

**UNIVERSIDAD DE LA REPÚBLICA
FACULTAD DE VETERINARIA**

EFFECTOS TÓXICOS DEL HERBICIDA GLIFOSATO EN ANIMALES

“Por”

Malena Menéndez

TESIS DE GRADO: presentada como uno
de los requisitos para obtener el título de
Doctor en Ciencias Veterinarias
Orientación: Higiene, Inspección, Control,
Tecnología de los Alimentos

Modalidad: Revisión Monográfica

**MONTEVIDEO
URUGUAY**

2017

PÁGINA DE APROBACIÓN

Tesis de grado aprobada por:

Presidente de mesa:

Dr. Eduardo Aguirre

Segundo miembro (Tutor):

Dra. Carmen García y Santos

Tercer miembro:

Dra. Cristina Friss de Kereki

Cuarto miembro

Dr. Santiago Sosa

Quinto miembro

Lic. Adriana Cauci

Fecha

26 / 04 / 17

Autor:

Malena Menéndez

AGRADECIMIENTOS

A mi tutora, Dra. Carmen García y Santos por ser la tutora del trabajo, por su disposición y apoyo para que el trabajo saliera adelante.

A mis co-tutores el Dr. Santiago Sosa y la Lic. Adriana Cauci por la realización del trabajo y por sus aportes, dedicación y opiniones en la elaboración de este trabajo.

A mi familia, que desde un principio me acompañaron en este camino y me brindaron su apoyo incondicional para seguir adelante.

A mis amigos y compañeros por todos los momentos compartidos durante la carrera, por la amistad incondicional en los momentos difíciles.

Al trabajo de los funcionarios de biblioteca por su colaboración en la búsqueda bibliográfica.

A la Facultad de Veterinaria por formarme como profesional.

TABLA DE CONTENIDO

PÁGINA DE APROBACIÓN	2
AGRADECIMIENTOS	3
LISTA DE TABLAS Y FIGURAS.....	4
TABLAS	5
FIGURA.....	5
RESUMEN.....	8
SUMMARY	9
INTRODUCCIÓN.....	10
OBJETIVOS	12
OBJETIVO GENERAL.....	12
OBJETIVOS ESPECÍFICOS	12
REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA	13
PLAGUICIDAS	13
GLIFOSATO.....	13
GENERALIDADES.....	13
PROPIEDADES FÍSICO QUÍMICAS	14
MECANISMO DE ACCIÓN.....	14
COMPORTAMIENTO Y PERSISTENCIA DEL GLIFOSATO EN EL SUELO	17
LOS MICROORGANISMOS DEGRADAN AL GLIFOSATO EN DOS VÍAS	18
CONTEXTUALIZACIÓN DEL MARCO NORMATIVO DE FITOSANITARIOS EN URUGUAY	19
TOXICIDAD	19
TOXICIDAD EN ANIMALES ACUÁTICOS	22
PEZ CYPRINUS CARPIO L (CARPA COMÚN)	23
PEZ RHAMDIA QUELEN (BAGRE DE PLATA)	27
PEZ CARASSIUS AURATUS (PECES DE COLORES)	28
PEZ PROCHILODUS LINEATUS (SÁBALO O CURIMBATÁ).....	30
ESTUDIOS REALIZADOS A RENACUAJOS Y RANAS	32
REPTIL: CAIMÁN LATIROSTRIS (CAIMÁN OVERO)	34
CRUSTÁCEO: CHERAX QUADRICARINATUS (CANGREJO DE GARRA ROJA)	34
ESTUDIOS REALIZADOS EN BOVINOS Y AVES	35
ESTUDIOS REALIZADOS EN ANIMALES DE LABORATORIO.....	38
CONCLUSIONES.....	40
BIBLIOGRAFÍA.....	41

LISTA DE TABLAS Y FIGURAS

TABLAS

TABLA 1: LÍMITE MÁXIMO DE RESIDUO PARA GLIFOSATO, AÑO DE APROBACIÓN 2006.	21
TABLA 2: ALTERACIONES HISTOLÓGICAS EN HÍGADO DE CARPA COMÚN POST EXPOSICIÓN A GLIFOSATO.	25
TABLA 3: ACTIVIDAD DE ENZIMAS HEPÁTICAS: LDH, ASAT, ALAT, LUEGO DE EXPOSICIÓN A GLIFOSATO.	25
TABLA 4: METABOLITO DEL MÚSCULO BLANCO DE <i>RHAMDIA QUELEN</i> EXPUESTOS A DIFERENTES CONCENTRACIONES DE GLIFOSATO EN 96 HORAS.	28
TABLA 5: METABOLITOS HEPÁTICOS DE <i>RHAMDIA QUELEN</i> EXPUESTOS A DIFERENTES CONCENTRACIONES DE GLIFOSATO EN 96 HORAS.....	28

FIGURAS

FIGURA 1: ESTRUCTURA MOLECULAR DEL GLIFOSATO N-FOSFONOMETIL GLICINA.....	14
FIGURA 2: VÍA DE CHIKIMATO, REACCIÓN DE SIETE PASOS METABÓLICOS	15
FIGURA 3: MECANISMO DE INHIBICIÓN DE LA VÍA DEL CHIKIMATO POR EL GLIFOSATO.....	17
FIGURA 4: LA ACUMULACIÓN Y EL TRANSPORTE DEL GLIFOSATO EN EL AMBIENTE	18
FIGURA 5: PEZ <i>CYPRINUS CARPIO L</i>	23

FIGURA 6: ALTERACIONES DEL HÍGADO EN LA CARPA COMÚN (<i>CYPRINUS CARPIO</i>), LUEGO DE EXPOSICIÓN A DIFERENTES DOSIS DE GLIFOSATO	24
FIGURA 7: ALTERACIONES EN BRANQUIAS E HÍGADO DE LA CARPA COMÚN (<i>CYPRINUS CARPIO</i>), EXPUESTOS A DIFERENTES CONCENTRACIONES DE GLIFOSATO	24
FIGURA 8: PEZ <i>OREOCHROMIS NILOTICUS</i>	26
FIGURA 9: ALTERACIONES HISTOPATOLÓGICAS DEL RIÑÓN EN FIGURA A, B, C Y ALTERACIONES HISTOPATOLÓGICAS DEL CEREBRO EN FIGURA D, E, F; AMBOS EN 96 HORAS A DIFERENTES CONCENTRACIONES DE GLIFOSATO EN LA TILAPIA DEL NILO	27
FIGURA 10: PEZ <i>RHAMDIS QUOLEN</i>	27
FIGURA 11: PEZ <i>CARASSIUS AURATUS</i>	28
FIGURA 12: MICROFOTOGRAFÍA DE LOS MICRONÚCLEOS EN LOS ERITROCITOS <i>CARASSIUS AURATUS</i> ; B: MICROFOTOGRAFÍAS DE FORMACIONES DE COMETAS EN LOS ERITROCITOS DE <i>CARASSIUS AURATUS</i>	29
FIGURA 13: EFECTOS DE LA EXPOSICIÓN AL ROUNDUP® A DIFERENTES CONCENTRACIONES EN 96 HORAS, EN <i>CARASSIUS AURATUS</i> , EN EL HÍGADO, RIÑÓN Y CEREBRO.....	30
FIGURA 14: PEZ <i>PROCHILODUS LINEATUS</i>	30
FIGURA 15: MICROFOTOGRAFÍA DE TEJIDO HEPÁTICO DE <i>PROCHILODUS LINEATUS</i> EXPUESTO A ROUNDUP® A DIFERENTES CONCENTRACIONES EN 24 Y 96 HORAS	32
FIGURA 16: MAL FORMACIÓN EXTERNA DE RENACUAJO <i>SCINAX NASICUS</i> DESPUÉS DE 3.85 MG/L DE GLIFOSATO EN 24 HORAS.....	33

FIGURA 17: ALTERACIONES DEL ESQUELETO VISCERAL, EN RENACUAJOS <i>SCINAX NASICUS</i>	33
FIGURA 18: REPTIL <i>CAIMÁN LATIROSTRIS</i>	34
FIGURA 19: CRUSTÁCEO: <i>CHERAX QUADRICARINATUS</i>	35
FIGURA 20: GLIFOSATO EN ORINA DE VACA LECHERA, DIFERENCIA ENTRE LAS DIFERENTES GRANJAS	36
FIGURA 21: APARIENCIA DEL MARCADOR RFLA129 QUE DETECTA A <i>RUMINOCOCCUS ALBUS EN DIETA</i>	38

RESUMEN

El objetivo de la presente revisión fue identificar aspectos relevantes sobre los posibles efectos tóxicos del herbicida Glifosato en animales. El Glifosato (N- fosfometilglicina) es un herbicida no selectivo, sistémico, post emergente y de amplio espectro, compuesto por una molécula de glicina y una de fosfometil, desarrollado por la compañía Monsanto® en 1970. Actúa inhibiendo la enzima 5-enolpiruvil-shikimato-3-fosfato-sintetasa, enzima que se encuentra presente en todas las plantas, donde participa en la producción de aminoácidos aromáticos esenciales. En 1996 la FAO clasifica a los herbicidas en tres categorías de acuerdo a su toxicidad en los de toxicidad alta, moderada y baja. El Glifosato quedó clasificado en la tercer categoría por su baja toxicidad (DL 50 en ratones mayor a 5000 mg/kg) y porque no presentaba indicios de carcinogenicidad en animales. Sin embargo, se ha reportado que la formulación comercial de este herbicida (Glifosato más surfactante) es más tóxica que el principio activo puro, siendo esencialmente dañino para los animales acuáticos. En marzo del 2015 la IARC re-clasificó varios pesticidas entre ellos al Glifosato ubicándolo en el grupo 2 A, probablemente cancerígeno para humanos. La mayoría de la bibliografía consultada reportó ensayos con efectos tóxicos en las diferentes especies animales evaluadas. Estos efectos van desde la inhibición de la flora ruminal saprófita en ganado lechero, interferencia en las funciones enzimáticas en ratas, hasta enfermedades congénitas y carcinogenicidad entre otros. Al ser este herbicida, un aminoácido sintético, puede integrar por error cadenas peptídicas, dando como resultado proteínas anormales y disfuncionales con consecuencias desconocidas. El uso masivo de Glifosato en los cultivos destinados a alimentación humana o animal lleva a la necesidad de realizar estudios de niveles de residuos en los mismos, así como de toxicidad a largo plazo, con el fin de conocer los riesgos para la salud tanto humana como animal.

SUMMARY

The aim of the present study was to identify the significant aspects of the potential toxic effects caused by Glyphosate herbicide in animals. Glyphosate [N-(phosphomethyl) glycine] is a non-selective, systemic, post-emergent and broad-spectrum herbicide, formed by one molecule of glycine and one of phosphonomethyl, developed by Monsanto® in 1970. It inhibits 5-enolpyruvylshikimate-3-phosphate-synthetase, an enzyme that can be found in all plant species, which plays a role in essential aromatic amino acid synthesis. In 1996, FAO classified herbicides in three categories: high, moderate and low toxicity, being Glyphosate a third category herbicide because of its low toxicity (LD 50 in mice greater than 5000 mg/kg) and because there was no evidence of carcinogenicity in animals. In spite of this, a greater toxicity of the commercial formula (Glyphosate plus surfactant) of the herbicide was reported in comparison to the pure active ingredient, being especially harmful for aquatic animals. In March 2015, IARC re-classified several pesticides, becoming Glyphosate a group 2 A member (probably carcinogenic for humans). Most of the literature which was reviewed reported toxic effects in trials over different animal species. These effects range from inhibition of saprophytic ruminal flora in dairy cattle, enzymatic functions interference in rats, to congenital diseases and carcinogenicity, between others. Since this herbicide is a synthetic amino acid, it can mistakenly take part in peptide chains, giving as a result abnormal and dysfunctional proteins with unknown consequences. Massive use of Glyphosate in crops intended for human or animal consumption, gives rise to the need for studies of residue levels as well as long-term toxicity, in order to know human and animal health risks.

INTRODUCCIÓN

La importancia que tiene el sector agropecuario en la economía de Uruguay, es evidenciada en parte por la alta participación del sector agroindustrial en el total de bienes exportados del país, llegando al 78% en el año 2015 (DIEA, 2015). Además, el sector agropecuario uruguayo se caracteriza por ser innovador, aplicando constantemente nuevas tecnologías.

En este sentido, a partir de la década de los 90, en el país se adoptó la técnica de siembra directa, en la cual se prescinde del laboreo previo al cultivo, logrando así prevenir la erosión y degradación del suelo (Scarlato, 2001). Como contrapartida, dicha tecnología conlleva al uso masivo de herbicidas no selectivos, siendo el Glifosato el más utilizado mundialmente con este fin (Martino, 1997). Según Baylis (2000), el Glifosato se usa sobre todo en forestación, malezas acuáticas y agricultura.

A su vez, el cultivo de soja comenzó a ganar mayor relevancia en Uruguay a partir del crecimiento de la demanda mundial de esta oleaginosa en la primera década de este siglo. Como consecuencia, la soja pasó a ser el cultivo de mayor área sembrada del país. Siendo la soja transgénica casi el 100% de la soja sembrada en Uruguay. Este hecho aumentaría significativamente el uso de Glifosato (Bozzo de Brum, 2010).

En Uruguay entre 2005 y 2014 las importaciones de herbicidas aumentaron en valor CIF (gastos generados hasta que la mercancía llegue a destino, incluye flete, seguro, etc.) en US\$ de 38.682.616 a 155.038.991, donde el 59.66% del total correspondió al herbicida Glifosato (DGSA, 2014). Particularmente el Glifosato aplicado a la soja transgénica en el 2010 fue de un 43% del total importado en ese año (Narbondo y Oyhantcabal, 2010).

Su uso masivo se debe a sus cualidades de no selectivo, amplio espectro, relativa baja toxicidad y bajo costo. Siendo una herramienta imprescindible para aplicar tecnologías como la siembra directa, sin la cual los problemas de erosión serían más graves. Existen controversias en cuanto a las alternativas al uso de Glifosato, otros herbicidas son más tóxicos, más caros y de menor espectro, no encontrándose hasta el momento otro que lo sustituya. Los manejos alternativos como el laboreo previo al cultivo, además de ser económicamente inviable conllevan a la degradación inevitable del suelo. La rotación de cultivos en periodos de tres años es una alternativa posible pero de difícil aplicación en grandes extensiones (Ing. Agr. Héctor Genta, comunicación personal, 2017).

El Glifosato como todo plaguicida conlleva un riesgo toxicológico. Sin embargo, existen opiniones diversas y contradictorias sobre su toxicidad (Bellé y col., 2012), esto sumado a la extensa utilización del compuesto, han llevado a la realización de diversos estudios (Dallegrave y col., 2003; Ayoola, 2008; Stoyanova y col., 2015). Se ha evaluado el impacto del Glifosato en la generación de malformaciones de animales acuáticos (Lajmanovich y col., 2003; Lajmanovich y col., 2010), sobre el efecto nocivo en el desarrollo embrionario de vertebrados (Paganelli y col., 2010), estudios en huevos de Caimán overo (Poletta y col., 2009), entre otros.

Entre especies de animales productivas, se han investigado los efectos del Glifosato sobre bovinos lecheros, evaluando la relación entre la ingesta de alimento con residuos de Glifosato y la aparición de patologías (Krüger y col., 2013a), también el impacto del Glifosato sobre la flora ruminal y la neurotoxina botulínica (Ackermann y col., 2015).

Teniendo en cuenta la frecuencia y la extensión del uso de este herbicida, en el presente trabajo se analizó la información regional más relevante disponible sobre la toxicidad del Glifosato, con el fin de identificar posibles riesgos para la salud humana y animal.

OBJETIVOS

Objetivo General

Revisar la bibliografía existente, principalmente nacional y regional, con la finalidad de identificar aspectos relevantes controversiales o poco conocidos sobre los efectos tóxicos del plaguicida Glifosato en animales.

Objetivos específicos

Recabar información bibliográfica sobre Glifosato y su toxicidad en animales.

Analizar la información, identificando posibles riesgos asociados al uso masivo del Glifosato.

REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA

PLAGUICIDAS

Se definen como cualquier sustancia o mezcla de sustancias destinadas a eliminar o controlar plagas, incluyendo vectores de enfermedades humanas y de animales, entendiéndose como plaga a las especies no deseadas de plantas o animales, que causen perjuicio de la salud humana, animal o ambiental, incluyendo la producción agropecuaria y forestal (FAO, 2006).

Los plaguicidas se pueden clasificar desde distintos puntos de vista: según la plaga a la que se destina, según su grado o el tipo de riesgo sanitario y por la estructura química del compuesto que se utilice. Dentro de la clasificación según la plaga destino, encontramos los herbicidas (OMS, 1992).

Los herbicidas son un tipo de plaguicida utilizados para el control de malezas, actuando en procesos químicos como la fotosíntesis. Se pueden clasificar de diferentes formas, por su modo de acción, propiedades químicas, utilización, si son selectivos o no, entre otras (FAO, 1996). Entre los herbicidas más utilizados en la actualidad se encuentra el Glifosato (Narbondo y Oyhantcabal, 2010).

GLIFOSATO

Generalidades

El Glifosato N-fosfonometil glicina (Figura 1) es un herbicida no selectivo, de carácter sistémico, de amplio espectro, post emergente, compuesto por una molécula de glicina y una molécula de fosfonometil. Su fórmula es $C_3H_8NO_5P$ y su nombre químico es N fosfonometil glicina, con número de registro en Chemical Abstracts Registryes es 1071-83-6 (WHO, 1994). Pertenece a una clase por sí mismo debido a su fórmula y mecanismo de acción distinto a otros herbicidas (Kegley y col., 1999).

Se lo ha utilizado para la eliminación de malezas, hierbas perennes, matorrales, etc, en suelos sin labranza, en la conservación de suelos (William y col., 2000), también para vitivinicultura, plantaciones, jardinería doméstica, malas hierbas, también zonas acuáticas e industriales. Además, se utiliza para cultivos transgénicos tolerantes al Glifosato (FAO, 2001). Se recomienda que su uso no se exceda de los 5.8 kg de principio activo/ha, dependiendo del tipo de suelo (WHO, 1994).

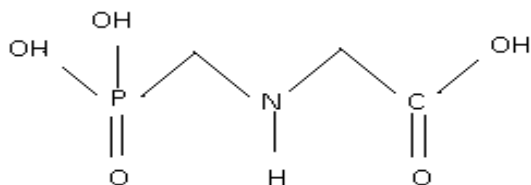


Figura 1: Estructura molecular del Glifosato N-fosfonometil glicina (Kegley y col., 1999).

La formulación del Glifosato generalmente es como sal isopropilamínica, aunque también se puede encontrar como sulfosato. Roundup[®], es la primera formulación líquida del Glifosato (Martino, 1995). Sus propiedades fueron descubiertas en 1970 por la compañía Monsanto (William y col., 2000; Baylis, 2000). La fórmula de Roundup[®] fue propuesta en 1974 y contenía Glifosato como ingrediente activo y polioxietilenamina (POEA) como agente tensoactivo (Lushchak y col., 2009). En 1990 expira la patente apareciendo otras empresas agroquímicas con su fabricación (Takacs, 2002).

Propiedades físico químicas

Es un polvo blanco, cristalino e inodoro, con un peso molecular de 170, un pH de 2 a 10.6, un pKa de <2, 2.6, 5.6 y 10.6 (Martino, 1995; WHO, 1994), con una pureza mínima de 950 g/kg (European Commission, 2002). Las formulaciones en nuestro país son solubles y gránulos dispersables, en su presentación como concentrado soluble se caracteriza por ser un líquido claro, viscoso, color ámbar, con ligero olor aminado (Burger y Fernández, 2004).

Es ligeramente soluble en agua a 12g/L 25°C y poco soluble en la mayoría de los disolventes orgánicos, su punto de fusión es 185°C, se descompone a 187°C produciendo humos tóxicos, como el óxido de nitrógeno y óxido de fósforo (WHO/FAO, 1996). Al ser soluble en agua no es capaz de atravesar las cutículas foliares y membranas celulares hidrofóbicas por sí mismo, por esto necesita un agente surfactante, para superar dicha barrera (Martino, 1995). Siendo el surfactante más utilizado la polioxietilenamina (POEA) (Burger y Fernández, 2004). Este es un agente tensoactivo no iónico, se lo añade para aumentar la penetración del herbicida a través de la cutícula (Lushchak y col., 2009).

Mecanismo de acción

Luego de su aplicación, el Glifosato se absorbe en las plantas a través de la cutícula de las hojas. Actúa en la vía del ácido chikimato (Martino, 1995); la cual es fundamental para la síntesis de aminoácidos esenciales para el desarrollo y crecimiento de las plantas (Weaver y Herrmann, 1999). La misma es referida como la ruta más común en la síntesis de los aminoácidos aromáticos (Herrmann, 1995), estos son fenilalanina, triptófano y tirosina (Eslava y col., 2007).

La vía chikimato es la ruta que conduce a la producción de los aminoácidos aromáticos en plantas y microorganismos, no en animales, por esto es importante para los herbicidas (Weaver y Herrmann, 1999).

La biosíntesis de los tres aminoácidos se considera en dos partes: la vía chikimato de fosfoenol piruvato y eritrosina 4 fosfato son convertidos a corismato y las tres vías de terminal que utiliza corismato como sustrato (precursor de los tres aminoácidos aromáticos) (Herrmann, 1995), esto se produce en una reacción de siete pasos metabólicos (Figura 2) (Weaver y Herrmann, 1999).

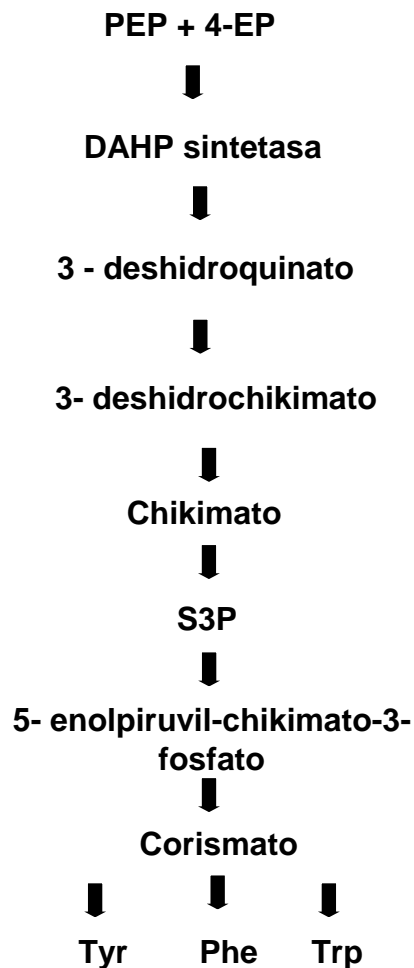


Figura 2: Vía de Chikimato, reacción de siete pasos metabólicos: fosfoenolpiruvato más eritrosa-4fosfato; 3-Desoxy-D-arabinoheptuloseonato-fosfato; Chiquimato 3 fosfato; tirosina; fenilalanina; triptófano (Fuente: Herrmann, 1995).

El Glifosato inhibe a la enzima 5 enolpiruvilchikimato 3 fosfato sintetasa (EPSPS), interfiriendo con la biosíntesis de estos aminoácidos (Prata y col., 2000).

Afectando de esa manera, la síntesis de las proteínas (Baylis, 2000). En la mayoría de las plantas el Glifosato es poco metabolizado o no degradado, siendo su acción sistémica (Prata y col., 2000). Actúa como inhibidor competitivo del fosfoenolpiruvato (PEP) y se combina con el complejo formado por la enzima EPSPS con el shikimato-3-fosfato (S3P) (EPSPS-S3P). No presenta afinidad por la enzima de forma aislada al igual que el PEP, es decir el Glifosato o el PEP no se combinan con EPSPS, sino al complejo formado (EPSPS-S3P), luego de esta unión el complejo enzimático es inactivado, por lo que no se lleva a cabo la síntesis de los aminoácidos (Figura 3) (Schonbrunn y col., 2000).

Además de inhibir la EPSPS, este compuesto puede actuar en sobre otras dos enzimas relacionadas con esta vía: la corismato mutasa y prefrenato hidratasa y también puede afectar otras dos enzimas más no relacionadas a esta vía. Esto último ocurre en la caña de azúcar, en donde reduce la actividad de la enzima ácido invertasa (Eslava y col., 2007).

Afecta procesos fisicoquímicos y fisiológicos como la reducción en la fotosíntesis, degradación de la clorofila, inhibición del transporte de auxina, entre otros. Es de lenta acción, pero sus efectos fisiológicos en las plantas se pueden detectar antes de que aparezca el primer síntoma (Baylis, 2000).

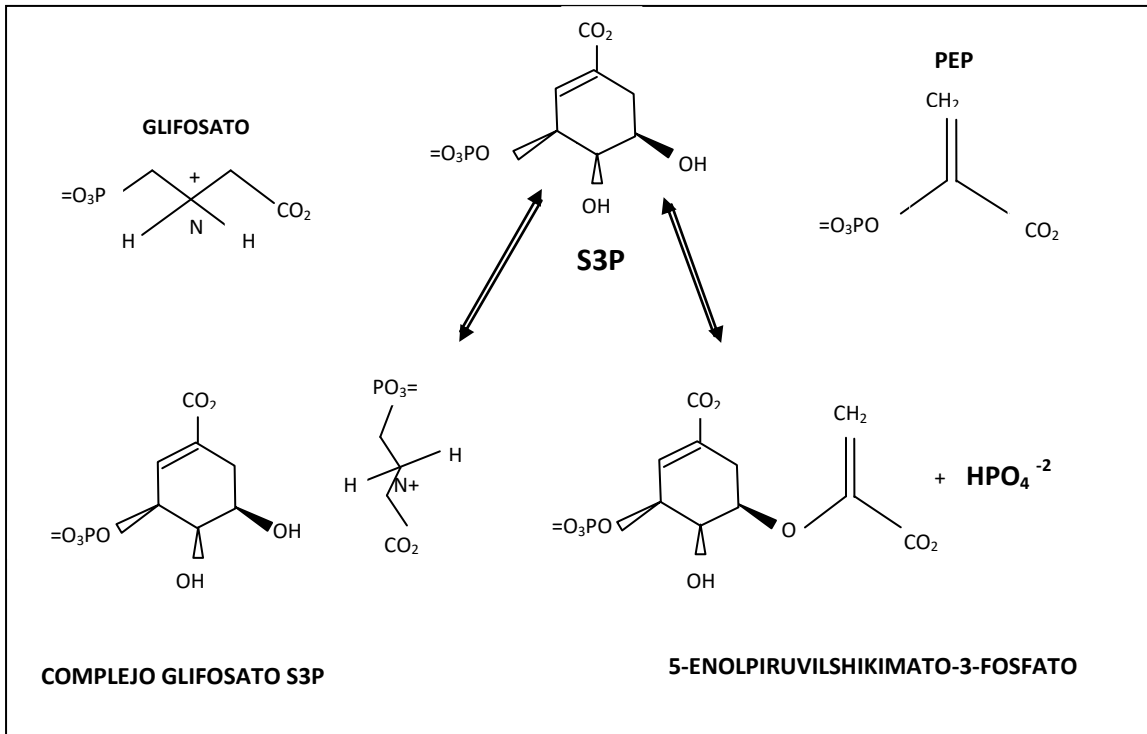


Figura 3: Mecanismo de inhibición de la vía del chikimato por el Glifosato. Se inhibe la enzima al unirse al S3P, reduciendo la producción de aminoácidos aromáticos esenciales en las plantas. (Alibhai y Stallings, 2001).

Comportamiento y persistencia del Glifosato en el suelo

Luego de la aplicación el Glifosato es absorbido por la planta y viaja a través de esta hasta las raíces donde una parte sin metabolizar entra en contacto con el suelo. Por otro lado, una fracción del producto aplicado cae directamente sobre el suelo, en ambos casos el herbicida llega al suelo, aunque tiene poca movilidad puede ser absorbido por plantas linderas (no blanco) y afectar su crecimiento, o ir hacia aguas profundas mediante lixiviación. La fracción de éste que permanece en el suelo, (sin ser absorbida por otras plantas ni correr por lixiviación) es inmediatamente degradada por los microorganismos presentes en el suelo a su metabolito más frecuente: ácido aminometilfosfónico (AMPA) (Figura 4) (Helander y col., 2012).

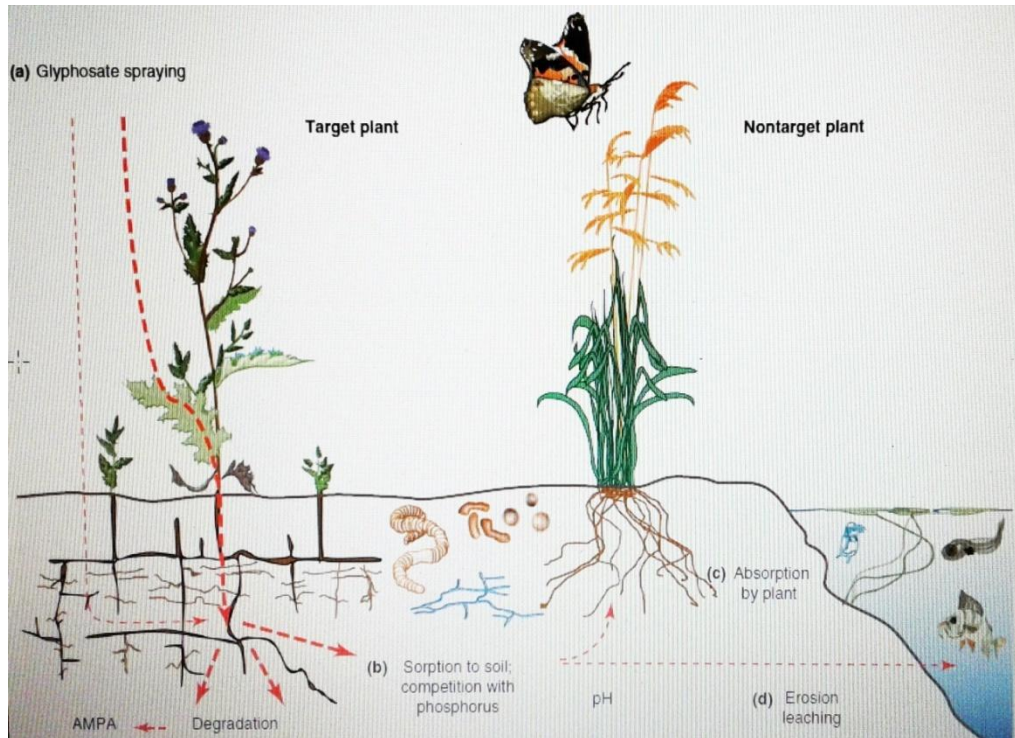


Figura 4: La acumulación y el transporte del Glifosato en el ambiente: A: las flechas indican el camino del Glifosato una vez aplicado, parte es degradado a su principal metabolito AMPA. B: y parte es absorbido en el suelo. C: Los residuos del Glifosato pueden ser absorbidos por otra planta o terminar como alimento de animales. D: La erosión de las partículas del suelo y la lixiviación de las aguas superficiales son el transporte del Glifosato a los sistemas acuáticos (adaptado de Helander y col., 2012).

Los microorganismos degradan al Glifosato en dos vías

A) formación del AMPA y un fragmento C_2 , en esta ruta la ruptura de la unión C-N es la primera etapa.

B) se forma la sarcosina y otro fosfato, la sarcosina se degrada a glicina y a una unidad de un carbono que forma CO_2 , en esta ruta la ruptura del enlace C-P es el primer paso (Jacob y col., 1988; WHO, 1994; Eslava y col., 2007).

La cantidad de Glifosato en el suelo depende de varios factores: composición del suelo, pH, microorganismos y temperatura (Eslava y col., 2007). Es importante el estudio de los suelos y superficies para el control de la contaminación (Pessagno y col., 2008).

Contextualización del marco normativo de fitosanitarios en Uruguay

De acuerdo al Decreto 264/2004, los productos fitosanitarios en Uruguay se consideran como “cualquier sustancia, agente biológico o mezcla de sustancias o de agentes biológicos, destinadas a prevenir, controlar o destruir cualquier organismo nocivo, incluyendo especies no deseadas de plantas o animales o microorganismos que causan perjuicio o interferencia negativa en la producción, elaboración o almacenamiento de vegetales y sus productos”. El término incluye coadyuvantes, fitoreguladores, desecantes, y sustancias aplicadas a los vegetales antes o después de la cosecha para protegerlos contra el deterioro durante el almacenamiento y transporte (MGAP, 2004).

En este decreto, se reglamenta, además, la aplicación de estos productos por vía terrestre y de las empresas que efectúen tal actividad. En este mismo año se agrega una resolución del MGAP del 14/05/2004 sobre “Restricciones a la aplicación de productos fitosanitarios en zonas urbanas, suburbanas y centros poblados” (MGAP, 2004).

Posteriormente, la resolución 129/2008, prohíbe la aplicación de productos fitosanitarios a una distancia inferior a 30 metros de corrientes naturales de agua o fuentes superficiales de agua para aplicación aérea y 10 metros para aplicación terrestre mecanizada. Prohíbe el llenado con agua de la maquinaria de aplicación directo desde dichas corrientes o fuentes (MGAP, 2008 citada por Vida Silvestre, 2010).

Continuando con la normativa de usos de productos fitosanitarios, aparece el decreto 405/2008, donde en el artículo 1º literal A) “Para los casos específicos de siembra directa se consideran prácticas inadecuadas y sujetas a sanciones las aplicaciones de herbicidas: en los desagües naturales del terreno; fuera del área del cultivo; en predios linderos y caminos o rutas de jurisdicción departamental o nacional” (MGAP, 2008).

La última resolución, 004/581/2011, se refiere a la aplicación aérea en donde “Se prohíbe la aplicación aérea de productos fitosanitarios en todo tipo de cultivo, a una distancia inferior a 500 metros del límite del predio de centros educativos, también se prohíbe la aplicación terrestre mecanizada de productos fitosanitario en todo tipo de cultivo a una distancia inferior a 300 metros del límite del predio de centros educativos. Facultase a la Dirección de Servicios Agrícolas a disponer, previa evaluación técnica la modificación de la distancia indicada en casos específicos de aplicaciones terrestres mecanizadas” (MGAP, 2011).

Toxicidad

La toxicidad de una sustancia es su capacidad de producir una lesión en un organismo vivo. Una sustancia de alta toxicidad, causa daño, aunque se la administre en cantidades pequeñas y es de baja toxicidad cuando se debe administrar en grandes cantidades (OPS, 1971).

Una forma de medir la toxicidad es la dosis letal 50 (DL50) en ratas. Esta se define como la dosis en mg de una sustancia tóxica por kg de peso vivo a la cual mueren el 50% de los individuos de la población tratada (Silbergeld, 1998; WHO, 2009). Que una DL50 sea alta no quiere decir que sea seguro para humanos (FAO, 1994).

Según la FAO en 1996, el Glifosato es un herbicida de baja toxicidad, siendo su Dosis Letal 50 (DL50) expresada en mg/kg vía oral para rata mayor a 5000 mg/kg (FAO, 1996). Se lo ha clasificado en el grupo D de oncogenicidad y en la categoría III, por su relativa baja toxicidad aguda y por no haber indicios de carcinogenicidad en animales, respectivamente, según Environmental Protection Agency de los Estados Unidos (Martínez y col., 2007).

En marzo del 2015 la Agencia Internacional de Investigación del Cáncer (IARC) evaluó la clasificación de cinco pesticidas, entre ellos el Glifosato. Este último, fue ubicado en el grupo 2 A. Se hizo a partir de evidencia limitada por ejemplo para linfoma no Hodgkin, ya que en humanos los estudios se basan en exposiciones agrícolas, en su mayoría de EEUU, Canadá y Suecia. Se observó además que el Glifosato produjo daño en el ADN y los cromosomas de células humanas. Los residentes de una comunidad cerca de la cual se aplican formulaciones de Glifosato, mostraron aumento en los indicadores sanguíneos de daño cromosómico (micronúcleos).

Los grupos se los puede clasificar de la siguiente manera:

- 1 corresponde a cancerígeno para humanos.
- 2 A probablemente cancerígeno para humanos.
- 2 B posiblemente cancerígeno para los humanos.
- 3 no es clasificable en cuanto a carcinogenicidad para humanos.
- 4 probablemente no cancerígeno para humanos (IARC, 2006).

Antes que un herbicida ingrese al mercado debe suministrarse información que demuestre su seguridad al ser manipulado por el operario y que quien lo utilice no se encuentre bajo riesgo (FAO, 1994).

El Codex Alimentarius fija los límites máximos de residuos (LMR) para el Glifosato (FAO, 2016). (Tabla 1). El LMR se refiere a la concentración máxima de residuos de un plaguicida, expresada en mg/kg que es recomendado por el Codex Alimentarius (FAO, 1997).

Tabla 1: Límite máximo de residuo para Glifosato, año de aprobación 2006.

PRODUCTO	LMR
Caña de azúcar	2 mg/kg
Carne de ave	0.05 mg/kg
Carne diferente a mamífero marino	0.05 mg/kg
Cerdo	0.5 mg/kg
Despojo comestible de ave	0.5 mg/kg
Despojo comestible excepto cerdo	5 mg/kg
Forraje de alfalfa	500 mg/kg
Forraje seco de gramínea	500 mg/kg
Forraje seco de maíz	150 mg/kg
Huevo	0.05 mg/kg
Leche	0.05 mg/kg
Maíz	5 mg/kg
Melazas de caña de azúcar	10 mg/kg
Paja y forraje seco de avena	100 mg/kg
Paja y forraje seco de cebada	400 mg/kg
Paja y forraje seco de sorgo	50 mg/kg
Paja y forraje seco de trigo	300 mg/kg
Remolacha azucarera	15 mg/kg*
Salvado sin elaborar de trigo	20 mg/kg
Semillas de algodón	40 mg/kg
Semillas de girasol	7 mg/kg
Soja seca	20 mg/kg

Fuente: FAO (2016).

*Año de aprobación 2012.

Dada la importancia que tienen los alimentos para la salud humana y animal, es importante investigar los productos de origen vegetal, las diferentes prácticas agrícolas, ya sea en términos de calidad, contenido nutricional y residuos de pesticidas y herbicidas entre otros. En el caso de la soja, Bøhn y col., (2014) demostraron que la planta genéticamente modificada (Roundup Ready[®]) contiene niveles de residuos de Glifosato y su principal metabolito AMPA, mucho más altos que la cultivada de forma convencional y de forma orgánica.

En algunos lugares en los que se cultiva o importan productos de soja genéticamente modificada (Roundup Ready[®]) como Brasil, EEUU y Europa, ha sido incrementado el límite máximo de residuos permitidos para este cultivo. Este cambio no se basa en nuevas pruebas que indiquen que el Glifosato no es tan tóxico, sino que responden a los aumentos de residuos presentes en la soja transgénica (Bøhn y col., 2014).

Si bien la FAO (1996) consideró al Glifosato como un herbicida de baja toxicidad, algunos autores como: Lushchak y col., (2009); Langiano y col., (2008); Gluszczak y col., (2007); Çavaş y Könen (2007) coinciden en que la formulación comercial Roundup[®] (Glifosato + POEA) es más tóxica que el principio activo puro.

Al principio el Glifosato fue visto como un herbicida ideal efectivo contra las malezas y de baja toxicidad para los animales y el ecosistema, pero hay estudios que demuestran efectos adversos hacia el ecosistema terrestre y acuático (Nordgård y col., 2015).

La toxicidad aguda de este herbicida se considera baja. La DL50 del compuesto puro administrado vía oral en ratas es de 4230 mg/kg según la OMS y de 5600 mg/kg según Monsanto. Esta puede ser atribuida al modo de acción del Glifosato que interfiere un camino metabólico inexistente en animales (Possidônio y Rodríguez dos Santos, 2002).

Se ha reportado que puede impedir la función enzimática en algunos de estos, como en ratas. A pesar de su toxicidad baja, algunos de sus componentes (surfactantes) presentan mayor toxicidad que el principio activo puro (Possidônio, Rodríguez dos Santos, 2002). Algunos de estos son muy tóxicos para los animales acuáticos (Lushchak y col., 2009; Mitchell y col., 1987).

El Glifosato puede causar defectos de nacimiento en algunos animales cuando se lo administra a dosis elevadas por un tiempo prolongado (Possidônio y Rodríguez dos Santos, 2002). Se han hecho estudios de toxicidad crónica sobre el estrés oxidativo, dando por resultado un aumento de este, en peces de la especie *Piaractus brachipomus* (Cachama blanca) (Rondón-Barragán y col., 2012).

Samsel y Seneff (2016) reportaron que el Glifosato al ser un aminoácido sintético puede ser integrado por error en las cadenas pépticas, formando parte de las proteínas. Esto conduce a la interrupción de la función de muchas proteínas esenciales importantes para el metabolismo y los procesos de regulación, con consecuencias desconocidas. Cuando el Glifosato sustituye a la glicina, en el proceso de síntesis enzimática da lugar a la formación de enzimas defectuosas, causando enfermedades metabólicas tales como diabetes, obesidad e hipotiroidismo (Samsel y Seneff 2016).

Toxicidad en animales acuáticos

Grisolia (2002) descubrió que Roundup® aumenta la frecuencia de aparición de micronúcleos en eritrocitos de pez *Tilapia rendalii*, mientras que la misma dosis no afecta a ratones. Este autor utilizó ensayos de micronúcleos que es un método ampliamente difundido para la medición estructural y numérica de cambios cromosómicos *in vivo* o *in vitro* (Bolognesi y Cirillo, 2014). Los micronúcleos son fragmentos nucleares remanentes en el citoplasma después de ser expulsados del núcleo principal en la eritromaduración (Fernández y col., 2005). Otros autores como, Neškovic y col., (1996); Jiraungkoorskul y col., (2002); Abu Mourad y col., (2005); Çavaş y Könen (2007); Stoyanova y col., (2015), han realizado estudios histopatológicos y bioquímicos con diferentes formulaciones de Glifosato (Roundup® surfactante POEA, Roundup Rodeo® surfactante MONO818, NASA 360 SL® a base de Glifosato, N- fosfometil glicina) en diferentes años y diferentes especies.

En los diversos estudios, se observaron alteraciones en diferentes partes del organismo, como branquias, hígado y riñón. También se encontraron alteraciones a nivel enzimático sobre todo en las transaminasas. Experimentos en embriones de pez *Xenopus laevis*, con bajas dosis de Glifosato mostraron alteraciones cefálicas, en el desarrollo de la cresta neural y microcefalia. Las mismas se explican por un aumento de la actividad del ácido retinoico promovida por el Glifosato (Paganelli y col., 2010).

En los estudios consultados para este trabajo, no se encontraron datos sobre residuos de glifosato en musculo de peces.

Pez Cyprinus carpio L (Carpa común)

En los referente a especies exóticas se incluyen la carpa común *Cyprinus carpio L*, que se ha difundido por diversos cursos de agua del país La mayoría de la carpa se consume en el país (DINARA, 2002). Sobre la base de varios ensayos sobre el procesamiento de carpa común llevado a cabo en Europa, se reveló que los peces vivos o en fresco son requeridos por el mercado (Figura 5), (FAO, 2017).



Figura 5: Pez *Cyprinus carpio L* (Fuente: FAO, 2017).

Stoyanova y col., (2015) reportaron lesiones degenerativas y necróticas en parénquima hepático en la carpa común, que aumentaron proporcionalmente al aumento de la concentración de Glifosato (NASA 360 SL[®]) (figura 6). Paralelamente midió la actividad de las enzimas hepáticas de los peces expuestos encontrándose que: *lactato deshidrogenasa* (LDH) aumentó su actividad respecto al control mientras que *aspartato aminotransferasa* (ASAT) y *alanina aminotransferasa* (ALAT) se vieron disminuidas (Tablas 2 y 3).

Neškovic y col., (1996) realizaron pruebas en esta misma especie sobre toxicidad aguda a diferentes concentraciones de Glifosato: 400; 500; 600; 700 y 800 mg/l durante 96 hs. La mortalidad se registró luego de las 48 hs. Al mismo tiempo realizaron ensayos de toxicidad subaguda, para análisis histopatológicos y bioquímicos utilizando corazón, hígado, riñones, branquias y suero, encontrando una alta toxicidad subaguda (figura 7).

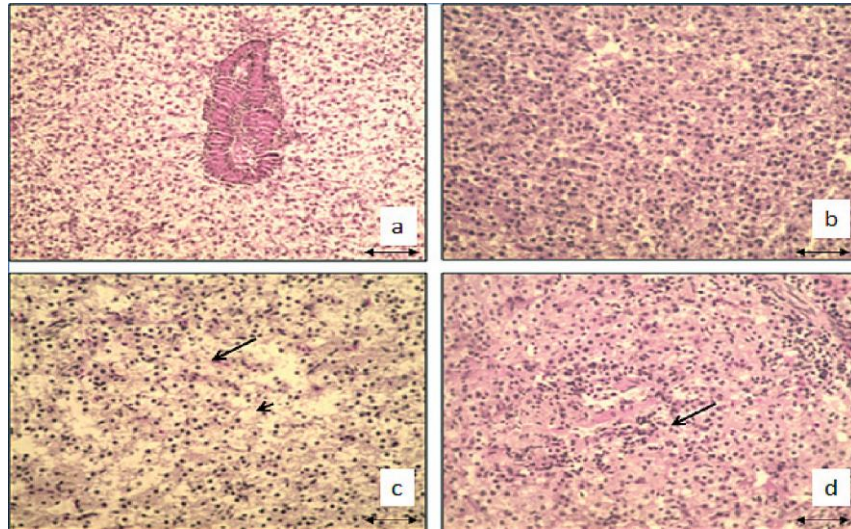


Figura 6: Alteraciones del hígado en la carpa común (*Cyprinus carpio*), luego de exposición a diferentes dosis de Glifosato. A: Control (hígado). B: Hígado de pescado expuesto a 20 mg/l. presenta degeneración granular. C: Hígado de pescado expuesto a 40 mg/l. presenta degeneración grasa y degeneración globular. D: Hígado de pescado expuesto a 72 mg/l. presenta proliferación de linfocitos (Fuente: Stoyanova y col., 2015).

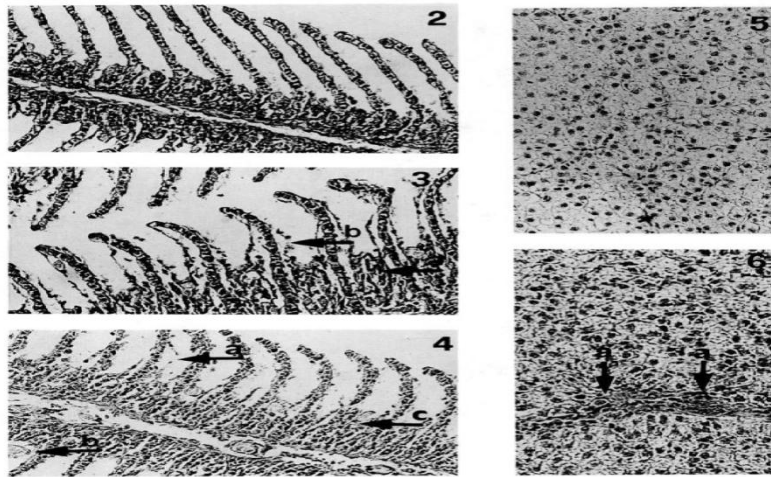


Figura 7: Alteraciones en branquias e hígado de la carpa común (*Cyprinus carpio*), expuestos a diferentes concentraciones de Glifosato. 2: Control (branquias). 3: Branquias de los peces expuestos a 5 mg/l de concentración de Glifosato, en flecha a se observa hiperplasia del epitelio, en la flecha b se observa edema subepitelial. 4: Branquias de los peces expuestos a 10 mg/l de concentración de Glifosato. En la flecha a se observa aumento del epitelio con infiltración de linfocitos, en la flecha b hipertrofia de células de cloruro, en la flecha c hiperplasia epitelial. 5: Control (hígado). 6: Hígado expuesto a concentración de 10 mg/l de concentración de Glifosato. En la flecha a se observa fibrosis focal (Fuente: Neškovic y col., 1996).

Tabla 2: Alteraciones histológicas en hígado de Carpa común post exposición a Glifosato.

Alteraciones histológicas	Concentración de Glifosato			
	Control	20 mg/l	40 mg/l	72mg/l
Degeneración granular	-	++	++	+++
Degeneración globular	-	+	+	++
Degeneración grasa	-	+/-	+/-	+/-
Alteraciones necróticas:				
Cariopcnosis	-	+/-	+/-	+/-
Cariolisis	-	+/-	+/-	+/-
Necrosis	-	+/-	+/-	+
Alteraciones a nivel circulatorio:				
Proliferación linfocitaria	-	+/-	+	+
Hiperemia	-	+/-	+/-	+/-

(-) s/ alteraciones histológicas; (+/-) leves; (+) moderada; (++) – severas; (+++) graves alteraciones en la morfología hepática (Adaptado de Stoyanova y col., 2015).

Tabla 3: Actividad de enzimas hepáticas: LDH, ASAT, ALAT, luego de exposición a Glifosato.

Concentración de Glifosato	Respuesta enzimática U/mg de proteína en el hígado de la carpa común		
	LDH	ASAT	ALAT
Control	0.3±0.05	0.53±0.07	0.56±0.05
20 mg/l	1.24*±0.05	0.32±0.05	0.41±0.04
40 mg/l	1.03*±0.06	0.25*±0.05	0.29*±0.04
72 mg/l	0.89*±0.06	0.14*±0.05	0.09*±0.006

*Actividad enzimática significativamente diferente a la del control ($p < 0.05$) (Fuente: Stoyanova y col., 2015).

Pez Oreochromis niloticus (Tilapia del Nilo)

La tilapia se produce más económicamente en los países tropicales y subtropicales, que tienen temperaturas favorables para el crecimiento, se la utiliza para el consumo, por lo tanto tilapia producida en los países templados se venden generalmente en el mercado de pescado vivo, donde los precios más altos se pueden obtener.



Figura 8: *Pez Oreochromis niloticus* (Fuente: FAO, 2017).

Se investigaron los efectos tóxicos del Roundup® en esta especie, así como la diferencia en la sensibilidad a Glifosato entre Tilapia adulto y joven, siendo este último el más susceptible. Es una de las principales especies a nivel comercial en Tailandia, se cultivan cerca de estanques situados alrededor de las áreas que utilizan Roundup®. Tanto en Tilapias adultas como jóvenes, se observaron alteraciones morfológicas a nivel del riñón, así como daños a nivel hepático y branquial; ya mencionadas anteriormente (Jiraungkoorskul y col., 2002).

Ayoola (2008) observó además de las alteraciones ya mencionadas, efectos adversos a nivel cerebral en Tilapias jóvenes; como nado errático, falta de equilibrio, inquietud, secreción excesiva de moco. Algunos cambios histopatológicos expuestos a diferentes concentraciones del Glifosato se pueden observar en la Figura 9.

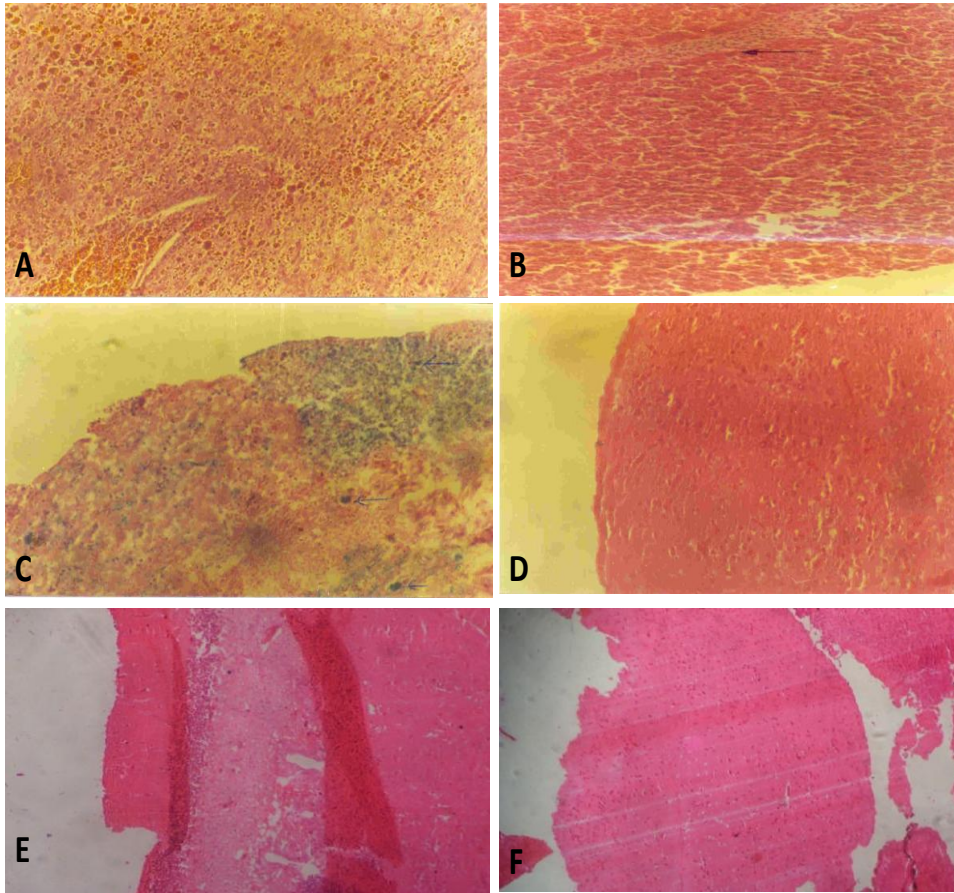


Figura 9: Alteraciones histopatológicas del riñón en figura A, B, C y alteraciones histopatológicas del cerebro en figura D, E, F; ambos en 96 horas a diferentes concentraciones de Glifosato en la Tilapia del Nilo. A: Sección de riñón: control. B: Sección de riñón: expuesto a 96 hs a 97 mg/l. Muestra exfoliada picnosis grave. C: Sección de riñón: expuesto a 96 hs a 310 mg/l. Muestra vacuolas pequeñas, gotas hialinas (flecha) y picnosis grave. D: Sección de cerebro: control. E: Sección de cerebro: expuesto a 96 hs a 30 mg/l. Presenta espongiosis. F: Sección de cerebro: expuesto a 96 hs a 310 mg/l. Presenta espongiosis severa (Adaptado de Ayoola, 2008).

Pez Rhamdia quelen (Bagre de plata)

Esta especie se encuentra distribuida en diferentes países, extendiéndose por el Río Uruguay. Su comercialización es localizada en regiones donde se encuentra naturalmente, se lo utiliza para consumo, posee carne blanca de buena textura y alto rendimiento de entero a filete o posta (Figura 10) (FAO, 2010).



Figura 10: Pez *Rhamdia quelen* (Fuente: FAO, 2017).

En estos peces de agua dulce, fueron estudiados los efectos de la formulación de Glifosato Roundup® a corto plazo, sobre los parámetros metabólicos y enzimáticos, en hígado, músculo y cerebro. En el músculo los niveles de glucógeno y proteínas se redujeron luego de la exposición y los niveles de glucosa, lactato y amoníaco aumentaron (Tabla 4). En hígado mostraron un aumento del glucógeno, lactato, proteínas y amoníaco, así como la glucosa disminuyó (Tabla 5). En el cerebro se alteró la concentración de acetilcolinesterasa, no así en músculo (Gluszczak y col., 2007).

Tabla 4: Metabolito del músculo blanco de *Rhamdia quelen* expuestos a diferentes concentraciones de Glifosato en 96 horas.

Musculo blanco	Control	0.2 mg/l	0.4 mg/l
Glucosa	1.61±0.14	2.02±0.15	2.15±0.14
Glucógeno	5.18±0.50	3.90±0.60	4.35±0.40
Lactato	12.30±1.35	15.00±1.37	18.36±1.17
Proteína	243.1±1.34	218.4±1.30	215.2±1.24
Amoníaco	0.012±0.001	0.014±0.001	0.014±0.001

(Fuente: Gluszczak y col., 2007).

Tabla 5: Metabolitos hepáticos de *Rhamdia quelen* expuestos a diferentes concentraciones de Glifosato en 96 horas.

Hígado	Control	0.2 mg/l	0.4 mg/l
Glucosa	17.04±0.37	12.24±0.88	9.99±0.41
Glucógeno	82.85±0.75	91.69±0.20	92.16±0.72
Lactato	5.04±0.34	6.20±0.48	6.52±0.37
Proteína	225.5±1.15	256.3±1.13	271.2±1.12
Amoníaco	0.06±0.03	0.08±0.04	0.08±0.05

(Fuente: Gluszczak y col., 2007).

Pez Carassius auratus (peces de colores)

Son peces de acuario, de agua fría, originarios de China. Los hay de variadas formas, tamaños y colores, hoy en día se encuentran en todas partes del mundo incluyendo Uruguay (Figura 11) (FAO, 2017).



Figura 11: Pez *Carassius auratus* (Figura: FAO 2017).

Esta especie de pez ornamental se comercializa en varios países entre ellos Turquía (Çavaş y Könen, 2007) y Ucrania (Lushchak y col., 2009), se caracteriza por ser sensible a los productos genotóxicos. Esto lleva a que haya una creciente preocupación por la presencia de genotoxinas acuáticas en estos países (Çavaş y Könen, 2007). En este sentido, además de realizar ensayos de micronúcleos, se utilizó otra técnica conocida como ensayo cometa. Este tipo de ensayo, se basa en una técnica rápida y sensible, muy utilizada para evaluar la genotoxicidad de diferentes agentes, en donde se detectan roturas de la cadena de ADN (Bolognesi y Cirillo, 2014; Piancini y col., 2015).

Los ensayos de micronúcleos, permiten observar anomalías morfológicas nucleares, incluyendo núcleos globulares, núcleos con muesca, células binucleadas, núcleos lobulados, que son caracterizadas dentro de los daños genotóxicos. En el ensayo cometa, se cuantifica el ADN de forma visual y se lo clasifica como cometa, correspondiendo a la longitud de la cola. En ambos ensayos, la frecuencia de los micronúcleos aumentó al aumentar la concentración de Glifosato, así como el largo de la cola del cometa, mostrando un daño completo (Çavaş y Könen, 2007) (Figura 12). Se han realizado también estudios sobre los antioxidantes y sobre los niveles de estrés oxidativos en hígado, riñón y cerebro (Figura 13) (Lushchak y col., 2009).

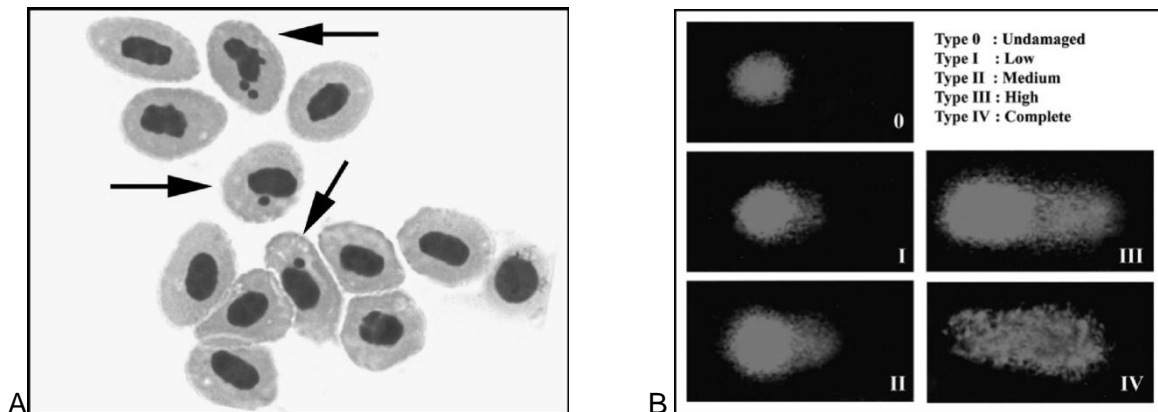


Figura 12: Microfotografía de los micronúcleos en los eritrocitos *Carassius auratus*; B: Microfotografías de formaciones de cometas en los eritrocitos de *Carassius auratus*: 0 - sin daño; I - menor daño; II - daño medio; III - daño grave; IV - daño completo. (Fuente: Çavaş y Könen, 2007).

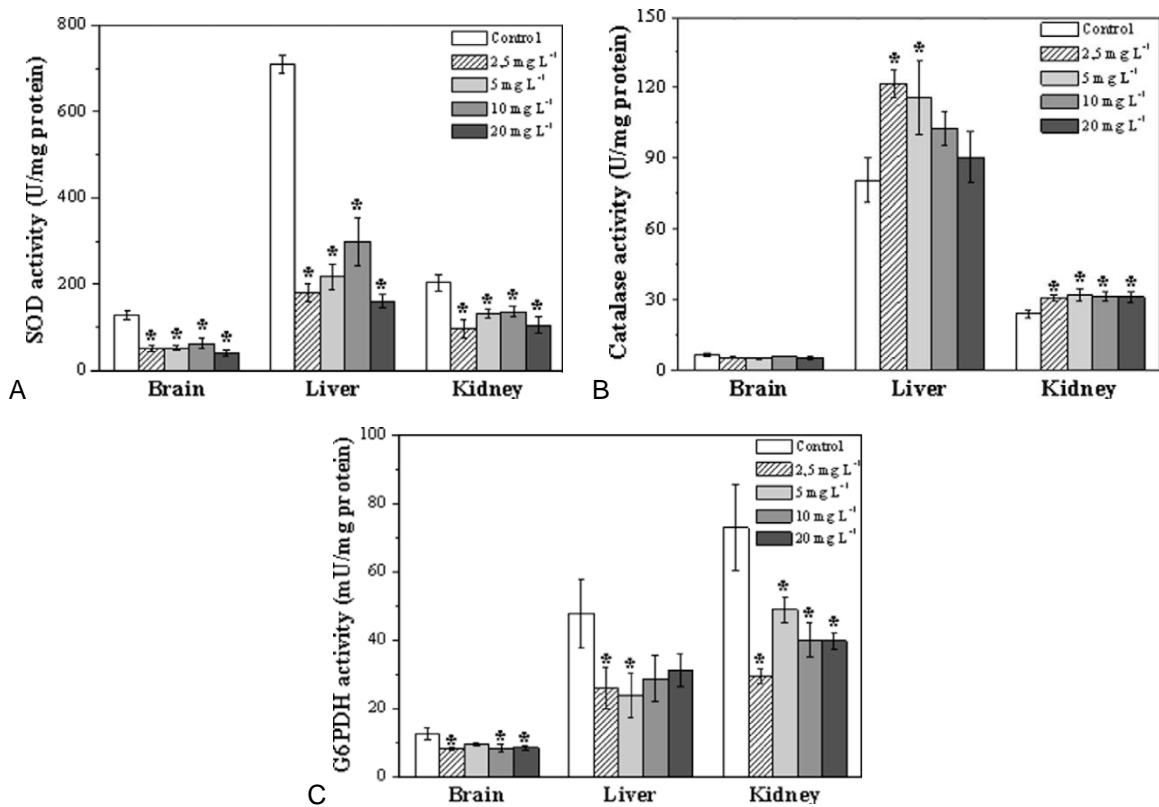


Figura 13: Efectos de la exposición al Roundup® a diferentes concentraciones en 96 horas, en *Carassius auratus*, en el hígado, riñón y cerebro. A: actividad de la enzima superóxido dismutasa, B: catalasa en los diferentes tejidos, C: efectos en la glucosa 6 fosfato deshidrogenasa en los diferentes tejidos (Fuente: Lushchak y col., 2009).

Pez Prochilodus lineatus (Sábalo o Curimbatá)

Esta especie se distribuye por toda la cuenca del Río de la Plata, constituye la principal fuente alimenticia de las grandes especies ictiófagas como el *Salminus* y el *Pseudoplatystoma*, lo que le otorga un gran valor como recurso para la sostenibilidad de la pesca comercial y deportiva, también para consumo humano (Figura 14) (FAO, 2010).



Figura 14: Pez *Prochilodus lineatus* (Fuente: FAO, 2010).

Langiano y Martínez (2008), estudiaron esta especie, determinando que la misma es más sensible al Roundup[®] que la trucha arco iris (*Oncorhynchus mykiss*) y que el salmón del atlántico (*Salmo salar*). Observando además que la concentración letal 50 (CL50) a 96 hs de exposición para esta especie es de: 13,69 mg/l. También realizaron ensayos de toxicidad a corto plazo (6, 24 y 96 hs), con concentraciones sub letales (7,5 y 10 mg/l), reportando que no hubo interferencia de Roundup[®] con el equilibrio iónico ni con los niveles de cortisol en plasma de los peces expuestos. Sin embargo, se observó un aumento de la glucosa plasmática y en la actividad de la catalasa hepática en los peces expuestos a 10 mg/l lo que fue interpretado como una respuesta típica al estrés. Además, en este grupo se encontraron diversas alteraciones histológicas en el parénquima hepático (Figura 15).

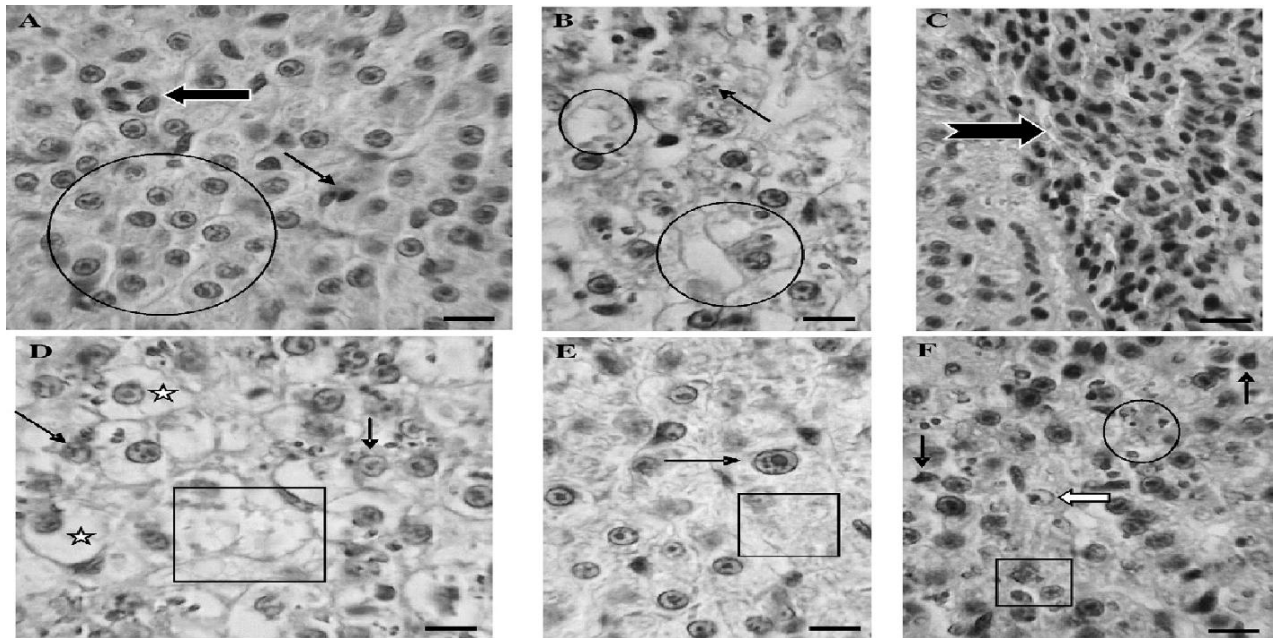


Figura 15: Microfotografía de tejido hepático de *Prochilodus lineatus* expuesto a Roundup® a diferentes concentraciones en 24 y 96 horas A: Control: se observan en el círculo los hepatocitos, en las flechas fina sinusoide y en flecha gruesa canalículo biliar, B: Estancamiento biliar en la flecha y en círculo vacuolas en el citoplasma, en 24 horas a 10 mg/l. C: Hiperemia en flecha, en 24 horas a 7,5 mg/l. D: Degeneración citoplasmática en el rectángulo, degeneración nuclear en flecha, hipertrofia celular en estrella, en 24 horas a 10 mg/l. E: Hipertrofia nuclear en la flecha, degeneración citoplasmática en el rectángulo, en 24 hora a 7.5 mg/l. F: Vacuolas en el núcleo en la flecha, en el círculo estancamiento biliar, núcleos picnóticos en flecha y degeneración nuclear en rectángulo, en 96 horas a 7.5 mg/l. (Fuente: Langiano y Martínez, 2008).

Estudios realizados a renacuajos y ranas

En estudios de toxicidad aguda realizados en renacuajos *Scinax nasicus*, con una formulación comercial que contiene (48% de Glifosato como sal isopropilamina y surfactante POEA como ingrediente inerte). Se expuso los renacuajos a diferentes concentraciones de esta fórmula, durante un lapsus de tiempo variable, observándose que, a mayor tiempo en contacto con ésta, mayor la mal formación observada. El extremo del cartílago branquial aparece como una delgada lámina manchada (figura 16 y 17) (Lajmanovich y col., 2003).

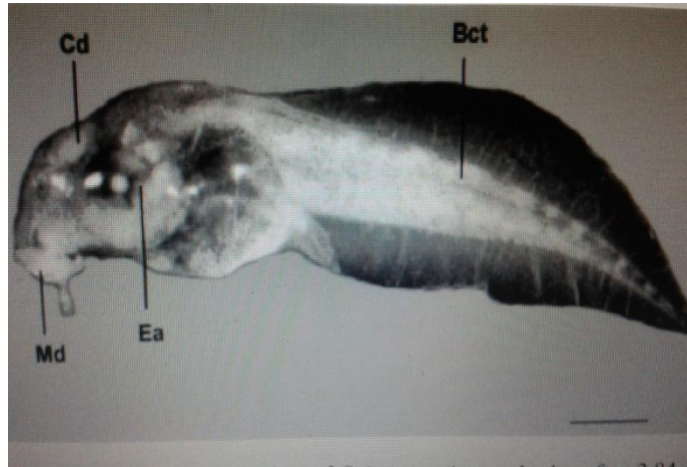


Figura 16: Mal formación externa de renacuajo *Scinax nasicus* después de 3.85 mg/l de Glifosato en 24 horas. Cd: deformidad craneal, Md: deformidad de boca, Ea: anomalías de ojo, Bct: colas curvas dobladas (Fuente: Lajmanovich y col., 2003).

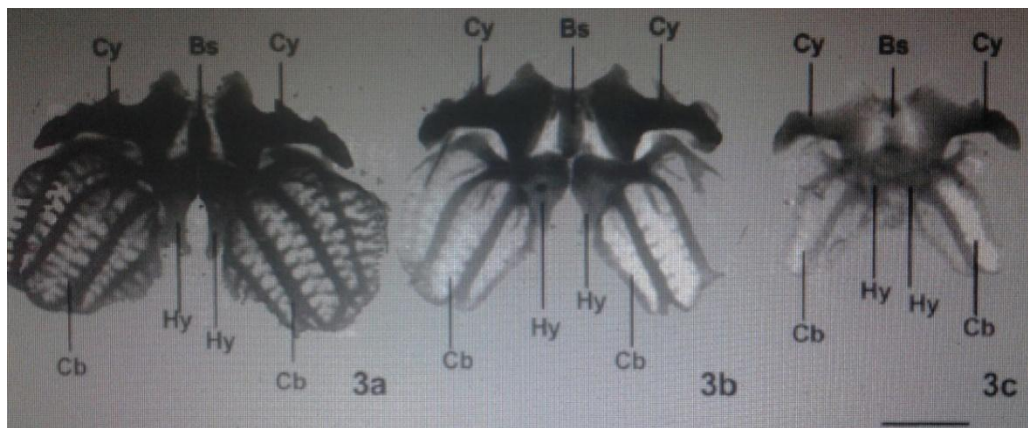


Figura 17: Alteraciones del esqueleto visceral, en renacuajos *Scinax nasicus*. En 3a) control: arco braquial normal; 3b) 4.8 mg/l de Glifosato en 48 horas: pérdida de tamaño del arco cartilágneo; 3c) 6 mg/l de Glifosato en 48 horas hay ausencia del arco cartilágneo (Fuente: Lajmanovich y col., 2003).

Relyea (2005) investigó los efectos tóxicos del Roundup® en varias especies de anuros de América del Norte, tanto en medio acuático como terrestre, con el fin de emular las condiciones de campo donde se aplica el pesticida, ya que pensaba que a diferencia de lo que ocurre con las pruebas de laboratorio en el campo la presencia de suelo podría absorber los residuos de herbicida. También utilizó dos diferentes etapas de desarrollo de estos anuros: larvas y juveniles para observar diferencias en la sensibilidad de las mismas.

Los anfibios fueron expuestos a una aspersión directa de Roundup®. Luego de 3 semanas el herbicida mató entre el 96 y el 100% de las larvas independientemente de la presencia y tipo de suelo. En cuanto a las etapas juveniles (post-metamórficas), un día después de una aspersión directa se reportó la muerte de entre el 68 y 86% de los anfibios expuestos. Concluyó que el herbicida Roundup® puede provocar tasas altas de mortalidad en anfibios y afectar la población de los mismos (Relyea, 2005).

Sin embargo, cuando Edge y col., (2011) investigaron los efectos de un herbicida en base a Glifosato (VisionMax®) en ranas verdes (*Lithobates clamitans*) jóvenes no observó efectos deletéreos significativos sobre la condición corporal y supervivencia.

Reptil: Caimán latirostris (Caimán overo)

Es una especie que habita en Argentina (Figura 18), su período de reproducción coincide con la aplicación del herbicida (Roundup®). Poletta y col., (2009) expusieron a varios huevos a diferentes concentraciones de dicho herbicida, en la eclosión se obtuvieron muestras de sangre de los animales, se hizo ensayo de micronúcleos y ensayo cometa, para evaluar el daño de ADN, determinando que a mayor concentración mayor daño.



Figura 18: Reptil *Caimán latirostris* (Fuente: Poletta, 2011).

Crustáceo: Cherax quadricarinatus (Cangrejo de garra roja)

Es un crustáceo de agua dulce nativo del Norte de Australia, (Figura 19) también encontrándose en otros países, de rápido crecimiento, se adapta a diferentes climas y puede alcanzar a los 350 g. Se cultiva en estanques cavados en el suelo, en zonas cercanas a cultivos donde se utilizan pesticidas. Frontera y col., (2011) examinaron los efectos de la exposición a diferentes concentraciones de Glifosato y POEA. Utilizaron en el ensayo Glifosato, POEA ambos por separado y una formulación comercial de Glifosato + POEA. En todos los casos se observó disminución del peso corporal, disminución del glucógeno muscular y reserva de lípidos.



Figura 19: Crustáceo: *Cherax quadricarinatus* (Fuente: FAO, 2017).

Estudios realizados en bovinos y aves

Se han realizado diferentes estudios en vacas lecheras por parte de autores como: Ackermann y col., (2015); Schrödl y col., (2014); Krüger y col., (2013a); Krüger y col., (2013b). En diferentes países se han detectado enfermedades no específicas que afectan al ganado lechero y que podrían estar vinculadas al consumo de alimentos con residuos de Glifosato; se observaron síntomas de indigestión no infecciosa, laminitis crónica, caquexia, apatía, abdomen retraído, edema y muerte súbita.

Para evaluar la relación entre la ingesta de alimento con residuos de Glifosato y la aparición de patologías en el ganado lechero Krüger y col., (2013a) midieron la excreción de Glifosato en orina y su relación con la composición bioquímica del suero, en ocho tambos diferentes. Se midieron enzimas indicadoras de citotoxicidad tales como fosfatasa alcalina (AP), creatinín quinasa (CK) y glutamato deshidrogenasa (GLDH) además de indicadores de nefrotoxicidad como urea y creatinina. En todos los casos se comprobó la excreción de cantidades significativamente diferentes de Glifosato en orina y la relación de la misma con el aumento de los indicadores de citotoxicidad y de los niveles de urea (Figura 20).

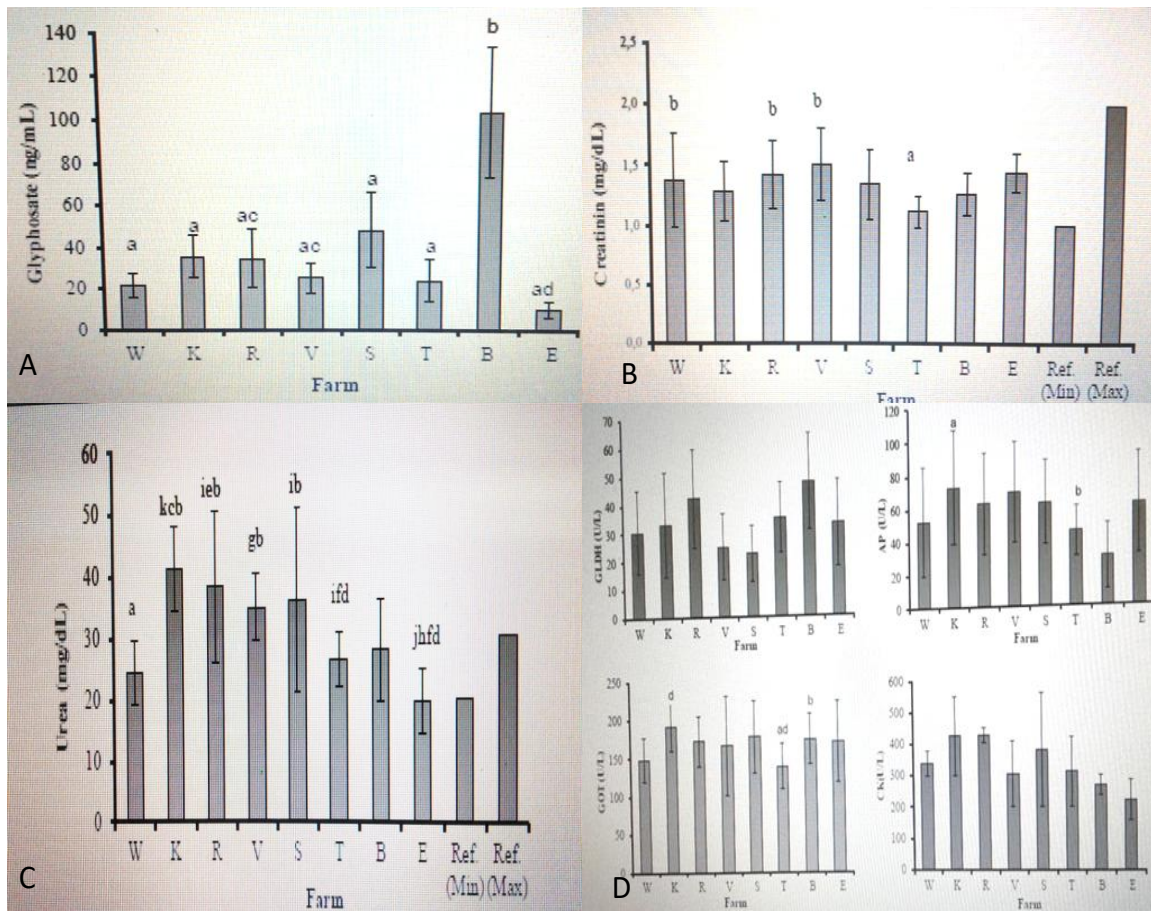


Figura 20: Glifosato en orina de vaca lechera, diferencia entre las diferentes granjas; B: Creatinina en el suero sanguíneo de vaca lechera; C: Urea en suero de vaca lechera; D: Niveles de enzimas glutamato deshidrogenasa, creatininquinasa, glutamato oxalacetato transaminasa, fosfatasa alcalina y en vacas lecheras, en diferentes valores de referencia (Fuente: Krüger y col., 2013a).

En otro estudio se investigaron las características de la población micológica ruminal (de vacas lecheras) en relación a la concentración de Glifosato en orina, se observó que a mayor concentración de Glifosato en orina aumentó la actividad micótica (*Mucorales* totales como *Lichtheimian corymbifera* y *Rhizopus*) lo que sugiere que el Glifosato modula la actividad micótica (Schrödl y col., 2014).

Krüger y col., (2013b) realizaron un estudio en ganado bovino, analizando como la ingesta de Glifosato produjo alteraciones en la flora ruminal, donde se produjo un aumento en la población de *Clostridium botulinum* y la consecuente aparición de neurotoxina. Este aumento, debido a la disminución de las bacterias ácido láctico como lactobacilos, lactococos y enterococos que producen bacteriocinas eficaces contra este. Se cree que la causa puede ser el desequilibrio en la población de *C.botulinum*, el mismo puede ingresar con el alimento contaminado, pero esto no causa la intoxicación ya que el ácido láctico producido por las bacterias saprofitas lo puede inhibir. Los cambios en la composición de la microbiota del tubo gastrointestinal pueden favorecer el aumento de *C. botulinum* (Ackermann y col., 2015).

El *Enterococcus faecalis* (habitante normal) puede generar una enterotoxina eficaz contra *C. botulinum* spp, esta puede ser inhibida por el Glifosato (Roundup Ultra Max[®]), la concentración de Glifosato necesaria para suprimir el crecimiento de *C. botulinum* spp es de 10 a 100 veces más alta que la concentración necesaria para suprimir a *Enterococcus faecalis*, esto sugiere que el Glifosato podría ser un factor predisponente a enfermedades causadas por el *Clostridium botulinum* spp (Krüger y col., 2013b).

En 2013 Shehata y col., estudiaron como afecta el Glifosato a la flora intestinal de las aves, se encontró que las especies patógenas como por ejemplo Salmonella spp, Clostridium spp son más resistentes a este, que las no patógenas, y por ende la ingesta de dosis bajas de Glifosato con el alimento podría alterar el equilibrio de la flora microbiana.

Cuando Ackermann y col., (2015) utilizaron fluido ruminal de vacas Holstein-Friesian de 4 años en un ensayo de fermentación *in vitro*, concluyeron que el Glifosato causa disbiosis a nivel ruminal que favorece la producción de toxina botulínica. En la siguiente imagen se puede apreciar que luego de la exposición disminuye la población de *Ruminococcus albus* que es saprofita, y como consecuencia aumenta la del *Clostridium histoliticum* que es patógeno (Figura 21).

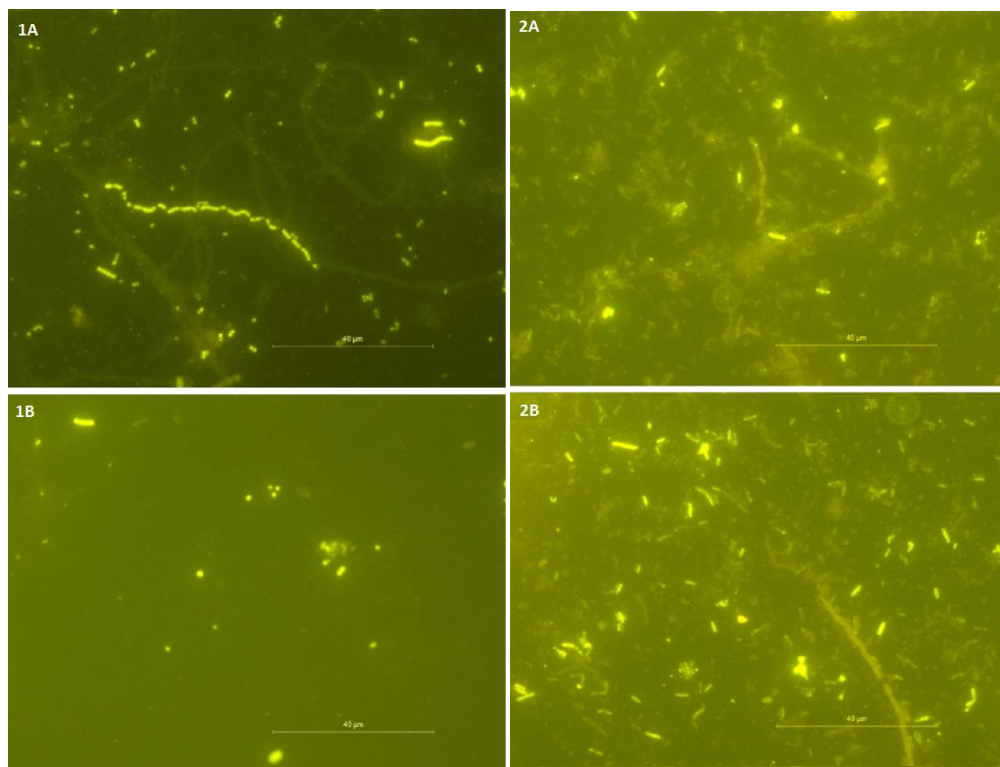


Figura 21: Apariencia del marcador rfla129 que detecta a *Ruminococcus albus* en dieta. A: control y B: tratada con 10 ng/ml de Glifosato e incubada 48 hs. 2: Apariencia del marcador Chis150 que detecta *Clostridium histoliticum* en dieta. A: control y B: tratada con 10 ng/ml de Glifosato e incubada 48 hs (Fuente: Ackermann y col., 2015).

En los estudios consultados para este trabajo, no se encontraron datos sobre residuos de glifosato en leche de bovinos.

Estudios realizados en animales de laboratorio

Dallegrave y col., (2007) utilizaron Glifosato Roundup® para evaluar los efectos del mismo sobre parámetros reproductivos en crías de ratas Wistar expuestas durante la gestación y lactancia. Se administró por vía oral diferentes concentraciones: 50, 150, 450 mg/kg de Glifosato. No se demostró toxicidad para la hembra gestante, pero si para las crías macho, en las que se observaron diferentes problemas como disminución del número de espermatozoides en la cola del epidídimo, espermatozoides anormales y disminución en la concentración de testosterona sérica en la pubertad.

Previamente Dallegrave y col., (2003) expusieron ratas Wistar gestantes a dosis orales de 500, 750 y 1000 mg/kg de Glifosato entre el día 6 al 15 de gestación con el fin de evaluar posibles efectos teratogénicos. Reportaron una mortalidad del 50% en las hembras expuestas a 1000 mg/kg. En cuanto a los fetos, observaron porcentajes crecientes de malformaciones coincidentes con el aumento de la dosis aplicada, lo que los llevo a concluir que el Glifosato es potencialmente teratogénico.

Martini y col., (2016) investigaron en ratas el efecto del Glifosato sobre un gen: proliferador de peroxisoma receptor activado (PPAR gamma), este se considera el gen maestro en la adipogenesis. Sobre este gen se utilizó Glifosato puro y una presentación comercial que no se da a conocer. Se reporto que la presentación comercial de Glifosato fue capaz de inhibir el gen PPAR, sin embargo, cuando se usó Glifosato puro la inhibición se produjo a una dosis mucho mayor. En las células 3T3-L1 en crecimiento exponencial el Glifosato aumentó la peroxidación de lípidos y la actividad de la enzima antioxidante superóxido dismutasa. Los autores concluyeron que el Glifosato es capaz de inhibir la proliferación y diferenciación de preadipocitos y de inducir estrés oxidativo.

CONCLUSIONES

Al analizar los materiales bibliográficos consultados, se destacaron una variedad de efectos tóxicos asociados a la aplicación de Glifosato, metabolitos, diferentes formulaciones y marcas comerciales sobre algunas especies animales. En diversos estudios en anfibios, animales de laboratorio y huevos de reptiles se observaron efectos significativos sobre la condición corporal, supervivencia, daño de ADN e inducción de estrés oxidativo. En cuanto al ganado bovino, en diferentes países se han detectado enfermedades no específicas que afectan al ganado lechero y que podrían estar vinculadas al consumo de alimentos con residuos de Glifosato.

El uso masivo de Glifosato en los cultivos destinados al consumo humano o animal, plantea la necesidad de la realización de estudios que cuantifiquen los residuos de Glifosato en los alimentos de origen vegetal y animal. Además de acuerdo a las diversas evidencias bibliográficas analizadas, se desprende la necesidad de realizar estudios de toxicidad a largo plazo, con el fin de ahondar en los conocimientos relacionados a los efectos deletéreos para la salud de dicho plaguicida.

BIBLIOGRAFÍA

- 1) Abu-Mourad I M K, EL-Maaddawy S A, Kenawy A M (2005). Toxicity Evaluation of Glyphosate Herbicide on Catfish (*Clarias gariepinus*). *Egypt. J. Exp, Biol.* 1: 87-93.
- 2) Ackermann W, Coenen M, Schrödl W, Shehata A A, Krüger M (2015). The influence of glyphosate on the microbiota and production of botulinum neurotoxin during ruminal fermentation. *Curr Microbiol.* 70: 374-382.
- 3) Alibhai M F, Starlings W C (2001). Closing down on glyphosate inhibition - with a new structure for drug discovery. *Proc Natl Acad Sci.* 98(6): 2944-2946.
- 4) Ayoola S O (2008). Toxicity of glyphosate herbicide on Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) juvenile. *African J of Agric Res.* 3(12): 825-834.
- 5) Baylis A D (2000). Why glyphosate is a global herbicide: strengths, weaknesses and prospects. *Pest Manag Sci.* 56: 299-308 p.
- 6) Bellé R, Marc J, Morales J, Cormier P, Mulner-Lorillon O (2012). Letter to the Editor: Toxicity of Roundup Glyphosate. *J of Toxicol and Environm Health, B: Crit Rev.* 15: 233-235.
- 7) Bøhn T, Cuhra M, Traavik T, Sanden M, Fagan J, Primicerio R (2014). Compositional differences in soybeans on the market: Glyphosate accumulates in Roundup Ready GM[®] soybeans. *Food Chemistry.* 153: 207-215.
- 8) Bolognesi C, Cirillo S (2014). Genotoxicity biomarkers in aquatic bioindicators. *Current Zoology.* 60(2): 273-284.
- 9) Bozzo de Brum M A (2010). Persistencia del Glifosato y efectos de sucesivas aplicaciones en el cultivo de soja en agricultura continua en siembra directa sobre parámetros biológicos del suelo. Tesis en ciencias ambientales. Facultad de Ciencias. 124 p.
- 10) Burger M, Fernández S (2004). Exposición al herbicida Glifosato: aspectos clínicos toxicológicos. *Revista Medica Uruguay.* 20: 202-207.
- 11) Çavaş T, Könen S (2007). Detection of cytogenetic and DNA damage in peripheral erythrocytes of goldfish (*Carassius auratus*) exposed to glyphosate formulation using the micronucleus test and the comet assay. *Mutagenesis.* 22 (4): 263-268.
- 12) Dellegrave E, Di Giorgio Mantese F, Soares Coelho R, Drawans Pereira J, Roberto Dalsenter P, Langeloh A (2003). The teratogenic potential of the herbicide glyphosate Roundap in wistar rats. *Toxicology letters.* 142: 45-52.

- 13) Dellegrave E, Mantese F D, Oliveira R T, Andrade A J M, Dalsenter P R, Langeloh A (2007). Pre- and postnatal toxicity of the commercial glyphosate formulation in Wistar rats. *Arch Toxicol.* 81: 665-673.
- 14) DGSA- MGAP (2014). Datos estadísticos de importación 2014. Disponible en <http://www.mgap.gub.uy/DGSA>. Fecha de consulta: 17/8/2015.
- 15) DIEA – MGAP (2015). Anuario Estadístico Agropecuario 2015. Disponible en <http://www.mgap.gub.uy/DIEA>. Fecha de consulta: 20/3/2016.
- 16) DINARA (2002). Peces Del Uruguay. Lista sistemática y nombres comunes. Disponible en: http://www.mgap.gub.uy/sites/default/files/multimedia/1954_peces_del_uruguay___lista_sistematica_y_nombres_comunes.pdf. Fecha de consulta: 27/04/2017.
- 17) Edge C B, Gahl M K, Pauli B D, Thompson D G, Houlahan J E (2011). Exposure of juvenile green frogs (*Lithobates clamitans*) in littoral enclosures to a glyphosate-based herbicide. *Ecotoxicology and Environmental Safety.* 74: 1363-1369.
- 18) Eslava Mocha P R, Ramírez Duarte W F, Rondon Barragán IS (2007). Sobre los efectos del Glifosato y sus mezclas: Impacto en peses nativos. Unillanos. Editorial Juan XXIII Villavicencio. Colombia, 150 p.
- 19) European Commission (2001). Commission working document - does not necessarily represent the views of the Commission services. Directorate E- Food Safety: plant health and welfare, international questions E 1-Plant health Glyphosate 6511/VI/99-final. Disponible en: http://ec.europa.eu/ipg/basics/legal/notice_copyright/notices_disclaimers/index_en.htm. Fecha de consulta: 10/5/2016.
- 20) FAO (1996). Manejo de malezas para países en desarrollo. Disponible en: <http://www.fao.org/docrep/t1147s/t1147s00.htm#Contents>. Fecha de consulta: 16/8/2015.
- 21) FAO (1997). Comisión del Codex Alimentarius. Manual de procedimiento. Decima edición. Disponible en: <http://www.fao.org/docrep/w5975s/w5975s00.htm#Contents>. Fecha de consulta: 16/8/2015.
- 22) FAO (2001). Specifications and evaluations for plant protection products. Disponible en: http://www.fao.org/fileadmin/templates/agphome/documents/Pests_Pesticides/Specs/glypho01.pdf. Fecha de consulta: 13/8/2015.
- 23) FAO (2006). Código internacional de conducta para la distribución y utilización de plaguicida. Disponible en: <http://www.fao.org/3/a-a0220s.pdf>. Fecha de consulta: 15/8/2015.

- 24)FAO (2010). Peces nativos de agua dulce de América del Sur de interés para la acuicultura: Una síntesis del estado de desarrollo tecnológico de su cultivo. Disponible en: <http://www.fao.org/docrep/014/i1773s/i1773s.pdf>. Fecha de consulta: 27/04/2017.
- 25)FAO (2016). Codex Alimentarius, normas internacionales de los alimentos. Disponible en: http://www.fao.org/fao-who-codexalimentarius/standards/pestres/pesticide-detail/es/?p_id=158. Fecha de consulta 14/8/2016.
- 26)FAO (2017). Sistema de Información sobre los Alimentos y Recursos Fertilizantes para la Agricultura. Disponible en: <http://www.fao.org/fishery/affris/perfiles-de-las-especies/nile-tilapia/tilapia-del-nilo-pagina-principal/es/>. Fecha de consulta 27/04/2017.
- 27)Fernández I, Gámez R, Gutiérrez A, García H (2005). Evaluación Genotóxica in vivo del D-004 en el Ensayo de Micronúcleos en Médula Ósea en Ratones. Revista CENIC Ciencias Biológicas. 36, N° Especial. Disponible en: https://www.researchgate.net/profile/Rafael_Gamez/publication/266042227_Evaluacion_Genotoxica_in_vivo_del_D004_en_el_Ensayo_de_Micronucleos_en_Medula_Osea_en_Ratones/links/552278240cf2f9c13052c558/Evaluacion-Genotoxica-in-vivo-del-D-004-en-el-Ensayo-de-Micronucleos-en-Medula-Osea-en-Ratones.pdf.Fecha de consulta: 15/10/2016.
- 28)Frontera J I, Vatnick I, Chaulet A, Rodriguez E M (2011) Effects of Glyphosate and Polyoxyethylenamine on Growth and Energetic Reserves in the Freshwater Crayfish *Cherax quadricarinatus* (Decapoda, Parastacidae). Archives of Environm Contam and Toxicol. 61:590–598.
- 29)Gluszczak L, Dos Santos Miron D, Moraes B S, Simões R R, Schetinger M R C, Morsch V M, Loro V L (2007).Acute effects of glyphosate herbicide on metabolic and enzymatic parameters of silver catfish (*Rhamdia quelen*). Comparative Biochemistry and Physiology, Part C. 146: 519-524.
- 30)Grisolia C K (2002). A comparison between mouse and fish micronucleus test using cyclophosphamide, mitomicyn C and various pesticides. Mutation Research. 518: 145-150.
- 31)Helander M, Saloniemi I, Saikkonen (2012).Glyphosate in northern ecosystem. Trends in Plant Science. 17 (10): 569-574.
- 32)Herrmann K M (1995). The Shikimate Pathway: Early Steps in the Biosynthesis of Aromatic Compounds. The plant cell. 7: 907-919.
- 33)IARC (2006). Monographs on the evaluation of carcinogenic risks to humans. Evaluation and rationale. Disponible en: <http://monographs.iarc.fr/ENG/Preamble/CurrentPreamble.pdf>. Fecha de consulta: 10/12/2015.

- 34) IARC (2015). Monographs volume 112: Evaluation of five organophosphate insecticides and herbicides. Disponible en: <http://monographs.iarc.fr/ENG/Monographs/vol112/index.php>. Fecha de consulta: 10/1/2016.
- 35) Jacob G S, Garbow J R, Hallas L E, Kimack N M, Kishore G M, Schaefer J (1988). Metabolism of glyphosate in *Pseudomonas* sp. Strain LBr. *Applied and Environmental Microbiology*. 54 (12): 2953-2958.
- 36) Jiraungkoorskul W, Upatham E S, Kruatrachue M, Sahaphong S, Vichasri-Grams S, Pokethitiyook P (2002). Histopathological Effects of Roundup, a Glyphosate Herbicide, on Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*). *ScienceAsia*. 28: 121-127.
- 37) Kegley S, Neumeister L, Martin T (1999). Disrupting the balance. Ecological Impacts of Pesticides in California. Pesticide Action Network North America Regional Center. 99 p.
- 38) Krüger M, Schrödl W, Neuhaus J, Shehata A A (2013a). Field Investigations of Glyphosate in Urine of Danish Dairy Cows. *Journal of Environmental & Analytical Toxicology*. 3 (5): 1-7.
- 39) Krüger M, Shehata A A, Schrödl W, Rodloff A (2013b). Glyphosate suppresses the antagonistic effects of *Enterococcus* spp. on *Clostridium botulinum*. *Anaerobic*. 20: 74-78.
- 40) Lajmanovich R C, Peltzer P M, Junges C M, Attademo A M, Sanchez L C, Bassó A (2010). Activity levels of B - esterases in the tadpoles of 11 species of frogs in the middle Paraná River floodplain: Implication for ecological risk assessment of soybean crops. *Ecotoxicology and Environmental Safety*. 73: 1517-1524.
- 41) Lajmanovich R C, Sandoval M T, Peltzer P M (2003). Induction of mortality and malformation in *Scinax Nasicus* tadpoles exposed to glyphosate formulations. *Bull+ Environmental Contam Toxicol*. 70: 612-618.
- 42) Langiano V D C, Martinez C B R (2008). Effects of glyphosate-based herbicide on the Neotropical fish *Prochilodus lineatus*. *Comparative Biochemistry and Physiology, Part C*. 147: 222-231.
- 43) Lushchak O V, Kubrak O I, Storey J M, Storey K B, Lushchak V I (2009). Low toxic herbicide Roundup induces mild oxidative stress in goldfish tissues. *Chemosphere*. 76: 932-937.
- 44) Martínez A, Reyes I, Reyes N (2007). Citotoxicidad del Glifosato en células mononucleares de sangre perif rica humana. *Biom dica*. 27: 594-604.
- 45) Martini C N, Gabrielli M, Brandani J N, Vila M del C (2016). Glyphosate Inhibits PPAR Gamma Induction and Differentiation of Preadipocytes and is able to Induce Oxidative Stress. *J Biochem Molecular Toxicology*. 30 (8): 404-413.

- 46) Martino D (1995). El herbicida Glifosato: su manejo más allá de la dosis por hectárea. INIA La Estanzuela. Serie técnica N° 61, 28p.
- 47) Martino D (1997). Siembra directa en los sistemas agrícolas ganaderos del litoral- INIA La Estanzuela. Serie Técnica N° 82, 31p
- 48) MGAP (2004). Decreto 264/2004. Reglamentación de servicios de aplicación terrestre de productos fitosanitarios. Disponible en: http://www.mgap.gub.uy/sites/default/files/multimedia/decreto_ndeg_264_004.pdf. Fecha de consulta: 25/7/2016.
- 49) MGAP (2004). Resolución Ministerial aplicada a los productos fitosanitarios. Disponible en: http://www.chasque.net/dgsa/nuevo/DivAnalisisDiagnostico/documentosDAYD/Res_MGAP_2004-5-14_FIT_Z_UR.pdf. Fecha de consulta: 25/7/2016.
- 50) MGAP (2008). Decreto 405/2008. Uso responsable y sostenible de los suelos. Disponible en: http://www.mgap.gub.uy/sites/default/files/multimedia/1252_1341499301Decreto405008.pdf. Fecha de consulta: 25/7/2016.
- 51) MGAP (2011). Resolución 004/581/2011. Disponible en: https://www.mgap.gub.uy/sites/default/files/multimedia/286_20110325163657977.pdf. fecha de consulta: 20/02/2017.
- 52) Mitchell D G, Chapman P M, Long T J (1987). Acute toxicity of Roundup and Rodeo herbicides to Rainbow Trout Chinook and Coho Salmon. Bull Environm Contam Toxicol. 39: 1028-1035.
- 53) Neme C, Ríos M, Zaldúa N, Cupeiro S (2010). Aproximación a la normativa vigente sobre plaguicidas y sus impactos ambientales. Vida silvestre Uruguay. 27p. Disponible en: http://vidasilvestre.org.uy/wp-content/uploads/2010/08/normativa_plaguicidas_Vida-Silvestre-Uruguay.pdf. Fecha de consulta: 10/6/2016.
- 54) Neškovic N K, Poleksic V, Elezovic I, Karan V, Budimir M (1996). Biochemical and Histopathological Effects of Glyphosate on Carp, *Cyprinus carpio* L. Bull. Environm. Contam. Toxicol. 56: 295-302.
- 55) Nordgård L, Bøhn T, Gillund F, Grønsberg I M, Iversen M, Myhr A I, Okeke M I, Okoli A S, Venter H, Wikmark O G (2015). Uncertainty and Knowledge Gaps related to Environmental Risk Assessment of GMOs. Biosafety Report GenØk Centre for Biosafety, Tromsø, Norway October. 40-42.
- 56) OPS (1971). Algunos aspectos generales de la evaluación de la toxicidad. Disponible en <http://www.bvsde.paho.org/bvsacd/eco/004415/04415-02.pdf>. Fecha de consulta: 15/9/15.

- 57) Organización Mundial de la Salud (1992). Consecuencias sanitarias del empleo de plaguicidas en la agricultura. Ginebra. 128 p. Disponible en: http://apps.who.int/iris/bitstream/10665/39175/1/9243561391_spa.pdf. Fecha de consulta 15/9/2015.
- 58) Oyhantcabal G, Narbondo I (2010). Radiografía del agronegocio sojero: descripción de los principales actores y de los impactos socio – económicos en Uruguay. 130 p. Disponible en: <https://www.redes.org.uy/wp-content/uploads/2009/08/Agronegocio-Sojero-web2.pdf>. Fecha de consulta: 19/10/2016.
- 59) Paganelli A, Gnazzo V, Acosta H, López S L, Carrasco A E (2010). Glyphosate-Based Herbicides Produce Teratogenic Effects on Vertebrates by Impairing Retinoic Acid Signaling. *Chem. Res. Toxicol.* 23 (10): 1586-1595.
- 60) Pessagno R C, Torres Sánchez R M, dos Santos Alfonso M (2008). Glyphosate behavior at soil mineral-water interfaces. *Environmental Pollution.* 153: 53-59.
- 61) Piancini L D S, Santos G S, Tincani F H, Cestari M M (2015). Piscine micronucleus test and the comet assay reveal genotoxic effects of atrazine herbicide in the neotropical fish *Rhamdia quelen*. *Ecotoxicol. Environ. Contam.* 10 (1): 55-60.
- 62) Poletta G L, Larriera A, Kleinsorge E, Mudry M D (2009). Genotoxicity of the herbicide formulation Roundup® (Glyphosate) in broad-snouted caimán (*Caimán latirostris*) evidenced by the Comet assay and the Micronucleus test. *Mutation Research/Genetic toxicol.,ogy and Environmental Mutagenesis.* 672: 95-102.
- 63) Possidonio O, Rodríguez dos Santos C T (2002). Glifosato: Propriedades, Toxicidade, usos e legislação. *Quím. Nova.* 25 (4): 589-593.
- 64) Prata F, Camponez V, Lavorenti A, Tornisielo V L, Borges J (2003). Glyphosate sorption and desorption in soils with distinct phosphorus levels. *Scientia Agricola.* 60(1): 175-180.
- 65) Prata F, Lavorenti A, Regitano J B, Tornisielo V L (2000). Influencia da materia orgânica na sorcao e dessorcao do Glifosato em solos com diferentes atributos mineralógicos. *Revista Brasileira de Ciencia do Solo* 24: 947-951.
- 66) Relyea R A (2005). The lethal impact of Roundup on aquatic and terrestrial amphibians. *Ecological Applications.* 15 (4): 1118-1124.
- 67) Rondón-Barragán I S, Marin-Mendez G A, Chacón-Novoa R A, Naranjo-Suarez L, Pardo-Hernández D, Eslava-Mocha P R (2012). El Glifosato (Roundup®) y Cosmoflux® 411 F inducen estrés oxidativo en cachama blanca (*Piaractus brachypomus*) Orinoquia 16 (2): 162-176.

- 68) Salazar L, Aldana M (2011). Herbicida Glifosato: usos, toxicidad y regulación. *Revista de Ciencias Biológicas y de la Salud de la Universidad de Sonora*. 13 (2): 23-28.
- 69) Samsel A, Seneff S (2016). Glyphosate pathways to modern diseases V: Amino acid analogue of glycine in diverse proteins. *Journal of Biological Physics and Chemistry*. 16: 9-46.
- 70) Scarlato G, Buxedas M, Franco J, Pernas A (2001). Siembra directa en la agricultura del litoral uruguayo. Adopción y demandas de investigación y difusión en siembra directa. Serie FPTA 06 INIA. 133 p.
- 71) Schonbrunn E, Eschenburg S, Shuttleworth W A, Schloss J V, Amrhein N, Evans J N, Kabsch W (2000). Interaction of the herbicide glyphosate with its target enzyme 5-enolpyruvylshikimate 3-phosphate synthase in atomic detail. *Proceedings of the National Academy of Sciences*. 98 (4): 1376-1380.
- 72) Schrödl W, Krüger S, Konstantinova-Müller T, Shehata A A, Rulff R, Krüger M (2014). Possible Effects of glyphosate on Mucorales Abundance in the Rumen of Dairy Cows in Germany. *Curr Microbiol*. 69: 817-823.
- 73) Shehata A A, Schrödl W, Aldin A A, Hafez H M, Krüger M (2013). The effect of glyphosate on potential pathogens and beneficial members of poultry microbiota *in vitro*. *Curr Microbiol*. 66: 350-358.
- 74) Silbergeld E K (1998). Enciclopedia de seguridad y salud en el trabajo. Toxicología. Capitulo 33. Disponible en: <http://www.insht.es/InshtWeb/Contenidos/Documentacion/TextosOnline/EnciclopediaOIT/tomo1/sumario.pdf>. Fecha de consulta: 15/11/2016.
- 75) Stoyanova S, Yancheva V, Iliev I, Vasileva T, Bivolarski V, Velcheva I, Georgieva E (2015). Glyphosate induces morphological and enzymatic changes in common carp (*Cyprinus carpio* L) liver. *Bulgarian Journal of Agricultural Science*. 21(2): 409-412.
- 76) Takacs P, Martin PA, Struger J (2002). Pesticides in Ontario: a critical assessment of potential toxicity of agricultural products to wildlife, with consideration for endocrine disruption. Volume 2 Triazine herbicides, glyphosate and metalochlor. Technical Report serie N° 369. Canadian Wildlife Service. Disponible en: <http://citeseerx.ist.psu.edu/viewdoc/download?doi=10.1.1.465.8776&rep=rep1&type=pdf>. Fecha de consulta: 18/10/2016.
- 77) Weaver L M, Herrmann K M (1999). The Shikimate pathway. *Annu Rev Plant Physiol Plant Mol Biol*. 50: 473-503.
- 78) Williams GM, Kroes R, Munro IC (2000). Safety evaluation and risk assessment of herbicide Roundap and its active ingredient, glyphosate for human. *Regulatory Toxicology and Pharmacology*. 31: 117-165.

- 79) World Health Organization (WHO) (1994). United Nations Environment Programme, The international labour organization. Glyphosate. Environmental Health Criteria. 159. Geneva, Switzerland. Disponible en: <http://www.inchem.org/documents/ehc/ehc/ehc159.htm>. Fecha de consulta: 18/9/2016.
- 80) World Health Organization (WHO) (2009). The WHO recommended classification of pesticides by hazard and Guidelines to classification. Disponible en: http://www.who.int/ipcs/publications/pesticides_hazard.pdf. Fecha de consulta: 14/8/2016.
- 81) World Health Organization (WHO)-Food and agriculture organization of the United Nations organization (FAO) (1996). Glyphosate. Data Sheets on Pesticides. No 91. Disponible en: http://apps.who.int/iris/bitstream/10665/63290/1/WHO_PCS_DS_96.91.pdf. Fecha de consulta: 14/9/2019.