

Toxicidade aguda do herbicida roundup® para piaçu (*Leporinus macrocephalus*).

Acute toxicity of the herbicide roundup® for piaçu ("Leporinus macrocephalus").

ALBINATI, A. C. L.^{1*}; MOREIRA, E. L. T.²; ALBINATI, R. C. B.³; CARVALHO, J. V.⁴;
SANTOS, G. B.⁴; LIRA, A. D.⁴

1.– Mestranda – UFBA – Mestrado em Medicina Veterinária Tropical

2.– Professor adjunto II– UFBA – Departamento de Patologia e Clínicas

3.–Professor adjunto IV – UFBA

4.– Estudante de Medicina Veterinária –UFBA e participante do Grupo de Estudos em Aqüicultura UFBA/CNPq

*Endereço para correspondência: catialbinati@gmail.com

RESUMO

O Roundup® (glifosato) é um herbicida amplamente utilizado tanto em áreas agrícolas como não agrícolas em todo o mundo. A exposição ambiental pode ocorrer por causa da deposição devido à deriva e lançamento acidental. O presente estudo foi realizado com o objetivo de avaliar a toxicidade aguda do herbicida Roundup® sobre juvenis de piaçu (*Leporinus macrocephalus*), identificando a CL₅₀ para a espécie e avaliando alterações hepáticas em peixes expostos a doses abaixo da CL₅₀ do Roundup® por 96 horas. As concentrações testadas foram: 6,67; 13,33; 20,00; 26,67; e 33,33 ppm do Roundup®. A CL₅₀ do Roundup para piaçus foi de 15,8 ppm do produto comercial, sendo considerado pouco tóxico de acordo com a classificação do IBAMA. No entanto, mesmo em concentrações abaixo da CL₅₀, o herbicida foi capaz de causar danos ao fígado dos peixes expostos.

Palavras-chave: CL₅₀, glifosato, histopatologia-peixe.

INTRODUÇÃO

Existem centenas, talvez milhares, de poluentes que afetam o ambiente aquático e cujos efeitos são preocupantes. Esse número cresce anualmente, considerando-se que novos compostos e formulações são sintetizados. A poluição aquática está

SUMMARY

Roundup® (glyphosate) is a widely used herbicide such for agricultural areas as for not agricultural in the whole world. Ambient exposition can occur because of the deposition due to drift and accidental launching. The present study aimed to evaluate acute toxicity of the herbicide Roundup® to juveniles piaçu (*Leporinus macrocephalus*), and identify the CL₅₀ for the species and evaluate hepatic changes in exposed fish to doses below of the CL₅₀ of Roundup® for 96 hours. Tested concentrations were: 6.67; 13.33; 20.00; 26.67; and 33.33 ppm of the Roundup®. The CL₅₀ of the Roundup for piaçu was 15.8 ppm of the commercial product, being considered little toxic according to IBAMA classification. However, even with concentrations below of the CL₅₀, the herbicide was able to cause damages to the liver of the exposed fish.

Key-words: fish-histopathology, glyphosate, LC₅₀.

comumente associada a descarga de efluentes domésticos, industriais ou agrícolas. Em áreas agrícolas, a lixiviação de águas superficiais e a infiltração da água intersticial em rios e lagos podem introduzir nutrientes (a partir de

fertilizantes) e agrotóxicos, em quantidades substanciais, nesses corpos d'água (MARTINEZ; CÓLUS, 2002).

O glifosato é um herbicida pós-emergente, orgânico e não-seletivo que é usado tanto em áreas agrícolas como não-agrícolas em todo o mundo. Embora seja aplicado em várias culturas, em diferentes formulações comerciais, sua principal formulação é o Roundup®, da indústria Monsanto. A exposição ambiental pode ocorrer por causa da deposição devido à deriva e lançamento acidental (WHO, 1994). Na agricultura são amplamente utilizados em culturas geneticamente modificadas tolerantes ao glifosato e também em jardins, quintais e outras áreas não-agrícolas (COX, 2004). Com a implementação dos transgênicos, resistentes a herbicidas, o glifosato tornou-se produto imprescindível à agricultura, tendo seu consumo aumentado significativamente (CUNHA, 2005).

Os testes de toxicidade possibilitam estabelecer limites permissíveis para várias substâncias químicas, além de avaliar em o impacto de misturas de poluentes sobre os organismos aquáticos dos corpos hídricos receptores (BERTOLETTI, 1990). Segundo Lombardi, (2004) os testes de toxicidade aguda são experimentos de curta duração, que proporcionam rápidas respostas em estudos sobre efeitos tóxicos letais, em que o objetivo é determinar a Concentração Letal Média (CL₅₀) de uma certa substância, sobre os organismos aquáticos, em um tempo de 24 a 96 horas de exposição.

Muitas vezes, mesmo em concentrações aquáticas não letais, os agrotóxicos afetam a estrutura e a função das comunidades naturais. No ambiente aquático, os agrotóxicos provocam impactos em múltiplos níveis, incluindo moléculas, tecidos, órgãos, indivíduos, populações e comunidades (GRISOLIA, 2005). Peixes são relativamente sensíveis a mudanças no

ambiente e efeitos tóxicos de poluentes podem ser evidentes em nível celular e tecidual, antes que mudanças significativas no comportamento ou na aparência externa possam ser identificadas (van DYK, 2005). Os hepatócitos podem ser considerados alvos primários de agentes tóxicos, o que lhes confere adequação como biomarcadores de poluição ambiental (BRAUNBECK, 1998).

Neste trabalho, optou-se por utilizar o Roundup®, principal formulação comercial à base de glifosato (WHO, 1994; GRISOLIA, 2005), pois na agricultura são utilizadas formulações comerciais e não os ingredientes ativos.

No Brasil, a literatura pertinente a estudos de toxicidade do Roundup® com espécies nativas é ainda incipiente, merecendo destaque trabalhos com o tambaqui (MIYAZAKI et al., 2004), o jundiá (RIGOLIN-SÁ, 1999; SILVA et al., 2004) e o curimatá (LANGIANO, 2006). O piauçu (*Leporinus macrocephalus*) é uma das espécies nativas de peixe de água doce mais cultivadas no país (MARTINS; YOSHITOSHI, 2003; TATAJE; ZANIBONI FILHO, 2005).

O presente estudo foi realizado com o objetivo de avaliar a toxicidade aguda do herbicida Roundup® sobre o piauçu (*Leporinus macrocephalus*), identificando a CL₅₀ para a espécie e avaliando alterações histológicas no fígado dos animais sobreviventes.

MATERIAL E MÉTODOS

Animais

O experimento foi realizado com juvenis de piauçu (*Leporinus macrocephalus*) adquiridos de uma fazenda comercial no estado de Mato Grosso do Sul. Foi utilizado um total de 90 peixes com pesos médios de 2,0 ± 0,2 g e 5,0 ± 0,2 cm de

comprimento total. Os animais foram previamente aclimatados em tanques de amianto com aeração artificial e oferta de ração comercial extrusada com 40% de proteína bruta e 8% de extrato etéreo, três vezes ao dia, por um período de 10 dias antes do início do experimento. A alimentação foi suspensa 24 horas antes do início do experimento, de acordo com as recomendações das normas de ensaio de toxicidade aguda com peixes, da Associação Brasileira de Normas Técnicas – ABNT (ABNT, 1993).

O herbicida

O herbicida utilizado foi o Roundup®, produto comercial à base de glifosato, produzido pela empresa Monsanto e registrado no Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento, sob número 00898793 (AGROFIT, 2006). Na composição, estão presentes 480 g/L de sal de isopropilamina de N-(fosfometil) glicina, 360 g/L de equivalente ácido de N-(fosfometil) glicina (Glifosate) e 684 g/L de ingredientes inertes. É um produto de classe toxicológica IV – pouco tóxico e classe III – perigoso ao meio ambiente.

Qualidade da água

Os parâmetros de qualidade da água, como oxigênio dissolvido, pH, temperatura e condutividade foram medidos antes do início do experimento e a cada 24 horas; a alcalinidade e amônia total foram medidas no início do período experimental. O oxigênio dissolvido foi medido através do medidor de oxigênio dissolvido (Instrutherm MO-880); o pH pelo medidor de pH digital portátil de bolso (Instrutherm pH-1700); a temperatura por meio de termômetro de espeto digital (TE-300); a condutividade pelo condutivímetro de bolso (Instrutherm-CD-840) e a amônia

total e alcalinidade pelo kit colorimétrico (Alfakit).

Delineamento experimental

O experimento foi realizado num período total de 96 horas, com observação e quantificação de mortalidade a cada 24 horas. Para tanto, foram utilizadas 18 caixas plásticas com 15 litros de água declorada, em sistema estático com aeração artificial. Foram utilizadas cinco diferentes concentrações do herbicida e um controle, com três repetições por tratamento. As concentrações utilizadas foram 6,67; 13,33; 20,00; 26,67 e 33,33 ppm do produto comercial Roundup®. Foram utilizados 5 peixes por caixa, perfazendo um total de 15 peixes por tratamento. Ao final do experimento, foram coletados 5 animais de forma aleatória das duas concentrações mais baixas, em que não houve mortalidade total, para análise histológica de fígado. Para tanto, os animais foram anestesiados com benzocaína (100 mg/L) e a eutanásia realizada através de secção medular.

Os procedimentos utilizados nesse experimento estiveram de acordo com os Princípios Éticos na Experimentação Animal, recomendados pelo Colégio Brasileiro de Experimentação Animal (COBEA).

Histologia

Os fragmentos de fígado utilizados para análise histológica foram fixados em alfac (85% álcool a 80%, 10% formol a 40% e 5% de ácido acético) durante aproximadamente 16 horas, sendo, em seguida, a solução substituída por álcool 70%. Seguiu-se o processamento histológico de rotina, utilizando-se como corantes hematoxilina e eosina - HE (LUNA, 1968). Os cortes foram analisados em microscópio de luz e, após análise das lâminas, as alterações encontradas foram

registradas, fotografadas e classificadas individualmente de acordo com o grau de frequência da lesão no tecido. Nesse contexto, foi utilizada a seguinte pontuação por lâmina: 0 - nenhuma alteração observada; 1- alteração discreta; 2- alteração moderada e 3- alteração intensa. Com esses valores de pontuação foi calculada uma média do grau de alteração para cada grupo, sendo classificados em discreto (0,1 a 1,0), moderado (1,1 a 2,0) e intenso (2,1 a 3,0).

Estatística

Para a determinação da CL_{50} , os dados de mortalidade observados foram avaliados com o programa estatístico Trimed Sperman Karber (HAMILTON *et al.*, 1977). Na análise das alterações histológicas foi utilizado o teste não-paramétrico de Kruskal-Wallis, seguido do teste de Dunn, quando aplicável, sendo considerados significantes os valores de $P \leq 0,05$.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

A qualidade da água avaliada durante o período experimental não diferiu entre os dias nem entre os diferentes tratamentos, mantendo-se em média com $7,6 \pm 0,2$ mg/L de oxigênio dissolvido, $0,29 \pm 0,0$ mS/cm de condutividade, pH de $8,0 \pm 0,1$ e uma temperatura média de $28,1 \pm 0,1^\circ\text{C}$. A amônia total mostrou-se inferior a $0,5 \pm 0,0$ mg/L e a alcalinidade em torno de $30 \pm 0,1$ mg/L. Esses resultados encontram-se dentro da faixa determinada como adequada para peixes de água doce (OSTRENSKY; BOEGER, 1998; MOREIRA *et al.*, 2001; ARANA, 2004).

Em estudos realizados por Folmar *et al.*, (1979), o Roundup® foi mais tóxico para truta e bluegill nos testes com temperaturas mais elevadas e no pH 7,5, em comparação com pH 6,5. O aumento da toxicidade não foi observado com pH 8,5 ou 9,5. De acordo com essas observações, nota-se que o presente trabalho foi realizado em condições ideais para avaliação de toxicidade.

O valor de CL_{50} 96 horas do Roundup® para piaçu, encontrado neste trabalho foi de 15,18 ppm. A Tabela 1 apresenta os valores de CL_{50} calculados em ppm do produto comercial total em 24, 48, 72 e 96 horas e seus limites de confiança.

Tabela 1. CL_{50} do Roundup® para piaçus

CL_{50}	ppm de Roundup®
24 horas	15,74 (14,67 – 16,89)
48 horas	15,18 (13,78 - 16,71)
72 horas	15,18 (13,78 - 16,71)
96 horas	15,18 (13,78 - 16,71)

CL_{50} (limite inferior - limite superior)

Mitchell *et al.*, (1987) encontraram em salmonídeos, CL_{50} 96 horas para o Roundup® que variaram de 15 mg/l a 26 mg/l, podendo ser considerados ligeiramente tóxicos, de acordo com a U.S. Fish and Wildlife Service. De acordo com

essa classificação, o Roundup® também seria considerado ligeiramente tóxico para piaçus. Porém, de acordo com a classificação dos agrotóxicos, segundo a CL_{50} estabelecida pelo IBAMA em 1990

(MACHADO, 1999), o Roundup® pode ser considerado pouco tóxico para piaçuçus. A maioria dos estudos de toxicidade aguda com o glifosato refere-se a espécies de clima temperado, poucos foram encontrados em espécies de clima tropical. Ensaio com espécies nativas do Brasil foram realizados por Langiano (2006), com o curimatá, Miyazaki, *et al.* (2004), com o tambaqui, Silva, *et al.* (2004), com o jundiá (*Rhamdia quelen*), e por Rigolin-Sá (1999), com o jundiá (*Rhamdia hilarii*). A Tabela 2 apresenta diferentes relatos de toxicidade aguda com o Roundup® em diferentes espécies. Os resultados encontrados não diferem muito entre si, estando todos dentro da faixa descrita

como pouco tóxicos, de acordo com a classificação dos agrotóxicos segundo a CL₅₀ estabelecida pelo IBAMA em 1990 (MACHADO, 1999).

A CL₅₀ encontrada para piaçuçus neste experimento demonstra uma maior sensibilidade dessa espécie, em relação a outras espécies tropicais como o tambaqui e o híbrido tambacu, (MIYAZAKI *et al.*, 2004) e uma menor sensibilidade, quando comparado com o jundiá (RIGOLIN-SÁ, 1999; SILVA, *et al.*, 2004) e curimatá (LANGIANO, 2006) (Tabela 2).

Tabela 2. CL₅₀ Roundup® para diferentes espécies de peixes dulcícolas

Espécie	CL ₅₀ (96h) Roundup®	Autor
Piaçuçu (<i>Leporinus macrocephalus</i>)	15,18 ppm	Presente trabalho
Curimatá (<i>Prochilodus lineatus</i>)	13,69 ppm	Langiano (2006)
Tambaqui (<i>Colossoma macropomum</i>)	19,94 mg/l	Miyazaki <i>et al.</i> (2004)
Tambacu (<i>C. Macropomum X Piaractus mesopotamicus</i>)	24,90 mg/l	Miyazaki <i>et al.</i> (2004)
Jundiá (<i>Rhamdia quelen</i>)	10 mg/l	Silva, <i>et al.</i> (2004)
Jundiá (<i>Rhamdia hilarii</i>)	10,6 mg/l	Rigolin-Sá (1999)
Bagre do canal (<i>Ictalurus punctatus</i>)	14,5 mg/l	Abdelghani <i>et al.</i> (1997)
Bluegill sunfish (<i>Lepomis macrochirus</i>)	13 mg/l	Abdelghani <i>et al.</i> (1997)
Tilapia do Nilo jovem (<i>Oreochromis niloticus</i>)	16,8 ppm	Jiraungkoorskul, <i>et al.</i> (2002)
Tilapia do Nilo adulta (<i>Oreochromis niloticus</i>)	36,8 ppm	Jiraungkoorskul, <i>et al.</i> (2002)
<i>C. auratus</i>	25,605 mg/l	Antón, <i>et al.</i> (1994)
Chinook salmon (<i>Oncorhynchus tshawytscha</i>)	20 mg/l	Mitchell <i>et al.</i> (1987)
Coho salmon (<i>Oncorhynchus kisutch</i>)	22 mg/l	Mitchell <i>et al.</i> (1987)
Truta arco-iris (<i>Oncorhynchus mykiss</i>)	26 mg/l	Mitchell <i>et al.</i> (1987)

A CL₅₀ é um dado muito importante para a avaliação de toxicidade de uma substância, porém, nem todos os pesticidas provocam morte imediata dos peixes e doses subletais podem causar outros distúrbios à saúde desses animais, portanto as alterações histológicas em tecidos de peixes constituem ferramenta sensível para detectar os efeitos tóxicos diretos de compostos químicos em órgãos-alvo,

sendo indicadores potentes da exposição prévia a estressores ambientais (HINTON *et al.*, 1992; SCHWAIGER, *et al.*, 1997).

Alguns trabalhos têm demonstrado a presença de lesões histológicas em órgãos de peixes expostos ao glifosato. Neskovic *et al.* (1996), trabalhando com carpas expostas a 2,5; 5 e 10 mg/L de glifosato por 14 dias, e Rigolin-Sá (1999), estudando jundiás expostos a

concentrações de Roundup[®], que variaram de 8 a 12 mg/L, por 96 horas, relataram alterações hepáticas, renais e branquiais. Da mesma forma, Jiraungkoorskul *et al.* (2002) observaram alterações em brânquias, fígado e rins de tilápias expostas a 36 ppm de Roundup[®] por 24, 48, 72 e 96 horas. Langiano (2006), trabalhando com curimatá, em exposições a 7,5 e 10,0 ppm de Roundup[®], por 6, 24 e 96 horas, encontrou alterações hepáticas, que embora

reversíveis, comprometem o funcionamento normal do órgão.

Na análise histopatológica do fígado dos animais desse experimento foi observada uma vacuolização moderada no controle e no grupo exposto a 6,67 ppm de Roundup[®] e discreta no grupo exposto a 13,3 ppm, além de intensa congestão de vasos e sinusóides nos grupos expostos ao herbicida (Tabela 3 e Figura 1).

Tabela 3. Médias e desvios-padrão do grau de alterações encontradas no fígado dos peixes do grupo-controle e dos grupos expostos ao Roundup[®]

	CONTROLE	6,67ppm	13,3ppm
Vacuolização	1,4 ± 0,5 ^a (moderado)	1,4 ± 0,5 ^a (moderado)	0,8 ± 0,4 ^a (discreto)
Congestão	0,4 ± 0,5 ^a (discreto)	2,8 ± 0,4 ^b (intenso)	2,2 ± 0,8 ^{ab} (intenso)

Média ± desvio-padrão, n = 5.

Médias seguidas das mesmas letras, na mesma linha, não diferem entre si (P ≤ 0,05).

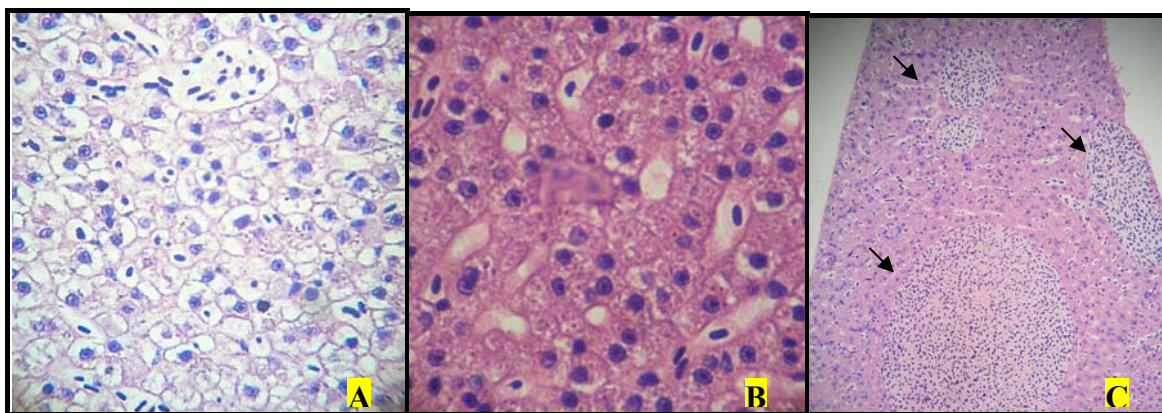


Figura 1 A- fotomicrografia de fígado de piaçu do grupo controle demonstrando vacuolização moderada. HE 400x. B – fotomicrografia de fígado de piaçu exposto a 13,3 ppm de Roundup[®] demonstrando vacuolização discreta. HE 400x. C - fotomicrografia de fígado de piaçu do grupo exposto a 6,67ppm de Roundup[®] demonstrando intensa congestão (setas). HE 100x

A congestão de sinusóides, além do início de fibrose, foi uma alteração também relatada por Neskovic *et al.* (1996), em carpas (*Cyprinus carpio*) expostas 10 mg/L de glifosato por 14 dias. Langiano (2006), além de outras alterações, também encontrou congestão hepática em

curimatás expostos a 7,5 e 10,0 ppm de Roundup[®], por 6, 24 e 96 horas.

Embora os hepatócitos estejam geralmente cheios de glicogênio ou gordura neutra, se a alimentação for suficiente (ROBERTS, 1981), durante as fases de resposta ao estresse podem ocorrer três situações: a) uma mobilização do glicogênio hepático na

fase de alarme; b) na fase de resistência e adaptação, o glicogênio pode estar baixo ou não; c) na fase de exaustão ocorre uma depleção do glicogênio hepático (HEATH, 1995). A vacuolização discreta encontrada

no fígado dos animais do grupo exposto a 13,3 ppm do Roundup® sugere uma mobilização de glicogênio por estresse químico.

CONCLUSÃO

A CL₅₀ em 96 horas do Roundup® para piauçus (*Leporinus macrocephalus*), nas condições experimentais utilizadas, foi de 15,8 ppm do produto comercial, sendo considerado pouco tóxico, segundo normas de classificação do IBAMA. Apesar disso,

os peixes expostos ao herbicida, nas concentrações de 6,67 e 13,3 ppm, apresentaram alterações hepáticas condizentes com o desequilíbrio da homeostasia dos mesmos.

REFERÊNCIAS

ABDELGHANI, A.A.; TCHOUNWOU, P.B.; ANDERSON, A.C.; SUJONO, H.; HEYER, L.R.; MONKIEDJE, A. Toxicity evaluation of single and chemical mixtures of Roundup, Garlon-3A, 2,4-D, and Syndects surfactant to Channel Catfish (*Ictalurus punctatus*), Bluegill Sunfish (*Lepomis microchirus*), and Crawfish (*Procambarus spp.*). *Environmental Toxicology and Water Quality*, v.12, n.3, p.237-243, 1997.

AGROFIT Disponível em:
<www.agrofit.com.br>. Acesso em: 10 jul. 2006.

ANTÓN, F.A.; LABORDA, E.; de ARIZ, M. Acute toxicity of the herbicide glyphosate to fish. *Chemosphere*, v. 28, n. 4, p.745-753, 1994.

ARANA, L.V. **Princípios químicos de qualidade da água em aquicultura**: uma revisão para peixes e camarões. Florianópolis: Editora da UFSC, 2004. 231p.

ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS. **NBR 12714**: água – ensaios de toxicidade aguda com peixes. – Parte I – sistema estático. Rio de Janeiro, 1993. 15 p.

BERTOLETTI, E. **Ensaio biológicos com organismos aquáticos e sua aplicação no controle da poluição**. São Paulo: Cetesb, 1990.

BRAUNBECK, T. Cytological alterations in fish hepatocytes following *in vivo* and *in vitro* sublethal exposure to xenobiotics – structural biomarkers of environmental contamination. In: BRAUNBECK, T.; HINTON, D.E.; STREIT, B. **Fish ecotoxicology**. Berlin: Birkhäuser, 1998. p. 61-140.

COX, C. Glyphosate. *Journal of Pesticide Reform*, v.24, n.4, p.10-15, 2004.

CUNHA, L.F. Transgênicos: enfim, aprovados. *Globo Rural*, n. 234, p. 38-44, 2005.

FOLMAR, L.C.; SANDERS H.O.; JULIN A.M. Toxicity of the herbicide glyphosate and several of its formulations to fish and aquatic invertebrates. **Arch Environ Contam Toxicol**, v. 8, p.269-278, 1979.

GRISOLIA, C. K. **Agrotóxicos** : mutações, câncer & reprodução. Brasília: Editora Universidade de Brasília, 2005. 392p.

HAMILTON, M. A.; RUSSO, R.C.; THURSTON, R.V. Trimed Spearman-Kärber method for estimating median lethal concentration in toxicity bioassays. **Environmental Science Technology**, v.7, n.11, p.714 -719, 1977.

HEATH, A.G. **Water pollution and fish physiology**. 2.ed. Florida: CRC Press,1995. 384p.

HINTON,D.E.; BAUMANN,P.C.; GARDNER,G.R.; HAWKINS,W.E.; HENDRICKS,J.D; MURCHELANO,R.A. ; OKIRINO,M.S. Histopathology biomarkers. In: HUGGET,R.J.; KIMERLE,R.A.; MEHRLE Jr,P.M.; BERGAMAN, H. L. **Biomarkers biochemical, physiological and histological markers of antropogenic stress**. Flórida: Lewis Publishers,. 1992. p.155-209.

JIRAUNGKOORSKUL, W.; UPATHAM, E. S.; KRUATRACHUE, M.; SAHAPHONG, S.; VICHASRI-GRAMS, S.; POKETHITIYOOK, P. Histopathological effects of roundup, a glyphosate herbicide, on Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*). **Science Asia**, v.28, p.121-127, 2002.

LANGIANO, V.C. **Toxicidade do roundup e seus efeitos para o peixe neotropical prochilodus lineatus**. 2006. 62 p.Dissertação (Mestrado) – Universidade Estadual de Londrina, Londrina.

LOMBARDI,J.V. Fundamentos de toxicologia aquática. In: RANZANI-PAIVA,M.J.T.; TAKEMOTO,R.M.;LIZAMA,M. de los A.P. **Sanidade de organismos aquáticos**. São Paulo:Varela, 2004. p.263-272.

LUNA,L.G. **Manual of histologic staining methods of the Armed Forces Institute of pathology**. 3. ed. New York: Macgraw-Hill, 1968. p.38-39.

MACHADO, M.R. Uso de brânquias de peixes como indicadores de qualidade das águas. **NOPAR Científica**,v.1,n.1,p.63-76, 1999.

MARTINEZ C.B.R.; CÓLUS, I. M. S. Biomarcadores em peixes neotropicais para monitoramento da poluição aquática na bacia do rio Tibagi. In: MOACYR, E ; BIANCHINI, E.; SHIBATTA, O. A.; PIMENTA, J.A. **A bacia do Rio Tibagi**. Londrina: MC Gráfica, 2002. p.551-577.

MARTINS, M. L; YOSHITOSHI, E. R. A new nematode species *Goezia leporini* N. sp.(Anisakidae) from cultured freshwater fish *Leporinus macrocephalus* (Anostomidae) in Brazil. **Braz. J. Biol.**, v. 63, n.3, p.497-506, 2003

MITCHELL, D.G.; CHAPMAN, P. M. ; LONG, T.J. Acute toxicity of Roundup and Rodeo herbicides to rainbow trout, chinook, and coho salmon. **Bull. Environ Contam.Toxicol**,v. 39, p.1028-1035, 1987.

MIYAZAKI, D. M. Y.; MACHADO NETO, J. G.; CASTAGNOLLI, N. Toxicidade aguda de triclofon, partion metílico e glifosato para alevinos de tambaqui (*Collossoma macroporum*) e tambacu (*C. macroporum X Piaractus mesopotamicus*).In: ENCONTRO BRASILEIRO DE PATOLOGISTAS DE ORGANISMOS AQUÁTICOS (ENBRAPOA), 8., 2004, Laguna . **Anais...**Maringá: Biblioteca Setorial da UEM, 2004. p.203.

MOREIRA, H.L.M.; VARGAS,L.; RIBEIRO,R.P.;ZIMMERMANN,S. **Fundamentos da moderna aqüicultura**. Canoas: Editora ULBRA, 2001. 200p.

NEŠKOVIC, N. K.; POLEKSIC1 V.; ELEZOVIC2 I.; KARAN, V.; BUDIMIR, M. Biochemical and histopathological effects of

glyphosate on Carp, *Cyprinus carpio* L. **Bull. Environ. Contam. Toxicol**, v.56, p.295-302, 1996.

OSTRENSKY, A.; BOEGER, W.
Fundamentos e técnicas de manejo. Guaíba: Editora Agropecuária, 1998. 211p.

RIGOLIN-SÁ, O. **Toxicidade do herbicida Roundup (Glifosato) e do Acaricida Omite (Propargito) nas fases iniciais da Ontogenia do Bagre *Rhamdia hilarii* (Valenciennes, 1840) (Pimelodidae, Siluriformes)**. 1999. 307 f. Tese (Doutorado) – Universidade Federal de São Carlos, São Paulo.

ROBERTS, R.J. **Patologia de los peces**. Madrid: Mundi-Prensa, 1981.366p.

SCHWAIGER, J.; WANKE, R.; ADAM, S.; PAWERT, M.; HONNEN, W.; TRIEBSKORN, R. The use of histopathological indicators to evaluate contaminant-related stress in fish. **J. Aquat. Ecosyst Stress Recov**, v. 6, n. 1, p. 75-86, 1997.

SILVA, T.O.; RITTER, F.; SILVA, L.B.; QUEVEDO, R.M.; BALDISSERA, R.K.; FINCO, J.; BEDIN, A.; DE LIMA, M. R.; KREUTZ, L., C.;

BARCELLOS, L.J.G. Determinação da DL50 e da DL100 para o herbicida glifosato em alevinos de Jundiá, *Rhamdia quelen*. In: ENCONTRO BRASILEIRO DE PATOLOGISTAS DE ORGANISMOS AQUÁTICOS (ENBRAPOA), 8. , 2004, Laguna . **Anais...** Maringá: Biblioteca Setorial da UEM, 2004. p.204.

TATAJE, D.R.; ZANIBONI FILHO, E. Cultivo do gênero *Leporinus*. In: BALDISSEROTTO, B.; GOMES, L.C. **Espécies nativas para piscicultura no Brasil**. Santa Maria: UFSM, 2005. 468p.

VAN DYK, J.C. **Fish histopathology as a monitoring tool for aquatic health: a preliminary investigation**. 2005. Tese. (Mestrado) - University of Johannesburg, Johannesburg.

WHO . WORLD HEALTH ORGANIZATION. **United nations environment programme, the internacional Labour Organization. Glyphosate: environmental health criteria #159**. Geneva, 1994.