinodontiformes, família Poecillidae, gênero *Poecilia*. Tem importância econômica por ser utilizada em aquarofilia, sendo, também, usado no controle de vetores de doenças como por exemplo a dengue. A espécie é caracterizado como modelo por possuir sensibilidade a ação de efeitos tóxicos, ciclo reprodutivo curto, Isto não está certo por isso retirar, adaptações a condições laboratoriais e fácil manejo em aquários, que permite uma população homogênea e padronizada para seu uso em testes toxicológicos (ANTUNES; 2013).

O modelo biológico utilizado foi o *Poecilia reticulata* (Peters, 1859), um peixe pequeno bento pelágico, não migratório, e que ocupa uma ampla gama de habitats, como estuários, lagos, lagoas, pequenas valas e canais (OECD, 1992; Skelton, 1993). É considerado como organismo-modelo para ser utilizado em estudos ecotoxicológicos com agrotóxicos (Manrique, 2009) e apresenta dimorfismo sexual, que facilita a identificação do sexo e arealização de estudos comparativos entre eles. Além disso, esta espécie é recomendada como organismo modelo pela American Public Health Association (APHA, 1991) e pela Organização para Cooperação e Desenvolvimento Econômico (OECD, 1992).

3.2 ALTERAÇÕES MORFOLÓGICAS

As brânquias de peixes são muito usadas como modelos para estudos de impacto ambiental, pela estrutura ter contato com o meio externo (FANTA, 1991), pois se adaptam com rapidez as condições impostas (MISHIRA, 1985; MACHADO, 1999). São o principal sítio de trocas gasosas (HUGHES, 1966; 1982), envolvidas com

osmorregulação (GONZALES; McDONALD, 1992), equilíbrio ácido-básico (McDONALD, 1991, WOOD, 1991), excreção de compostos nitrogenados (EVANS; CAMERON, 1986) sendo adequadas, portanto, em estudos de toxicologia aquática. É possível a diferenciação por análises histológicas, causadas por doenças ou poluentes.

Como exemplo, espécimes de *Danio rerio* (Hamilton 1822) adultos foram expostos em concentrações de 0,065 e 1 mg/L de glifosato contido no HBG Scout® diariamente por sete dias. O composto causou alterações morfológicas representados por um aumento na quantidade de hiperplasia/hipertrofia e fusão lamelar de uma de maneira dependente da concentração. Um aumento na largura das lamelas secundárias e uma diminuição da distância entre elas foi observado nos peixes expostos a 0,065 e 1 mg/L. Em animais tratados com 1 mg/L foi também observado um aumento na largura da lamela primária, uma diminuição do comprimento das lamelas secundárias e a diminuição da área da superfície branquial (MENNA; 2021).

Nos testes de toxicidade aguda em carpas *Cyprinus carpio* (Linnaeus, 1758) expostos ao glifosato foi estimado valor de CL50 96h no valor de 620 mg/L, sendo que concentrações subletais, de menos de 1% da CL50, causam danos às brânquias da carpa (LANGIANO; 2006).

As alterações morfológicas mais frequentemente reportadas em publicações científicas, em ordem de incidência, são: descolamento do epitélio; necrose; fusão lamelar; hipertrofia das células epiteliais; hiperplasia ou fusão das lamelas devido ao crescimento celular, resultando na redução da área de superfície respiratória; ruptura das células epiteliais; hipersecreção de muco; aneurisma lamelar; congestão vascular; proliferação de células secretoras de muco e de células de cloreto; infiltração de leucócitos no epitélio; e alterações no espaço sanguíneo delimitado pelas células pilares. (MACHADO, 1999).

O fígado é um indicador do estado nutricional fisiológico em peixes (CABALLERO 1999), e porque é um órgão central na acumulação e desintoxicação de contaminantes orgânicos e inorgânicos, é também frequentemente utilizado como indicador de poluição aquática em estudos ambientais (AL-YOUSUF, 2000; KOHLER, 1991).

O fígado é um órgão importante que traz informações relevantes em relação a ação depoluentes. O metabolismo é intenso, recebe por meio das vias sanguíneas os poluentes absorvidos no ambiente, pode apresentar alterações morfológicas devido a toxicidade de compostos presentes na água (SALEH, 1982; BRAUNBECK, 1990). O órgão também é responsabilizado pela desintoxicação dos organismos a produtos endógenos e exógenos,

atuando em processos de biotransformação capazes de originar metabólitos mais reativos que o produto de origem, sendo o primeiro alvo da toxicidade dessas substâncias (ZELIKOFF, 1998; ROBERTS, 2001), portanto atua como sítio de armazenamento, biotransformação e excreção de agentes químicos (CENGIZ E UNLU, 2006; CUÑA, 2011; AGAMY, 2012). Os hepatócitos, principais células do fígado, são poliédricos com grandes núcleos esféricos, geralmente um ou dois, contendo nucléolos, e possuem um citoplasma de aparência granular e vacuolizada. Também estão presentes sinusoides hepáticos capilares que se encontram entre os hepatócitos (Groman, 1982; Takashima & Hibiya, 1995).

Em estudo que investigou os efeitos da toxicidade do glifosato no fígado de machos e fêmeas de *D. rerio* foram observadas várias alterações no tecido hepático, incluindo edema, hemorragia, hiperemia, vasodilatação, necrose e vacuolização, além de mudanças na estrutura interna das células hepáticas, como dilatação do retículo endoplasmático, do espaço perinuclear, perda de membrana mitocondrial, formação de membranas concêntricas e vacuolização citoplasmática. As análises histoquímicas revelaram redução de proteínas totais e de polissacarídeos ácidos em fêmeas após 7 dias de exposição, e diminuição de polissacarídeos neutros após 15 dias. Em machos, houve aumento de proteínas totais após 7 dias e redução de polissacarídeos ácidos em ambos os períodos. A concentração de 6,5 mg/L mostrou maior impacto nas fêmeas após 7 dias, enquanto os machos demonstraram maior sensibilidade após 15 dias, indicando respostas divergentes à toxicidade conforme o sexo (DAVICO, 2021).

A digestão química e a absorção de nutrientes, íons e água ocorrem predominantemente no intestino. A região proximal do intestino é mais eficiente na digestão e absorção de nutrientes, enquanto a região distal é mais focada na absorção de íons e água. A parede intestinal dos peixes apresenta uma estrutura histológica composta por quatro camadas: mucosa, submucosa, muscular e serosa (Gentem et al., 2009). Segundo Wilson e Castro (2011) e Honorato et al. (2011), a camada mucosa nos peixes é formada por uma monocamada de células epiteliais cilíndricas, conhecidas como enterócitos, que se situam acima de uma camada de tecido conjuntivo. Os enterócitos são as células epiteliais predominantes que revestem a luz do intestino e desempenham um papel crucial na absorção de nutrientes devido à presença da "borda em escova" em sua região apical, voltada para a luz (Van Dongen, Visser, Daems, Galjaard, 1976). Além das células epiteliais cilíndricas, o tecido epitelial intestinal simples também possui células caliciformes, responsáveis pela produção de muco, que protege e lubrifica o revestimento intestinal (Deplancke & Gaskins, 2001). A

submucosa é composta por camadas de tecido conjuntivo que sustentam a mucosa e abaixo dela estão as camadas musculares, constituídas por uma camada circular interna e outra longitudinal externa de músculo liso, responsáveis pelo peristaltismo. Externamente, encontra-se a serosa, formada por tecido conjuntivo e epitelial; a submucosa abriga um grande número de eosinófilos e quantidades variáveis de tecido linfóide (Cardoso, 2005; Wilson & Castro, 2011). Uma característica importante do intestino é a presença de vilosidades e criptas em sua arquitetura (Rodrigues, 2011). Nas criptas, estão localizadas as células-tronco intestinais (CTI), que possuem a capacidade de autorrenovação e de gerar todas as células diferenciadas do tecido intestinal, sendo essenciais para a constante renovação da população celular do epitélio intestinal (Rodrigues, 2011).

Nos peixes, o rim é um órgão singular que não apenas filtra o sangue, mas também desempenha uma função semelhante à da medula óssea em vertebrados superiores, sendo responsável pela hematopoiese em conjunto com o baço. Esse órgão é dividido em partes anterior e posterior, onde a hematopoiese ocorre quase exclusivamente na região anterior. A parte posterior do rim filtra e elimina compostos tóxicos do sangue, desempenhando um papel semelhante ao dos rins dos mamíferos (Moro, 2013).

O tecido hematopoiético tem funções importantes tanto no sistema endócrino quanto no sistema imunológico, promovendo a interação entre esses dois sistemas. Ele é essencial na produção de anticorpos e hormônios catecolaminas (Borges, 2005; Pimpão, 2006). No rim, o néfron se desenvolve em segmentos proximal e distal, sendo constituído por uma região globular e um tubo longo. O corpúsculo renal, formado pelo glomérulo e pela cápsula de Bowman que o envolve, inclui também as artérias aferentes e eferentes e os túbulos proximais. Dentro desses túbulos, a observação de material celular corado pode indicar a possível ruptura da estrutura ao longo do néfron (Cormier et al., 1995).

4. METODOLOGIA

O presente estudo foi executado no laboratório de Experimentação Animal da Universidade Federal da Fronteira Sul - Campus Laranjeiras do Sul. Os experimentos consistem na análise de peixes da espécie *Poecilia reticulata* F1 de indivíduos submetidos à exposição por glifosato no período de reprodução.

A primeira fase do ensaio foram utilizados 108 indivíduos da espécie, mantidos em 6 unidades experimentais com volume útil de 10L cada, em uma proporção de 1

macho para 4 fêmeas, sendo 3 aquários tratamentos controle e 3 aquários tratamentos teste (Roundup 1 mg.L⁻¹) com densidade de 18 peixes por unidade experimental e mantidos durante a fase de maturação gonadal e reprodução, ocorreu durante 157 dia

Os indivíduos foram selecionados, aleatoriamente, 3 aquários controles e 3 aquários submetidos ao glifosato. Os animais foram mantidos em temperatura de 26 °C, com oxigenação constante, alimentados diariamente com ração comercial e realizada a troca de 30 % da água dos aquários 2 vezes por semana.

Em uma segunda fase a F1 18 foi cultivada em ambiente livre de glifosato por 30 dias, nas mesmas condições identificada acima. Ao final deste período foi realizada eutanásia F1 e realizada coleta dos órgão brânquia, fígado, intestino e rim para avaliação morfológica. Para os animais do grupo submetido ao glifosato foram 18 indivíduos utilizados para avaliação morfológica e do grupo controle foram utilizados 14 animais da prole.

Modificado a partir de Beçak e Paulete 1976, foi modificado porque usamos tempos diferentes e por serem peças muito pequenas, para a coleta e processamentos os animais foram anestesiados em benzoína 50 mg/L e sacrificados por aprofundamento anestésico com benzocaína à 100 mg/L, sendo coletado os órgãos, fixados em ALFAC (75 ml de álcool 95 %, 25 ml de formol e 2,5 ml de ácido acético) por 24 horas e posteriormente armazenados em álcool 70 %, desidratados em série alcoólica em uma sequência de álcool 80 %, álcool 90 %, álcool 95 %, álcool absoluto, sendo 30 minutos em cada concentração, diafanizados em xilol (3 banhos de 5 minutos) e incluídos em parafina líquida à 58 °C, sendo resfriados para solidificação da parafina. Os blocos foram cortados em micrótomo e os cortes colados em lâminas de vidro, desparafinizados em xilol (2 banhos de 5 minutos), hidratados em série alcoólica decrescente (álcool 100 %, álcool 95 %, álcool 70% e água – 5 minutos em cada banho), corados em corantes histológicos de Hematoxilina (15 minutos) e Eosina (5 minutos), desidratados em série alcoólica crescente (álcool 95 % e 3 banhos em álcool absoluto – 5 minutos), diafanizados em xilol – 3 banhos de 3 minutos) e as lâminas montadas com lamínulas e resina histológica. As lâminas foram analisadas e fotografadas em microscópio óptico para localização e análise morfológica das brânquias, fígado, rim e intestino (BEÇAK; PAULETE, 1976).

5. RESULTADOS

5.1 Brânquias

Os animais do grupo controle apresentaram morfologia branquial com alterações, com lamelas primárias e lamelas secundárias. Foram observadas alterações de descolamento do epitélio da lamela secundária (100% dos animais avaliados) e edema (35% dos animais avaliados) (acúmulo de líquido) (figura 1).

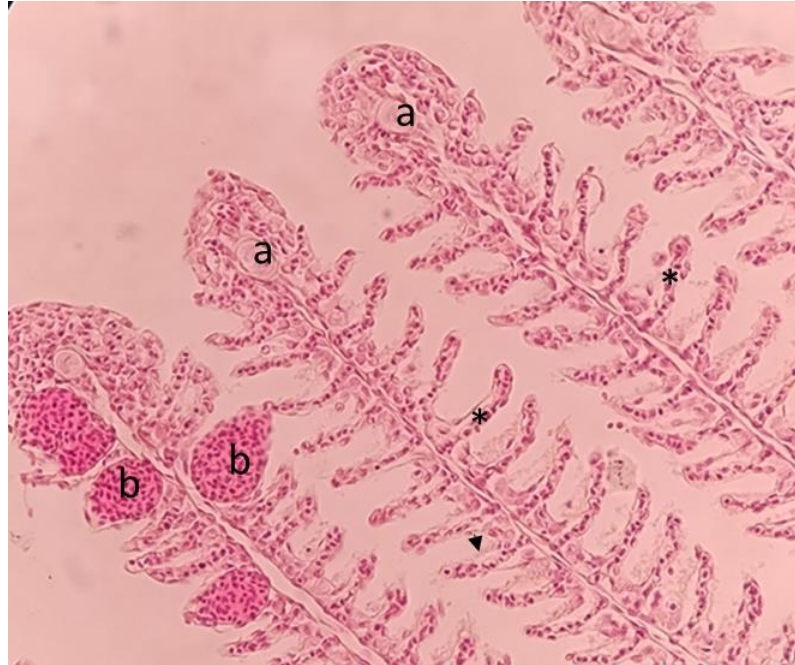


Figura 1: Corte histológico branquial de animal do grupo controle apresenta lamelas primárias (a), lamelas secundárias (asterisco), descolamento epitelial (cabeça de seta) e edema (b). (ampliação de 100X).

Os animais do grupo submetidos ao glifosato apresentaram um padrão semelhante ao controle em relação a estrutura geral e ao descolamento do epitélio das lamelas secundárias (100% dos animais) porém não foram detectados edema (figura 2).

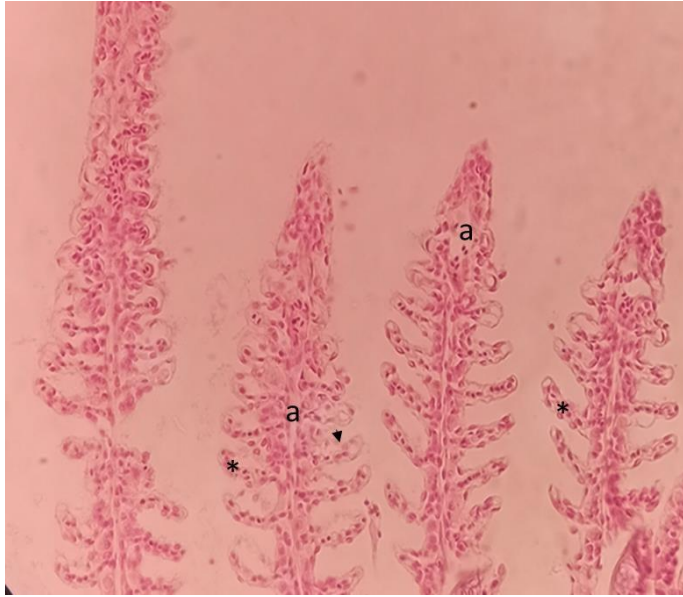
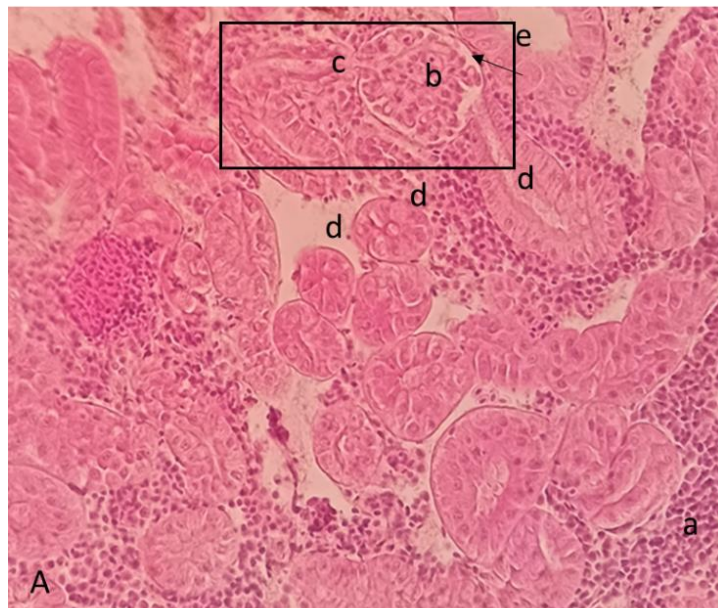


Figura 2: Corte histológico branquial de animal submetido ao glifosato, apresentando lamelas primárias (a), lamelas secundárias (asterisco) e descolamento epitelial (cabeça de seta). (ampliação de 100X).

5.2 Rim

Os animais do grupo controle não apresentaram alterações morfológicas (100% dos animais). Foi observado regiões do néfron representadas por cápsula de Bowman com glomérulo em seu interior, artérias aferentes e eferentes, túbulos proximais e ducto, todos mergulhados em um tecido hematopoiético (figura 3).



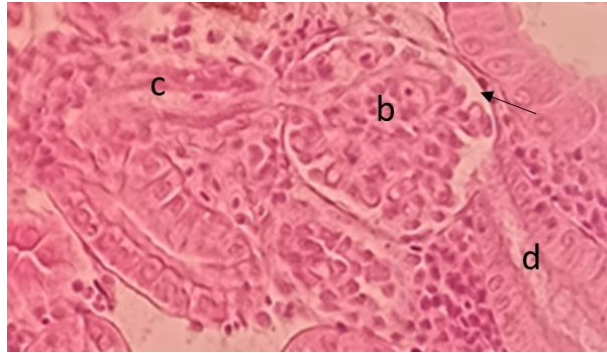


Figura 3: Corte histológico de rim de animal do grupo controle, (A) tecido hematopoiético (a), glomérulo (b), capsula de Bowman (seta), artérias aferentes e eferentes (c), túbulos proximais (d) e ducto (e). (B) ampliação da seleção mostrando glomérulo (b), artéria (c), e o ducto (d). (objetiva de 100X).

Nos animais do grupo submetido ao glifosato foram observadas alterações histológicas, representadas por desestruturação de túbulos proximais (54% dos animais 7 indivíduos), túbulos renais com material celular na luz (38% dos animais), necrose (8% dos animais) e aparente cálculo renal (8%) (figura 4).

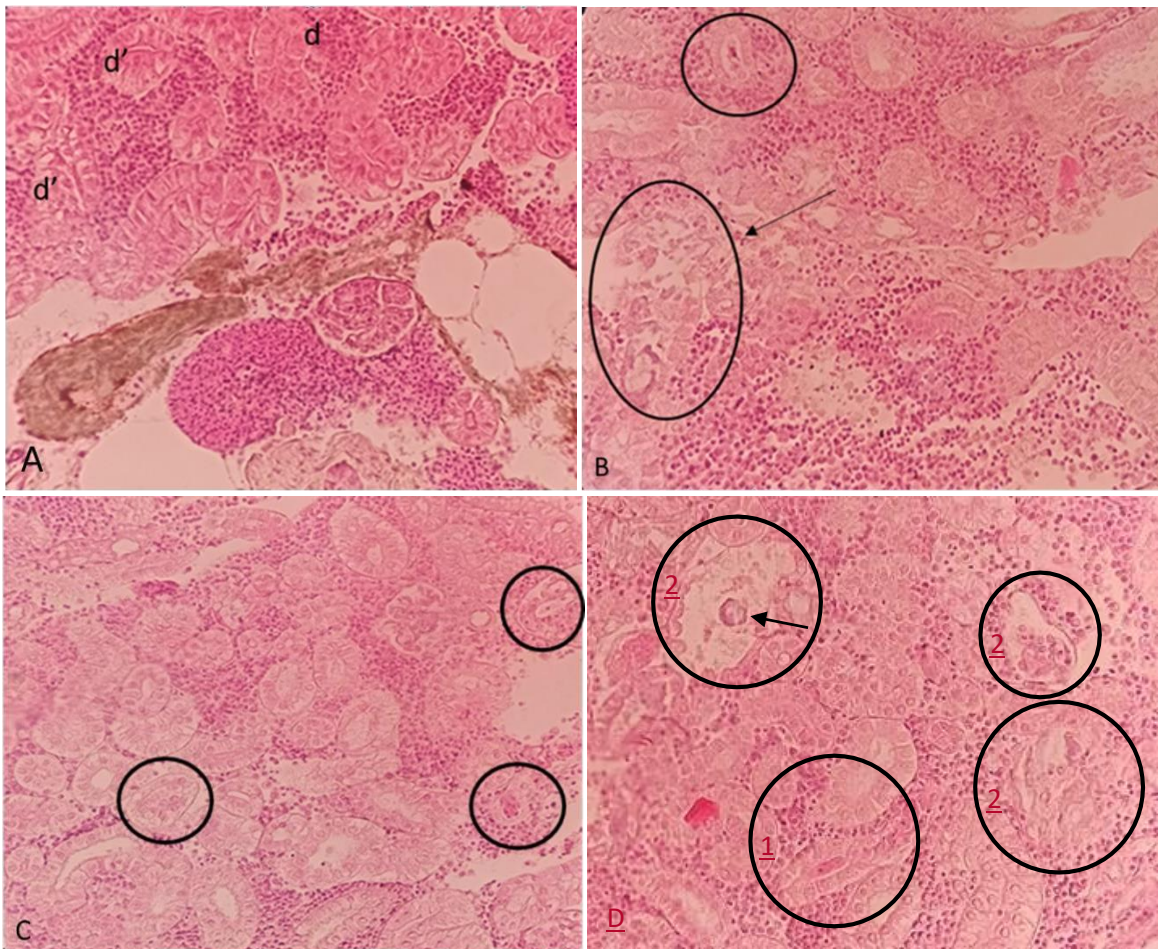


Figura 4: Corte histológico de rim de animais submetidos ao glifosato, (A) apresentando túbulos proximais com padrão normal (d) e túbulos proximais com alguma desestruturação (d'). (B) apresentando material celular corado dentro do túbulo (destaque) e aparente cálculo renal (destaque com flecha). (C) apresentando material celular corado dentro dos túbulos (destaques). (D) apresentando material celular corado dentro do túbulo (destaque 01), tubo com necrose (destaque 2) e aparente cálculo renal (seta) (ampliação de 100X).

5.3 Fígado

Os animais do grupo controle apresentaram padrão histológico hepático de vertebrados, representados por hepatócitos (células parenquimatosas do fígado), sinusoides (capilares hepáticos dilatado) e vaso sanguíneo de grande calibre (figura 5 A). Os hepatócitos do grupo controle apresentaram alguma variação da morfologia celular, aparentemente relacionada a variação de acúmulo lipídico no citoplasma (figuras B, C e D).

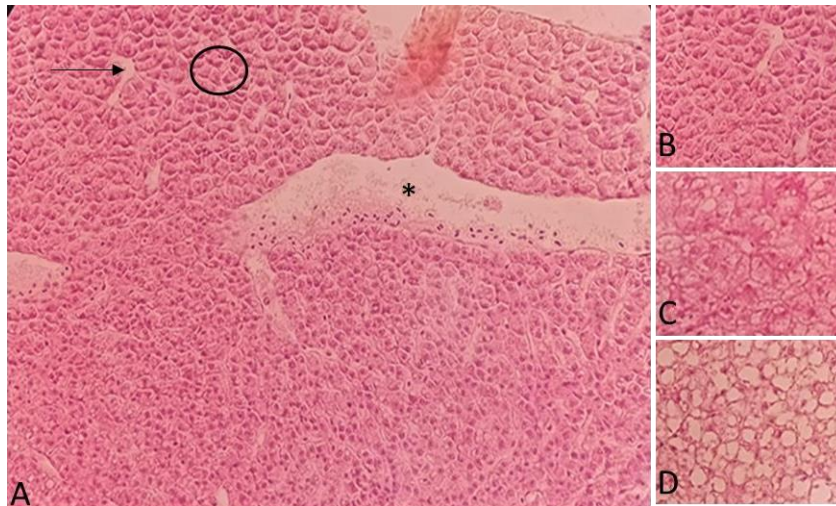


Figura 5: Corte histológico de fígado do grupo controle. (A) hepatócitos (destaque), sinusóide (seta), vaso sanguíneo de grande calibre (asterisco). (B) hepatócitos com baixo acúmulo de lipídio no citoplasma, (C) hepatócitos com acúmulo intermediário de lipídio no citoplasma e (D) hepatócitos com alta quantidade de lipídeos no citoplasma. (ampliação de 100X).

Os animais do grupo submetidos ao glifosato apresentaram um padrão semelhante aos animais do grupo controle, apresentando hepatócitos (células parenquimatosas do fígado), sinusóides, e vaso sanguíneo de grande calibre (figura 6). Assim como apresentam padrões variados de acúmulo de lipídeos no citoplasma dos hepatócitos.

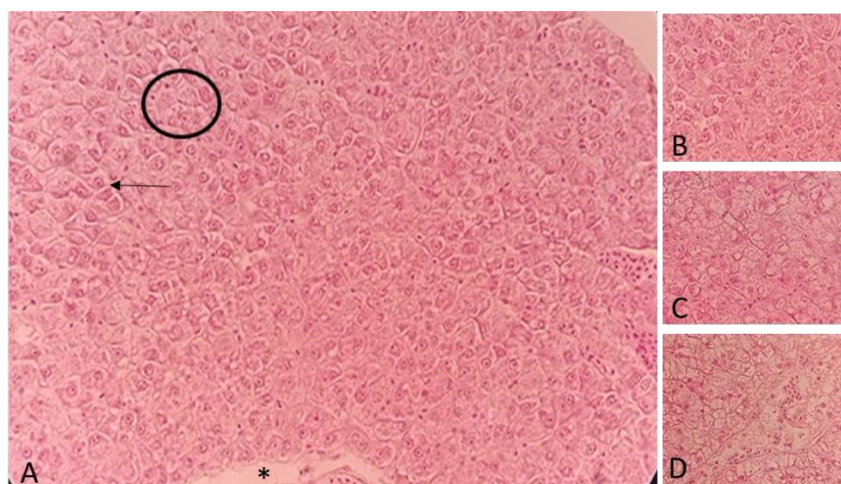


Figura 6: Corte histológico de fígado do grupo submetido ao glifosato. (A) hepatócitos (destaque), sinusóides (seta), vaso sanguíneo de grande calibre (asterisco), (B) hepatócitos com baixo acúmulo de lipídio no citoplasma, (C) hepatócitos com acúmulo intermediário de lipídio no citoplasma e (D) hepatócitos com alta quantidade de lipídeos no citoplasma. (ampliação de 100X).

5.4 Intestino

Os animais do grupo controle apresentaram padrão morfológico de vertebrados, com parede apresentando mucosa, submucosa, muscular e serosa.

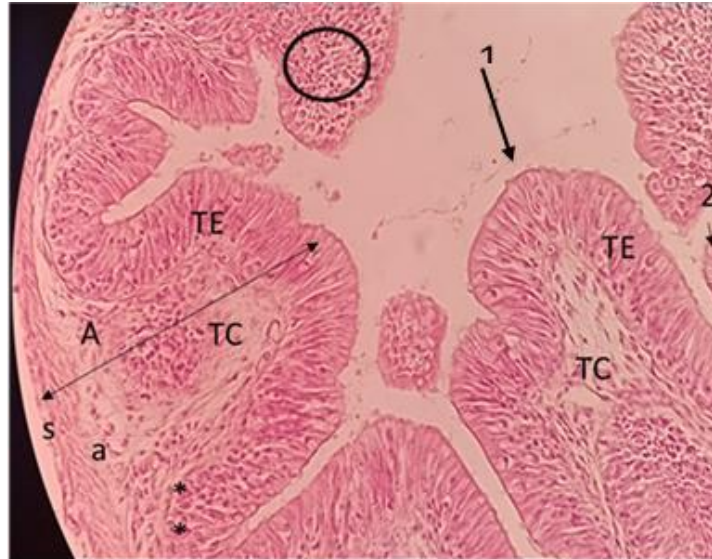


Figura 7: A- Corte histológico do intestino de animal do grupo controle, parede intestinal (seta dupla), apresentando mucosa (asterisco), vilosidades (seta 1), submucosa (a), células de muco (seta 2), enterócitos (círculo), tecido epitelial (TE), tecido conjuntivo (TC), Serosa (s). (Ampliação 100X).

Os animais do grupo submetido ao glifosato apresentaram o mesmo padrão em relação ao grupo controle com mucosa, vilosidades, submucosa, células de muco, enterócitos, tecido epitelial, tecido conjuntivo e a serosa de alterações relacionadas a exposição ao glifosato.

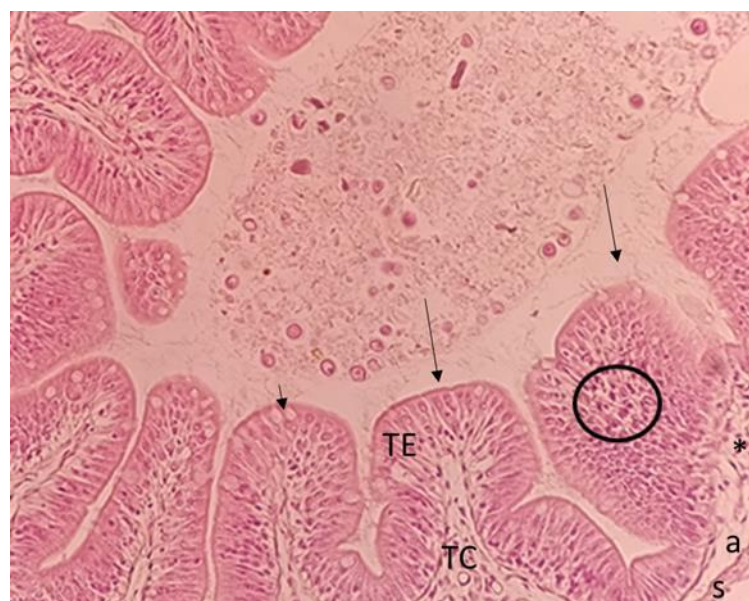


Figura 8: Corte histológico do intestino de animal do grupo submetido ao glifosato,

apresenta mucosa (asterisco), vilosidades (flechas), submucosa (a), células de muco (cabeça da seta), serosa (s), enterócitos (círculo), tecido epitelial (TE), tecido conjuntivo (TC). (ampliação de 100X).

6. DISCUSSÃO

Ensaio toxicológicos geralmente são feitos a curto prazo com exposição aguda, em testes de cronicidade, geralmente são analisados os efeitos em relação a alterações na fecundidade, relações entre idade/tamanho ou a presença de tumores(carcinogenicidade) (NETO, 2018). Nesse trabalho os ensaios foram feitos com concentração baixa a longo prazo de exposição crônica (157 dias) dos parentais ao glifosato, sendo que o objetivo foi identificar se a prole, mesmo livre de glifosato, apresentaria efeitos adversos causados pela exposição dos parentais ao agrotóxico.

Na avaliação das brânquias de animais expostos a glifosato durante o desenvolvimento embrionário, foram observadas alterações morfológicas, incluindo o descolamento do epitélio. Em animais que se desenvolveram em ambientes de controle (sem glifosato), também foi observado o descolamento do epitélio branquial, além de edema. As lesões nas brânquias de lebetes são consistentes com aquelas descritas por outros pesquisadores em peixes submetidos à substâncias químicas (Machado, 1999; Lupi et al., 2007; Laurent & Perry, 1991). Essas alterações no epitélio branquial parecem ser uma resposta comum a diversos agentes tóxicos e podem comprometer a função das brânquias (Nogueira et al., 2008). Embora o descolamento do epitélio reduza a vulnerabilidade da superfície das brânquias, ele pode prejudicar a eficiência das trocas gasosas e do transporte de íons (Mallat, 1985; Winkaler et al., 2001).

O edema, também observado nas brânquias dos animais controle, é caracterizado por um aumento de líquido no sangue. Essa alteração histológica atua como um mecanismo de defesa, diminuindo a área de superfície vulnerável das brânquias e/ou aumentando a barreira de difusão contra o poluente (Karlsson-Norrgren et al., 1985; Erkmen & Kolankaya, 2000). No entanto, essa resposta pode dificultar as trocas gasosas (McDonald & Wood, 1993).

A disfunção das brânquias durante a exposição aguda a poluentes pode levar à morte do peixe (Hinton & Laurén, 1990; Hinton et al., 1992; Thophon et al., 2003). Porém em casos de alterações moderadas a leves nas brânquias, é possível a regeneração e a recuperação de suas funções. Contudo, sem a restauração do ambiente e com a exposição

contínua aos contaminantes, essas alterações podem progredir para condições mais graves (Poleksic & Mitrovic-Tutundzic, 1994).

No estudo em questão, não é possível identificar que as lesões encontradas foram induzidas pela presença do glifosato no ambiente, pois as alterações identificadas como edema foram encontradas apenas no grupo controle e o descolamento do epitélio respiratório ocorreu nos animais dos dois grupos estudados, podendo estar relacionado à artefato de técnica devido a fragilidade deste epitélio respiratório.

Nos animais do grupo submetido ao glifosato durante o desenvolvimento embrionário, o rim foi o órgão que apresentou alterações. Os animais com desenvolvimento embrionário na presença do glifosato, após em ambiente livre de glifosato, apresentaram alterações representadas por desestruturação dos túbulos renais, necrose, material celular no interior dos túbulos e aparente presença de cálculo renal, porém não foi observada variação morfológica nas cápsulas de Bowman. O rim é um órgão que recebe grande quantidade de sangue, a presença de produtos químicos no sangue pode causar condições patológicas da cápsula de Bowman, como proliferação anormal de células epiteliais e espessamento da lâmina basal do glomérulo, resultando em redução do espaço de Bowman (HINTON et al., 1992; TAKASHIMA, HIBIYA, 1995).

A presença de material celular corado dentro dos túbulos renais são, resultado de uma ruptura do néfron (Cormier et al., 1995) e podem obstruir a passagem da luz tubular, enquanto o aumento no volume das células endoteliais pode estreitar a luz tubular (Takashima & Hibiya, 1995). Essas alterações comprometem tanto a filtração quanto os processos de reabsorção e secreção tubular (Meyers & Hendricks, 1985). A maioria das mudanças ocorre nas células epiteliais, muitas das quais degeneram e podem eventualmente necrosar. Estudos revelaram que a degeneração granular seguida por degeneração hialina é comum, frequentemente acompanhada de necrose das células epiteliais dos túbulos em peixes (Kiryu & Moffitt, 2001). Túbulos renais danificados podem ser regenerados, um fenômeno frequentemente observado em peixes como indicador de adaptação e recuperação (Takashima & Hibiya, 1995; Hinton & Laurén, 1990).

Modificado a partir de Panetto 2019, resultados de estudos de exposição de peixes ao glifosato demonstram que o composto apresenta toxicidade a estes animais. Em estudo de avaliação de toxicidade do herbicida glifosato nas concentrações de 65 µg/L e 120 µg/L,

nos ovários do peixe *D. rerio*, que ficaram expostos nessas concentrações por 15 dias foi observado aumento da frequência de micronúcleos e IGS (Índice Gonadossomático e massa corporal). Portanto concluiu-se que o glifosato tem um potencial genotóxico em ambas as concentrações e pode causar danos a reprodução dos peixes (DA SILVA, 2019). AMES, 2021, analisando efeito do glifosato em embriões de peixe *D. rerio* (Hamilton 1822) indicaram aumento da mortalidade, malformações, alterações na eclosão e na frequência cardíaca nas fases embrionária e larval. Além disso, também indicaram danos bioquímicos e comportamentais na fase adulta. Outro estudo investigou os efeitos do Roundup® na CL50 (concentração letal para 50% dos embriões), morfológicos e no metabolismo energético durante a embriogênese do peixe-zebra *D. rerio*. Os embriões expostos apresentaram a CL50 de 25 mg/L. Foi verificada a alteração morfológica na bexiga natatória de embriões Os resultados bioquímicos, incluindo as dosagens de proteínas totais e glicose, não apresentaram efeitos significativos. No entanto, a dosagem da atividade da enzima hexoquinase mostrou uma diferença significativa nos embriões expostos às concentrações de 5 mg/L e 15 mg/L em comparação com o grupo controle. (PANETTO, 2019).

Os resultados aqui demonstrados indicaram que há um efeito diferenciado nos órgãos avaliados, apesar de não ocorrer efeito morfológico nas brânquias, fígado e intestino, foi possível observar efeitos morfológicos nos rins dos juvenis em que os parentais foram expostos ao glifosato, mesmo após 30 dias em ambiente livre de glifosato. Este resultado pode estar relacionado a diferenças nas taxas de contato com as moléculas tóxicas e/ou de regeneração dos tecidos que compõem cada um dos órgãos. Os órgãos brânquias e intestino são frequentemente afetados diretamente por agentes agressores solúveis na água, já o fígado é suscetível aos compostos absorvidos da água por ser o principal órgão relacionado a detoxificação do organismo, acumulando substâncias tóxicas durante este processo. Aliado a estas condições, estes tecidos também apresentam alto nível de regeneração celular. As brânquias (Das & Mukherjee, 2003; Venturini et al., 2015; Cardoso et al., 2020; Silva et al., 2021), o intestino (MAIORKA et al., 2002) e o fígado (Gressner; Gao, 2014) são conhecidos por apresentar uma alta taxa de renovação celular. É possível que mesmo tendo sido afetados pela exposição dos parentais ao glifosato, incluindo o período de desenvolvimento embrionário, o período de 30 dias livre de glifosato foi suficiente para recuperação dos danos teciduais que poderiam ter ocorrido.

O rim, órgão que pode ser afetado por substâncias tóxicas não metabolizadas, ou por metabólitos tóxicos que seriam acumulados no rim durante o processo de excreção, apesar de apresentar capacidade de regeneração (Takashima & Hibiya, 1995), apresentou

sinais de lesão tecidual após este período, indicando que sua capacidade de regeneração não foi suficiente para recompor a estrutura tecidual no período do ensaio. Disfunções durante essas etapas de desenvolvimento podem afetar o crescimento e o desenvolvimento de doenças em fases posteriores da vida da prole, influenciando também a padronização da vascularização dos órgãos durante a organogênese, o que por sua vez pode afetar o transporte de nutrientes pelo sangue ou sinalizações hormonais (Waterland & Garza, 1999). Como o período embrionário está relacionado ao desenvolvimento da estrutura do organismo, estes efeitos observados no rim dos juvenis de *P. reticulata*, após 30 dias em ambiente livre de glifosato, poderiam indicar que o funcionamento do órgão foi afetado de maneira permanente.

A análise morfológica do fígado não apresentou alterações histológicas devido à presença de glifosato, mantendo um padrão normal. O fígado desempenha funções metabólicas essenciais e atua na desintoxicação de substâncias endógenas e exógenas (Ingawale; Mandlik; Naik, 2014; Malarkey et al., 2005). Sua posição no sistema circulatório é estratégica para a captura, transformação e acúmulo de metabólitos, além de facilitar a neutralização e eliminação de substâncias tóxicas (Junqueira; Carneiro, 2013). Os hepatócitos são fundamentais na detoxificação de substâncias nocivas, processo que gera radicais livres, causando estresse oxidativo e potencialmente levando à necrose celular (Túnez et al., 2005). As células estelares hepáticas (HSCs) têm um papel crucial no desenvolvimento, regeneração e reparação do fígado (Forbes; Parola, 2011). Estas células progenitoras podem se diferenciar em células endoteliais e hepatócitos, auxiliando na regeneração do fígado através da proliferação de hepatócitos e da regulação da angiogênese e do remodelamento vascular. Muitas dessas funções são ativadas por mediadores inflamatórios em resposta a danos hepáticos (Gressner; Gao, 2014).

Os resultados observados nos animais não mostraram alterações morfológicas no intestino, apenas o padrão normal com a mucosa, vilosidades, submucosa, células de muco, enterócitos, tecido epitelial, tecido conjuntivo e a serosa.

A exposição indireta dos animais aos pesticidas requer atenção urgente medidas concretas. As interligações entre a saúde animal, ambiental e humana realçam a importância das estratégias globais para enfrentar os desafios colocados pelos pesticidas e garantir a sustentabilidade e a biodiversidade para as gerações futuras.

7. CONCLUSÃO

A exposição do *P. reticulata* ao glifosato durante o desenvolvimento reprodutivo, incluindo o desenvolvimento embrionário, causou efeitos morfológicos no rim da prole, representados por degeneração tubular, necrose, presença de material celular e aparente formação de cálculo renal no interior dos túbulos renais. Não foram observadas alterações morfológicas nos outros órgãos, eles apresentaram padrão normal a exposição.

Portanto, entender e diminuir os efeitos da exposição de animais aos agrotóxicos é essencial não apenas para a conservação da biodiversidade, mas também para garantir a sustentabilidade dos sistemas agrícolas e a segurança alimentar global. Estratégias de manejo integrado e adoção de práticas agrícolas sustentáveis são fundamentais para reduzir os impactos negativos dos agrotóxicos no meio ambiente e na saúde pública, promovendo um equilíbrio entre a produção agrícola e a preservação ambiental.

8. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AMARANTE JUNIOR, Ozelito Possidônio de; SANTOS, Claudio Sobrinho dos; MONTEIRO, Roberto de Oliveira; et al. Glifosato: propriedades, toxicidade, usos e legislação. **Química Nova**, São Paulo, v. 25, n. 4, p. 589-593, jul./ago. 2002.

AMES, Jaíne. **Efeitos do glifosato sobre o desenvolvimento embrionário, larval e adulto do peixe-zebra (*Danio rerio*)**. 2021. 91 p. Dissertação (Programa de Pós-Graduação em Ciências Biológicas: Bioquímica Toxicológica) - Universidade Federal de Santa Maria, Rio Grande do Sul, 2021.

ANELLI JUNIOR, Luiz Carlos. **Efeitos de diferentes formulações comerciais do herbicida Roundup® sobre a função cardiorespiratória de *matrinxã*, *Brycon amazonicus* (*Teleostei*, *Characidae*)**. 2010. 92 p. Dissertação (Programa de Pós-Graduação em Ciências Fisiológicas) - Universidade Federal de São Carlos, São Paulo, 2010.

ANTUNES, Adriana Maria et al. **Avaliação da exposição aguda e sub-letal ao Glifosato (N-fosfometil-glicina) e ao AMPA (ácido amino-metil-fosfônico) em brânquias e fígado de *Poecilia reticulata* com o emprego de biomarcadores moleculares e morfológicos**. 2013. 67 p. Dissertação (Programa de Pós-Graduação em Biologia) - Universidade Federal de Goiás, Goiás, 2013.

ARENZON, Alexandre et al. A determinação da toxicidade crônica para peixes baseada apenas na sobrevivência é suficiente. **Ecotoxicologia e Contaminação Ambiental**, v. 8, n. 2, p. 65-68, 2013.

ARMILIATO, Neide; et al. Toxicidade celular e bioquímica do glifosato sobre ovários de peixe *Danio rerio*. **Revista Brasileira de Toxicologia**, v. 14, n. 1, p. 45-52, 2014.

BASTOS, Denise Nascimento de; et al. Toxicidade do herbicida Glifosato em *Daphnia magna* e pós-larvas de *Rhamdia quelen*. **Revista Brasileira de Toxicologia**, v. 15, n. 2, p. 123-135, 2013.

BRAIBANTE, Mara Elisa Fortes; ZAPPE, Janessa Aline. A química dos agrotóxicos. **Química Nova na Escola**, v. 34, n. 1, p. 10-15, 2012.

BRAZ, Jaqueline Murbach; et al. Prebióticos, probióticos e simbióticos em dietas de juvenis de tilápias-do-Nilo. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 51, p. e20210016, 2022.

BRITO, Luciana Tendolini. **Análise de brânquias de peixes expostos às águas de ambiente lêntico**. 2009. 43 p. Dissertação (Trabalho de Conclusão de Curso) - Universidade Estadual Paulista, Rio Claro, 2009.

CAMPOS, Vanessa Ellen Wendt. **Análise do fígado de peixes da espécie *Prochilodus lineatus* de ambientes alterados, quantificada pelo Image J**. 2017. 38 p. Dissertação (Trabalho de Conclusão de Curso) - Universidade Estadual Paulista, Rio Claro, 2017.

CONTE, Aline Mocellin. **O impacto na saúde e no meio ambiente com o uso excessivo de agrotóxicos: uma revisão com ênfase ao Glifosato**. 2023. 85 f. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Biologia) – Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2023.

COSTA, Gerlane de Medeiros; et al. Estrutura morfológica do fígado de tambaqui *Colossoma macropomum* (Cuvier, 1818). **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 32, p. 947-950, 2012.

COUTINHO, Cláudia FB; et al. Pesticidas: mecanismo de ação, degradação e toxidez. **Pesticidas: Revista de Ecotoxicologia e Meio Ambiente**, v. 15, 2005.

DA SILVA, Tainan Filipe; BARP, Elisete Ana; ARMILIATO, Neide. Avaliação da toxicidade celular do glifosato sobre as gônadas de *Danio rerio* (Cyprinidae). **Saúde e Meio Ambiente: Revista Interdisciplinar**, v. 6, n. 1, p. 85-95, 2019.

DAVICO, Carla Eliana et al. **Hepatotoxicidade do herbicida à base de glifosato, utilizando *Danio rerio* como modelo experimental**. 2021. 120 f. Dissertação (Mestrado em Biologia Celular e do Desenvolvimento) - Universidade Federal de Santa Catarina, Programa de Pós-Graduação em Biologia Celular e do Desenvolvimento, Florianópolis.

DE FARIA, Vanessa Heloisa Ferreira. **Glifosato: desenvolvimento de metodologia para determinação em soja e milho e avaliação de parâmetros laboratoriais em trabalhadores expostos a agrotóxicos**. 2013. 130 p. Dissertação (Programa de Pós-Graduação em Ciência Farmacêuticas) - Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, MG, 2013.

DE OLIVEIRA, Suelen Rosana Sampaio; et al. Lesões histopatológicas como biomarcadores de contaminação aquática em *Oreochromis niloticus* (*Osteichthyes, Cichlidae*) de uma área protegida no Maranhão. **Revista Brasileira de Engenharia de Pesca**, v. 9, n. 1, p. 12-26, 2016.

DO CARMO LANGIANO, Vivian. **Toxicidade do Roundup® e seus efeitos para o peixe neotropical *Prochilodus lineatus***. 2006. 72 p. Dissertação (Mestrado em Ciências Biológicas) - Universidade Estadual de Londrina, Londrina, 2006.

DO NASCIMENTO, Ana Paula; et al. Estudo da toxicidade crônica do herbicida glifosato para as sementes de salsa, alface e coentro. **Revista Brasileira de Engenharia de Biosistemas**, v. 3, n. 2, p. 149-160, 2009.

DOS SANTOS, Ana Paula Rezende; ROCHA, Thiago Lopes; NEVES, Joana Cristina. **Análise histológica da hepatotoxicidade do herbicida Roundup Transorb® em *Poecilia reticulata* sob diversos tempos de exposição**.

FARIA, Joana Cristina Neves de Menezes; et al. **Avaliação histopatológica, histoquímica e morfométrica dos efeitos da toxicidade aguda do herbicida Roundup® nas brânquias e no fígado do peixe *Poecilia vivipara***. 2009.

FAVERO, Silvio; DE SOUZA, Elizabeth Marmo; MATIAS, Rosemary. Ecotoxicidade do paration metílico e glifosato para *Poecilia reticulata* (PISCES: POECILIIDAE) em laboratório. **Ensaio e Ciência: Ciências Biológicas, Agrárias e da Saúde**, v. 9, n. 2, p. 315-324, 2005.

FERREIRA, Daiane et al. **Parâmetros de estresse oxidativo e estudo de lesões histopatológicas em jundiás (*Rhamdia quelen*) expostos a agroquímicos**. 2010. 55 p.

Dissertação (Mestrado em Farmacologia) - Programa de Pós-Graduação em Farmacologia, Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, RS.

GONÇALVES, Bruno Bastos. **Efeitos de herbicida à base de glifosato em aspectos reprodutivos de guppies (*Poecilia reticulata*)**. 2016.

HESS, Sonia Corina; NODARI, Rubens O. Agrotóxicos no Brasil: Panorama dos produtos aprovados entre 2019 e 2022. **Ambientes em Movimento**, v. 2, n. 2, 2022.

HONORATO, Cláudia A.; et al. Histologia do fígado de tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*) alimentados com dietas contendo silagem biológica de pescado. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 34, p. 64-68, 2014.

LAMBARIS, Lidiane Cecília Pereira. **Histopatologia branquial em análise da genotoxicidade eritrocitária**. 2024. Tese (Programa de Pós-Graduação em Biologia Animal) – Instituto de Biociências, Universidade Federal de Mato Grosso do Sul, Campo Grande, MS, 2024.

LAMOUNIER, Renato Barbieri; HERNANDEZ, Francisco Javier Blazquez. Análise ultraestrutural da absorção intestinal de macromolécula protéica com o uso de peixe como modelo experimental. **ConScientiae Saúde**, n. 1, p. 21-30, 2002.

LIMA, Luanny Santos; DE AQUINO SILVA, Juliana Milan; DE ARAÚJO SANTOS, Francisco Glauco. Análise histopatológica de brânquias de peixes de cultivo, oriundos de pisciculturas do município de Rio Branco–Acre. **Revista Conexão na Amazônia**, v. 3, n. Edição especial, p. 270-290, 2022.

LOPES, Carla Vanessa Alves; ALBUQUERQUE, Guilherme Souza Cavalcanti de. Agrotóxicos e seus impactos na saúde humana e ambiental: uma revisão sistemática. **Saúde em Debate**, v. 42, p. 518-534, 2018.

LORENSI, Cristhian; JESSE, Cristiano Ricardo; RUFF, Jossana Rodrigues. Glifosato: uma revisão da toxicidade em peixes. **Anais do Salão Internacional de Ensino, Pesquisa e Extensão**, v. 9, n. 2, 2017.

MACHADO, Bettina Rodrigues; CERQUEIRA, V. S. **Avaliação da toxicidade ambiental do agrotóxico Glifosato em solo utilizando como bioindicador minhocas da espécie *Eisenia andrei***. Pelotas: Engenharia Ambiental e Sanitária/UFPel, 2016.

MACHADO, Marcelo Rubens. Uso de brânquias de peixes como indicadores de qualidade das águas. **Journal of Health Sciences**, v. 1, n. 1, 1999.

MARTINS, Larissa Parreira Alves. **Toxicidade e alterações hematológicas, morfofuncionais, bioquímicas e genéticas em curimatás, *Prochilodus lineatus*, (*Teleostei, Prochilodontidae*) expostos ao fenantreno**. 2012. Tese (Doutorado) – Universidade Federal de São Carlos, São Carlos, SP, 2012.

MARTINS, Nathan Dias. **Efeitos da microcistina-LR (*Microcystis aeruginosa*) sobre parâmetros cardio-respiratórios de tilápia-do-nilo (*Oreochromis niloticus*)**. 2010. 54 f. Dissertação (Mestrado em Ciências Fisiológicas) – Universidade Federal de São Carlos, São Carlos, 2010.

MELLO, Hurzana de. **Bacillus cereus e Bacillus subtilis na suplementação dietária de juvenis de Tilápias-do-Nilo (*Oreochromis niloticus*) e seu efeito probiótico.** 2012. xiii, 44 f. Dissertação (mestrado) - Universidade Estadual Paulista, Centro de Aquicultura, 2012.

MENNA, Bruno Losi et al. **Efeito do herbicida à base de glifosato sobre a morfologia e morfometria das brânquias do peixe zebra *Danio rerio*.** 2021. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Ciências Biológicas) - Universidade Federal de Santa Catarina, Santa Catarina.

MORO, Giovanni Vitti et al. **Anatomia e fisiologia de peixes de água doce.** In: TÉCNICOS. Piscicultura de água doce: multiplicando conhecimentos. Brasília-DF: Embrapa, 2013. p. 71-95.

MOTTER, M. D. S. et al. **Índice mitótico em células epiteliais da brânquia de Guaru (*Poecilia vivipara*) tratados com frações da casca do caule e da folha de pequi (*Caryocar brasiliensis*).** *Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science*, v. 41, p. 221-227, 2004.

NUTRIAQUA. **Nutrição e alimentação de espécies de interesse para a aquicultura brasileira.** Disponível em: <https://pt.scribd.com/document/445022199/NUTRIAQUA-Nutricao-e-alimentacao-de-especies-de-interesse-para-a-aquicultura-brasileira-pdf>.

Acesso em: 4 jul. 2024.

OLIVEIRA, Breno Raul Freitas et al. **Efeitos do herbicida ácido 2,4-Diclorofenoxiacético sobre a morfologia das brânquias e parâmetros comportamentais em peixes-zebra *Danio rerio* adultos.** 2020. Dissertação (Mestrado em Biologia Celular e do Desenvolvimento) – Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2020.

PANETTO, Ottassano de Souza; GOMES, Daniele da Silva Fraga; FERNANDES, Helga. **Os efeitos do Roundup® no desenvolvimento embrionário e metabolismo energético do peixe zebra (*Danio rerio*).** Palmas/TO – Brasil, 2019.

PEREIRA, Dayane Pestana et al. **Alterações morfológicas em brânquias de *Oreochromis niloticus* (*Pisces, cichlidae*) como biomarcadores de poluição aquática na Laguna da Jansen, São Luís-MA (Brasil).** *Bioscience Journal*, v. 30, n. 4, p. 1213-1221, 2014.

PIRES, Fernando Santiago. **Disrupção endócrina em testículos de *Poecilia reticulata* causada pelo herbicida Glifosato.** 2013. Dissertação (Mestrado em Biologia) – Universidade Federal de Goiás, Goiânia, 2013.

PIZA JR, S. **Em torno da vida dos peixes.** Anais da Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, v. 9, p. 215-244, 1952.

PORTELA, Tânia Cristina Lima. **Aspectos morfológicos e moleculares do modelo experimental da tioacetamida no estudo da hepatocarcinogênese.** 2015. Tese de Doutorado - Universidade de São Paulo.

QUINTANEIRO, Carla et al. **Desenvolvimento embrionário do peixe-zebra.** 2022. Universidade de Aveiro, Campus, Portugal. V, 11 art 8.

REBESSI, Ana Cláudia et al. **Estudo da toxicidade crônica do herbicida glifosato em sementes de milho, quiabo e rúcula.** 2011. *Engenharia Ambiental: Pesquisa e Tecnologia*, vol. 8, n. 2, 2011.

ROCHA, JC da et al. **A reprodução da pescada-branca *Plagioscion squamosissimus* (Heckel, 1840) (Perciformes: Sciaenidae) no reservatório da usina hidrelétrica de Tucuruí (Pará-Brasil).** *Boletim Técnico Científico Cepnor*, v. 6, n. 1, p. 49-60, 2006.

RODRIGUES, Francisco Adelvane de Paulo et al. **Fisiologia da barreira epitelial intestinal.** In: **SISTEMA Digestório: Integração Básico-Clínica.** Blucher Open Access, 2017. p. 441-478.

SANCHEZ, Jessica Andrea Albañil et al. **Efeitos comparativos de herbicidas à base de glifosato sobre parâmetros oxidativos e qualidade espermática no peixe estuarino *Jenynsia multidentata*.** *Jenynsia multidentata*, v. 63, 2015. Dissertação (Mestrado em Biologia de Ambientes Aquáticos Continentais) – Universidade Federal do Rio Grande, Rio Grande, 2015.

SANTOS, Analia Cristina Bento. **Efeitos da contaminação por glifosato em duas gerações do peixe *Poecilia reticulata*: sistema de defesa antioxidante, biotransformação de xenobióticos, colinesterase e metabolismo de aminoácidos.** In: Jornada de Iniciação Científica e Tecnológica, Universidade Federal da Fronteira Sul, Laranjeiras do Sul, 2021, p. 4.

SANTOS, Anália Cristina Bento. **Efeitos da exposição crônica por herbicida à base de glifosato em peixe *Poecilia reticulata* (Peter, 1859), com ênfase em mortalidade e marcadores bioquímicos.** 2022. Trabalho de Conclusão de Curso - Universidade Federal da Fronteira Sul, Laranjeiras do Sul, 2022.

SARMENTO, Isabele Bringhenti et al. **A ingestão precoce de dieta enriquecida com óleo de peixe reverte alterações bioquímicas, hepáticas e do tecido adiposo na prole de camundongos submetidos à restrição proteica.** 2010. Dissertação (Programa de Pós-Graduação em Biologia Humana e Experimental) – Universidade do Estado do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2010.

SHIOGIRI, Natália Sayuri. **Toxicidade e alterações morfofuncionais em Pacu (*Piaractus mesopotamicus*) exposto ao herbicida Roundup Ready.** 2011. Dissertação (Programa de Pós-Graduação em Ecologia e Recursos Naturais) – Universidade Federal de São Carlos, São Carlos, SP, 2011.

SILVA, Larissa Nayara Lima et al. **Revisão sistemática: toxicidade do herbicida glifosato com contaminação in vivo em peixes.** *Research, Society and Development*, v. 9, n. 9, p. e98996711-e98996711, 2020.

SILVA, Mariana Fedocci. **Análise histopatológica de fígado de tilápias (*Oreochromis Niloticus*) expostas ao herbicida 2,4-D comercial.** 2015. Trabalho de Conclusão de Curso - Universidade Estadual Paulista, Rio Claro, 2015.

