



Evento: XXVII Jornada de Pesquisa

EFEITOS DA DOSE DE INGESTÃO DIÁRIA ACEITÁVEL DE HERBICIDA À BASE DE GLIFOSATO SOB O PERFIL OXIDATIVO RENAL DE RATOS WISTAR¹

EFFECTS OF THE ACCEPTABLE DAILY INTAKE DOSE OF GLYPHOSATE-BASED HERBICIDE ON THE RENAL OXIDATIVE PROFILE OF WISTAR RATS

**Diovana de Batista², Juliana Pinheiro³, Letícia Cassol⁴, Rafaela Probst⁵, Maira Brigo⁶,
Thiago Heck⁷**

¹ Projeto desenvolvido no Grupo de Pesquisa em Fisiologia (GPeF) da UNIJUÍ.

² Doutoranda do Programa de Pós-Graduação em Modelagem Matemática e Computacional (PPGMMC) da UNIJUÍ. Bolsista modalidade Taxa PROSUC/CAPES.

³ Bolsista de Iniciação Científica (PROBIC FAPERGS). Acadêmica do curso de medicina da UNIJUÍ.

⁴ Bolsista de Iniciação Científica (PROBIC FAPERGS). Acadêmica do curso de medicina da UNIJUÍ.

⁵ Mestranda do Programa de Pós-Graduação em Atenção Integral à Saúde (PPGAIS) da UNIJUÍ.

⁶ Doutoranda do Programa de Pós-Graduação em Modelagem Matemática e Computacional (PPGMMC) da UNIJUÍ. Bolsista PROSUC/CAPES.

⁷ Docente do Programa de Pós-Graduação em Modelagem Matemática e Computacional (PPGMMC) da UNIJUÍ.

RESUMO

Os herbicidas à base de glifosato (HBG) são os agrotóxicos mais utilizados no mundo. No entanto, a sua ampla aplicação tem resultado na contaminação de recursos naturais e de alimentos. A exposição humana aos HBG está associada com prejuízos na função renal, provocados pela indução de estresse oxidativo. Nesse contexto, a Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) estipula que a dose de Ingestão Diária Aceitável (IDA) de HBG é de 0,5 mg/kg/dia, uma dose cuja segurança tem sido questionada. Portanto, o objetivo deste estudo foi verificar se a dose de IDA de HBG induz alterações em marcadores oxidativos no tecido renal e descrever as características das principais variáveis do estudo. Para isso, foram utilizados 12 ratos Wistar, divididos nos grupos controle (CTRL), que recebeu apenas água (n=6), e glifosato (GLY), que recebeu a dose de IDA via água de consumo (n=6). Após o período de exposição de 10 semanas, o tecido renal dos animais foi coletado. Verificamos que a exposição ao HBG induziu redução na atividade da enzima antioxidante superóxido dismutase (SOD) renal (P=0,002). Não houve alterações nos níveis de peroxidação lipídica (P=0,142), na concentração de proteínas (P=0,216) e no peso relativo do tecido (P=0,560). Estes resultados indicam que a dose de IDA pode prejudicar a defesa antioxidante dos rins. A caracterização das variáveis deste estudo fundamenta futuras investigações e modelos matemáticos sobre marcadores de função renal, na busca de elucidar as consequências da exposição ao HBG.

Palavras-chave: Glifosato. Homeostase redox. Rins. Toxicidade.



ABSTRACT

Glyphosate-based herbicides (GBH) are the most worldwide used pesticides. However, its wide application leads to the contamination of natural resources and food. Human exposure to GBH is associated with impairment of renal function, caused by the induction of oxidative stress. In this context, the National Health Surveillance Agency (ANVISA) stipulates that the Acceptable Daily Intake (ADI) dose of GBH is 0.5 mg/kg/day, a dose whose safety has been questioned. Therefore, this study aimed to verify whether the ADI dose of GBH impairs oxidative markers in renal tissue, and to describe the characteristics of the main study variables. For this, 12 Wistar rats were used, divided into groups control (CTRL), which received only water (n=6), and glyphosate (GLY), which received the ADI dose in drinking water (n=6). After the 10-week exposure period, the animals' kidneys were collected. We found that exposure to GBH reduced the activity of the antioxidant enzyme superoxide dismutase (SOD) (P=0.002). There were no alterations in the levels of lipid peroxidation (P=0.142), protein concentration (P=0.216), and in relative tissue weight (P=0.560). These results indicate that the ADI dose impairs the kidney's antioxidant defense. The characterization of the variables of this study supports future investigations and mathematical models on renal function markers, to elucidate the consequences of exposure to HBG.

Keywords: Glyphosate. Redox homeostasis. Kidneys. Toxicity.

INTRODUÇÃO

A utilização de agrotóxicos tem aumentado nas últimas décadas, especialmente em países em desenvolvimento, como o Brasil. Dentre os diversos tipos de agrotóxicos, os herbicidas à base de glifosato (HBG) são os mais utilizados no mundo todo (BENBROOK, 2016). Utilizados para combater plantas daninhas, estes herbicidas possuem como princípio ativo o glifosato, N-(fosfometil)-glicina, que é um aminoácido sintético derivado da glicina. Além das lavouras de diversas cultivares como soja, milho, arroz, feijão e café (GARCÍA-PEREZ et al., 2013), os HBG são aplicados também em áreas urbanas, quintais, jardins (BENBROOK, 2016; FERNANDES et al., 2019; HANKE et al., 2010) e pomares (SCHRÜBBERS et al., 2016). Consequentemente, suas moléculas estão presentes em diversos ambientes, contaminando recursos naturais e alimentos (BERG et al., 2018; XU et al., 2019; ZHAO et al., 2018).

Após sua aplicação, as moléculas dos HBG permanecem temporariamente nas camadas superficiais do solo, onde podem ser adsorvidas à matéria orgânica. Em seguida, passam pelos processos de escoamento e lixiviação, pelos quais podem alcançar águas superficiais (LEFRANCQ et al. 2017) e subterrâneas (RENDON-VON OSTEN; DZUL-CAAMAL, 2017). Nesse cenário, estudos têm detectado a presença do glifosato e de seus



metabólitos na água de rios, lagos, na água da chuva e na água potável (BATTAGLIN et al., 2014; CARLES et al., 2019; FERNANDES et al. 2019).

Em estudo desenvolvido em comunidades agrícolas do México, por exemplo, foi detectado a presença de glifosato na água de poços, na água de consumo, inclusive a comercializada engarrafada, e também na urina dos agricultores (REND; DZUL-CAAMAL, 2017). Isso é preocupante do ponto de vista da saúde pública, pois a exposição aos HBG está relacionada com prejuízos a diversos sistemas corporais (REZENDE et al. 2021).

Como o glifosato é pouco metabolizado, cerca de 97,5% da quantidade ingerida de suas moléculas é excretada inalterada, principalmente nas fezes e secundariamente na urina (EPA, 2022). Isso significa que órgãos excretores, como os rins, estão sujeitos à ação tóxica dos HBG. Em estudos com modelos animais, tem sido relatado que o princípio ativo glifosato induz estresse oxidativo em células do epitélio tubular renal, levando à morte celular (GAO et al. 2018), à dilatação dos espaços de Bowman e à degeneração vacuolar (TURKMEN et al., 2019). Em humanos, a exposição a HBG está associada com o desenvolvimento de lesão renal aguda (MOHAMED et al 2016) e de doença renal crônica (JAYASUMANA et al., 2015).

Nesse cenário, como forma de regulamentar níveis máximos de exposição humana aos HBG, a Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA), determina que a dose de Ingestão Diária Aceitável (IDA) destes herbicidas via água potável e alimentos é de 0,5mg/kg/dia (ANVISA, 2021), dose semelhante à recomendada pela Organização Mundial da Saúde (OMS) (WHO, 2016). No entanto, a segurança dessas dosagens vem sendo questionada na comunidade acadêmica internacional. Assim, tendo em vista o potencial de toxicidade dos HBG, o objetivo deste estudo foi verificar se a IDA induz alterações em marcadores oxidativos no tecido renal de ratos Wistar e descrever as características das principais variáveis do estudo.

METODOLOGIA

Animais e Grupos Experimentais

Foram utilizados 12 ratos Wistar machos adultos, provenientes do biotério da UNIJUÍ (CEUA 025/2019). Para avaliar os efeitos da dose de Ingestão Diária Aceitável (IDA) dos HBG, os animais foram divididos nos seguintes grupos: **CTRL**: animais que receberam água de consumo, e **GLY**: grupo glifosato, animais expostos à IDA (0,5 mg/kg/dia) de HBG, via água de consumo (N=6 p/grupo).



O experimento teve duração de 10 semanas. Durante esse período, os animais foram mantidos em caixas forradas com maravalha, com livre acesso à água (ou água + HBG) e ração, em sala climatizada ($22 \pm 2^\circ\text{C}$), com ciclo claro-escuro de 12 horas, no biotério da UNIJUÍ.

Foi utilizada uma formulação comercial de HBG, Roundup® Original DI, contendo 445 g/L de sal de diamônio de N- fosfometil glicina (44,5% m/v, princípio ativo) e 370 g/L do equivalente ácido de N-fosfometil glicina (37% m/v). O produto foi adquirido em fornecedor local de insumos agrícolas.

Preparo da dose de Ingestão Diária Aceitável (IDA) de HBG

O consumo de água dos animais foi monitorado três vezes por semana, sendo então estimado o consumo hídrico médio semanal. Para calcular a IDA para os animais do grupo GLY, foi considerado o consumo hídrico e o peso corporal médio da semana anterior, sendo então preparada uma solução-mãe contendo a quantidade necessária do herbicida, semanalmente. A quantidade de HBG fornecida pela água de consumo para os animais foi calculada conforme a Equação 1:

$$IDA = PCm * 0,5$$

Equação 1: Quantidade de HBG ingerida diariamente via água de consumo.

Em que:

IDA = Dose diária a ser ingerida do princípio ativo glifosato (sal de diamônio de N-fosfometil-glicina) (mg / dia) para cada rato de uma mesma caixa.

PCm = Peso corporal médio dos animais na semana anterior (kg).

0,5 = Quantidade de glifosato (mg) diária para cada kg de peso corporal (ANVISA, 2021).

Uma vez calculada a quantidade do princípio ativo glifosato a ser ingerida por animal, foi estimado a concentração (mg/mL) necessária para a solução-mãe ofertada em cada semana, conforme Equação 2:

$$C = IDA/Vm$$

Equação 2: Quantidade do princípio ativo glifosato por ml de água de consumo.

Em que:

C = Concentração de glifosato (princípio ativo) (mg/mL) na solução.



IDA = Quantidade de glifosato (princípio ativo) (mg/dia) a ser ingerida por cada rato de uma caixa, considerando seu peso corporal médio (resultado da Equação 1).

Vm = Volume médio de água ingerido por dia (ml/dia) pelos ratos de uma mesma caixa na semana anterior.

Coleta dos rins e análises realizadas

Ao final do período de exposição, os animais foram eutanasiados e foi realizada a coleta dos rins. O tecido foi pesado em balança analítica, congelado em nitrogênio líquido e armazenado em freezer a -80°C , para as análises subsequentes.

O peso relativo do tecido foi calculado conforme Equação 3:

$$PR = \left(\frac{PT}{PC} \right) * 100$$

Equação 3: Cálculo do peso relativo dos rins.

Em que,

PR = peso relativo (%).

PT = peso do tecido (g).

PC = peso corporal (g).

A concentração de proteínas dos rins foi avaliada pelo método de Bradford (1976). Para análise do perfil oxidativo, foi analisado o conteúdo de malondialdeído (MDA), que é produto da peroxidação lipídica, utilizando a técnica de Substâncias Reativas ao Ácido Tiobarbitúrico (TBARS) (BUEGE; AUST, 1978). Como marcadora do sistema de defesa antioxidante, foi analisado a atividade da enzima superóxido dismutase (SOD), pelo método de inibição da auto-oxidação do pirogalol (MARKLUND; MARKLUND, 1974).

Análise Estatística

As análises estatísticas foram realizadas no software GraphPad Prism 8.0. Inicialmente, foi feito a estatística descritiva, para verificar os valores mínimo e máximo, a média e o desvio-padrão, assimetria, curtose, coeficiente de variação e o intervalo de confiança de 95% dos dados de cada variável mensurada.



Dentre as medidas de descrição, o coeficiente de variação (CV) reflete a dispersão dos dados em relação à média. Ele é calculado pela razão entre a raiz quadrada do quadrado médio do erro experimental e a média. O coeficiente de variação serve para o pesquisador verificar a qualidade experimental, pois quanto menor o CV, menor a dispersão de dados em torno da média, e maior a qualidade experimental. Além disso, o intervalo de confiança (IC) para a média serve para indicar a precisão da estimativa, considerando que a amostra coletada é representativa. O intervalo de confiança de 95% indica que há probabilidade de 95% de a média populacional estar inclusa nesse intervalo (VIEIRA, 2011).

Em seguida, para estatística inferencial, os dados foram submetidos ao teste de normalidade de Shapiro-Wilk. Para a comparação de médias entre os grupos, os dados paramétricos foram submetidos ao Teste T não-pareado, e dados não-paramétricos ao Teste de Mann-Whitney.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Conforme a Tabela 1, foi observado que o coeficiente de variação (CV) das variáveis peso relativo, concentração de proteínas e de malondialdeído (MDA) foi maior no grupo CTRL do que no grupo GLY. Isso indica menor variação nas medidas destas variáveis dos animais expostos ao HBG. Quanto à assimetria, que mede a simetria dos dados em torno da média, verificamos que todas as variáveis são ligeiramente assimétricas em ambos os grupos. No entanto, na concentração de proteínas, houve comportamento oposto entre os grupos: enquanto no CTRL a assimetria foi negativa, no grupo GLY foi positiva. Quanto à curtose, que é uma medida complementar à assimetria e que quantifica se as caudas da distribuição dos dados correspondem à distribuição Gaussiana, verificamos que a concentração de proteínas foi a variável que apresentou maior curtose, em ambos os grupos. Valores positivos de curtose indicam que esta variável pode não apresentar distribuição Gaussiana. No entanto, ao checarmos a normalidade dos dados, verificamos que apenas a atividade da SOD apresentou distribuição não-paramétrica.



	Grupo	Min	Max	Média	DP	Assi.	Curt.	CV (%)	IC 95%
Peso Relativo	CTRL	0,027	0,046	0,033	0,00	1,46	1,79	21,9	0,025 – 0,041
	GLY	0,029	0,035	0,031	0,00	1,14	-0,38	7,0	0,029 – 0,034
Conc. Proteínas	CTRL	8,438	19,54	15,76	3,87	-1,70	3,39	24,5	11,70 – 19,83
	GLY	16,14	21,51	18,07	1,83	1,57	3,30	10,1	16,15 – 20,00
Conc. MDA	CTRL	0,001	0,009	0,004	0,00	1,18	1,17	60,0	0,001 – 0,007
	GLY	0,001	0,003	0,002	0,00	0,65	-1,86	32,5	0,001 – 0,003
Atividade SOD	CTRL	4,135	7,754	5,561	1,69	0,86	-1,89	30,5	3,78 – 7,34
	GLY	1,466	3,800	2,468	0,78	0,80	1,61	31,7	1,64 – 3,28

Tabela 1: Estatística descritiva dos dados. Em que: Min, valor mínimo do conjunto de dados. Max, valor máximo. DP, desvio-padrão. Assi., assimetria. Curt., curtose. CV(%), coeficiente de variação. IC 95%, intervalo de confiança de 95%.

A partir dos testes de comparação de médias, verificamos que a exposição à dose de IDA de HBG não induziu alterações no peso relativo ($P=0,560$), na concentração de proteínas ($P=0,216$) e nos níveis de peroxidação lipídica ($P=0,142$) (Figura 1, A, B e C, respectivamente) do tecido renal. No entanto, observamos redução de 55% na atividade da enzima antioxidante superóxido dismutase (SOD) ($P=0,002$) (Figura 1, D).

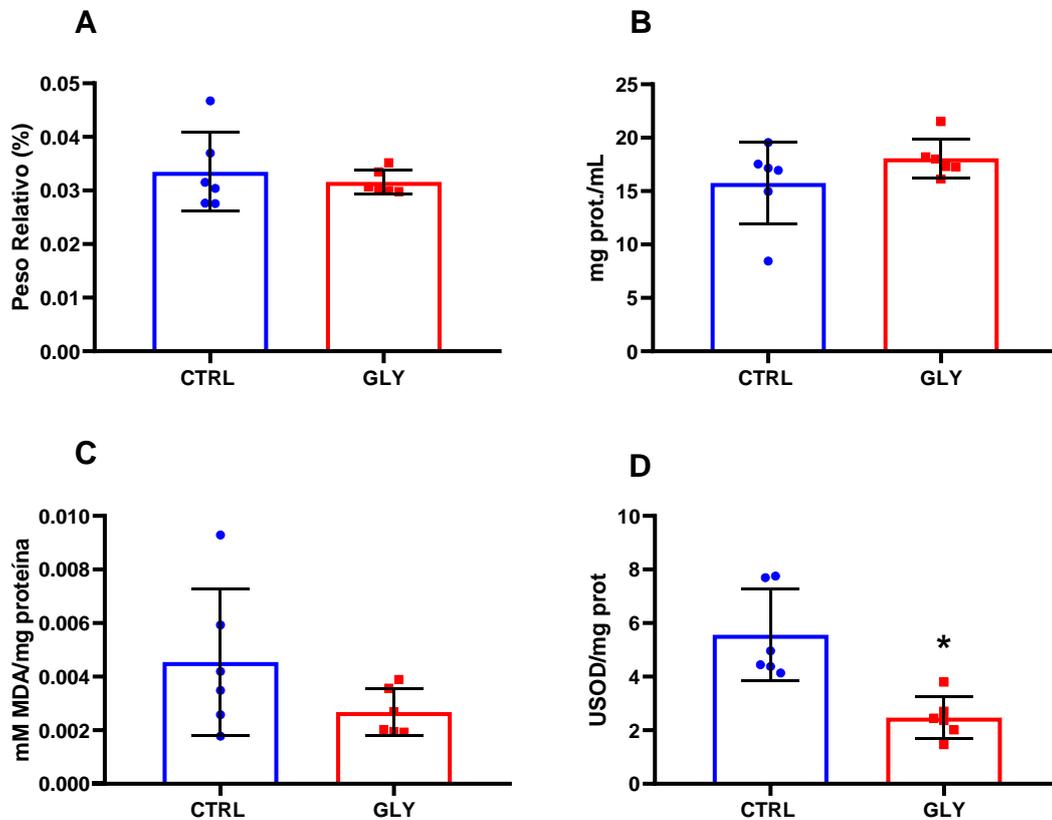


Figura 1: Perfil do tecido renal de animais expostos ao glifosato. A) Peso relativo (%) (P=0,216). **B)** Concentração de proteínas (mg/mL) (P=0,216). **C)** Peroxidação lipídica, a partir dos níveis de malondialdeído (MDA) (mM/mg proteína) (P=0,142). **D)** Atividade da superóxido dismutase (SOD) (USOD/mg proteína) (*P=0,002). CTRL, grupo controle, n=6. GLY, grupo exposto à dose de IDA de HBG, n=6.

A SOD é uma importante enzima antioxidante, que atua na linha de frente no combate ao estresse oxidativo. O estresse oxidativo é caracterizado pelo desbalanço entre oxidantes e antioxidantes, em favor dos primeiros (SIES; BERNDT; JONES, 2017). A atuação da SOD promove a remoção do ânion superóxido (O_2^-), uma espécie reativa de oxigênio (ERO) que, em altas concentrações, prejudica a célula através da oxidação de biomoléculas. Os sítios-ativos da SOD possuem ligações com metais, que atuam como co-fatores em sua ação antioxidante (YOUNUS, 2018). Nesse sentido, sabe-se que o princípio-ativo glifosato possui ação quelante de metais, parcialmente envolvida com seus efeitos tóxicos (MERTENS et al., 2018), o que pode indicar que inibe a atividade da SOD por ligar-se aos metais de seus sítios-ativos.

O estresse oxidativo é um dos efeitos mais relatados em organismos expostos aos HBG (ASTIZ; ALANIZ; MARRA, 2009; EL-SHENAWY, 2009; TANG et al., 2017; TURKMEN et al., 2019). Em células do epitélio tubular renal, o glifosato (400 mg/kg por 28 dias) induz



estresse oxidativo a partir da ativação de receptores N-metil-D-aspartato (NMDA) e do consequente aumento no conteúdo intracelular de Ca^{2+} e de ERO. Como consequência, ocorre ativação das vias de morte celular e prejuízo na função renal (GAO et al., 2018). Em animais expostos a um HBG (375 mg/kg por 56 dias), o estresse oxidativo resultou em degeneração neuronal, apoptose de células musculares cardíacas, degeneração de hepatócitos, dilatação dos espaços de Bowman e degeneração vacuolar nos rins (TURKMEN et al., 2019). Embora estes estudos tenham avaliado os efeitos de dosagens altas de HBG, distantes das dosagens a que realmente podemos estar expostos, há evidências de que a exposição humana aos HBG, mesmo em baixas dosagens, está positivamente associada ao declínio da função renal (ABDUL et al. 2021; JAYASUMANA et al., 2015; MOHAMED et al 2016).

CONSIDERAÇÕES FINAIS

Em nosso trabalho, mostramos que a dose de Ingestão Diária Aceitável (IDA, 0,5 mg/kg/dia) de HBG prejudica a atividade da SOD no tecido renal, contudo sem alterar os níveis de peroxidação lipídica, a concentração de proteínas e o peso relativo do tecido. Esses resultados podem indicar que, embora a atividade da SOD tenha sido prejudicada, as células conseguiram compensar o dano oxidativo. Além disso, foi feita a caracterização de outras variáveis relevantes para a saúde diante da exposição a agentes químicos. Por isso, em estudos futuros pretendemos analisar outras enzimas antioxidantes, como a catalase, bem como outros indicadores de dano oxidativo, além de propor modelos matemáticos e computacionais para melhor entendermos as consequências dos resultados observados até o momento.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ABDUL, K. S. M et al. Occupational Paraquat and Glyphosate Exposure May Decline Renal Functions among Rural Farming Communities in Sri Lanka. **Int J Environ Res Public Health**, v.18(6):3278, 2021. doi:10.3390/ijerph18063278
- ANVISA, Agência de Vigilância Sanitária. Resolução da diretoria colegiada - RDC nº 441, de 2 de dezembro de 2020. Dispõe sobre a manutenção do ingrediente ativo Glifosato [...]. 2020.
- ASTIZ, M.; ALANIZ, M. J.; MARRA, C. A. Antioxidant defense system in rats simultaneously intoxicated with agrochemicals. **Environ Toxicol Pharmacol**, v. 28, n. 3, p. 465-473, 2009.



BATTAGLIN, W. A. et al. Glyphosate and Its Degradation Product AMPA Occur Frequently and Widely in U.S. Soils, Surface Water, Groundwater, and Precipitation. **Journal of the American Water Resources Association**, v. 50, n. 2, 275-290, 2014. <https://doi.org/10.1111/jawr.12159>

BENBROOK, C. M. Trends in glyphosate herbicide use in the United States and globally. **Environ Sci Eur**, v. 28, n. 3, 2016. <https://doi.org/10.1186/s12302-016-0070-0>

BERG, C. J. et al. Glyphosate residue concentrations in honey attributed through geospatial analysis to proximity of large-scale agriculture and transfer off-site by bees. **PLoS One**, v. 13, n. 7, 2018. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0198876>

BRADFORD, M. M. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. **Anal Biochem**, v.72, p.248-254, 1976.

BUEGE, J. A.; AUST, S. D. Microsomal lipid peroxidation. **Methods Enzymol.**, v.52, p.302-309, 1978.

CARLES, L. et al. Meta-analysis of glyphosate contamination in surface waters and dissipation by biofilms. **Environment International**, v. 124, p. 284-293, 2019. <https://doi.org/10.1016/j.envint.2018.12.064>

EL-SHENAWY, N. S. Oxidative stress responses of rats exposed to Roundup and its active ingredient glyphosate. **Environ Toxicol Pharmacol**. v. 28, n. 3, p. 379-385, 2009. <https://doi.org/10.1016/j.etap.2009.06.001>

EPA, United States Environmental Protection Agency. Glyphosate. Disponível em: <<https://www.epa.gov/ingredients-used-pesticide-products/glyphosate>>. Acesso em Agosto/2022.

FERNANDES, G. et al. Indiscriminate use of glyphosate impregnates river epilithic biofilms in southern Brazil. **Science of the Total Environment**, v. 651, p. 1377–1387, 2019.

GAO, H. et al. Activation of the N-methyl-d-aspartate receptor is involved in glyphosate-induced renal proximal tubule cell apoptosis. **J Appl Toxicol**, v. 39, n. 8, p. 1096-1107, 2018. <https://doi.org/10.1002/jat.3795>

GARCÍA-PÉREZ, J. A. et al. Earthworm communities and soil properties in shaded coffee plantations with and without application of glyphosate. **Applied Soil Ecology**, 83, 230–237, 2014. <https://doi.org/10.1016/j.apsoil.2013.09.006>

HANKE, I. et al. Relevance of urban glyphosate use for surface water quality. **Chemosphere**, v. 81, n. 3, p. 422-429, 2010. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2010.06.067>

JAYASUMANA, C.; GUNATILAKE, S.; SENANAYAKE, P. Glyphosate, hard water and nephrotoxic metals: are they the culprits behind the epidemic of chronic kidney disease of



unknown etiology in Sri Lanka? **Int J Environ Res Public Health**, v. 11, n. 2, p. 2125-2147, 2014. <https://doi.org/10.3390/ijerph110202125>

LEFRANCQ, M. et al. High frequency monitoring of pesticides in runoff water to improve understanding of their transport and environmental impacts. **Science of The Total Environment**, v. 587-588, p. 75-86, 2017. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2017.02.022>

MARKLUND, S.; MARKLUNG, G. Involvement of the superoxide anion radical in the autoxidation of pyrogallol and a convenient assay for superoxide dismutase. **European Journal of Biochemistry**, v.47, p.469-474, 1974.

MERTENS, M. Glyphosate, a chelating agent - relevant for ecological risk assessment? **Environmental Science and Pollution Research**, v. 25, p. 5298–5317, 2018.

MOHAMED, F. et al. Mechanism-specific injury biomarkers predict nephrotoxicity early following glyphosate surfactant herbicide (GPSH) poisoning. **Toxicol Lett**, v. 258, p. 1-10, 2016.

RENDON-VON OSTEN, J.; DZUL-CAAMAL, R. Glyphosate Residues in Groundwater, Drinking Water and Urine of Subsistence Farmers from Intensive Agriculture Localities: A Survey in Hopelchén, Campeche, Mexico. **Int J Environ Res Public Health**, v. 14, n. 6, 595, 2017. <https://doi.org/10.3390/ijerph14060595>

REZENDE, E. et al. Trends in science on glyphosate toxicity: a scientometric study. **Environmental science and pollution research international**, 28(40), 56432–56448, 2021. <https://doi.org/10.1007/s11356-021-14556-4>

SCHRÜBBERS, L. et al. Glyphosate accumulation, translocation, and biological effects in *Coffea arabica* after single and multiple exposures. **European Journal of Agronomy**, v. 74, p. 133-143, 2016. <https://doi.org/10.1016/j.eja.2015.11.023>

SIES, H.; BERNDT, C.; JONES, D. P. Oxidative Stress. **Annual review of biochemistry**, 86, 715–748, 2017. <https://doi.org/10.1146/annurev-biochem-061516-045037>

TANG, J. et al. Ion Imbalance Is Involved in the Mechanisms of Liver Oxidative Damage in Rats Exposed to Glyphosate. **Front Physiol**, v. 8, 1083, 2017. <https://doi.org/10.3389/fphys.2017.01083>

TURKMEN, R. et al. Antioxidant and cytoprotective effects of N-acetylcysteine against subchronic oral glyphosate-based herbicide-induced oxidative stress in rats. **Environ Sci Pollut Res Int**, v. 26, n.11, p. 11427-11437, 2019a. <https://doi.org/10.1007/s11356-019-04585-5>

VIEIRA, Sônia. Introdução à Bioestatística. Rio de Janeiro: Elsevier, 2011.



WHO, World Health Organization. Inventory of evaluations performed by the Joint Meeting on Pesticide Residues (JMPR) – Glyphosate, 2016. Disponível em: <<https://apps.who.int/pesticide-residues-jmpr-database/pesticide?name=GLYPHOSATE>>.

XU, J. et al. Glyphosate contamination in grains and foods: An overview. **Food Control**, v. 106, 106710, 2019. <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2019.106710>

YOUNUS, H. Therapeutic potentials of superoxide dismutase. **Int J Health Sci (Qassim)**, v.12(3):88-93, 2018.

ZHAO, J. et al. Detection of glyphosate residues in companion animal feeds. **Environ Pollut**, v. 243, Pt B, p. 1113-1118, 2018. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2018.08.100>