

AVALIAÇÃO DA TOXICIDADE CELULAR DO GLIFOSATO SOBRE AS GÔNADAS DE *Danio rerio* (Cyprinidae)

Tainan Filipe da Silva¹
Elisete Ana Barp²
Neide Armiliato³

RESUMO

Os herbicidas são muito utilizados na agricultura por substituírem a mão-de-obra na capina, diminuindo conseqüentemente o esforço exigido pelo trabalho, e otimizando o tempo dos agricultores, mas em uma concentração elevada pode trazer malefícios para organismos aquáticos podendo provocar alterações moleculares e celulares que afetarão a morfologia, fisiologia e bioquímica dos tecidos. Dentre os agrotóxicos, o organofosforado glifosato é um dos herbicidas mais usados no Brasil e no mundo. Considerando a importância de reconhecer as alterações macroscópicas e mutagênicas na avaliação da toxicidade do herbicida glifosato, amplamente utilizado na agricultura, foi utilizado neste estudo, como modelo experimental, o peixe *Danio rerio*. O estudo teve como objetivo avaliar os efeitos subletais de toxicidade do herbicida glifosato sobre a morfologia nos ovários de *D. rerio* e analisar o percentual de micronúcleo nos peixes expostos às concentrações de glifosato. Os peixes foram divididos em dois grupos, sendo um exposto ao herbicida a uma concentração 65 µg/L diluído em água, determinado pela Resolução do Conselho Nacional do Meio Ambiente (CONAMA) N° 357, de 17 de março de 2005, que estabelece a concentração de 65 µg/L de glifosato em águas dos rios no Brasil. O outro grupo de peixes foi utilizado como controle, mantidos em água isenta de herbicida. Verificou-se um aumento significativo na massa dos ovários, bem como um aumento significativo no Índice Gonadossomático (IGS) em ovários de peixes expostos ao glifosato por um período de 15 dias. Em relação ao percentual de micronúcleo dos eritrócitos os grupos não diferiram estatisticamente entre si. Mesmo na concentração de glifosato regulamentada para os rios do Brasil, efeitos subletais tóxicos foram identificados nos ovários. Desta forma, sugere-se a realização de testes toxicológicos para avaliação de parâmetros reprodutivos. Os efeitos adversos do glifosato sobre os ovários demonstradas neste estudo representam um importante risco para a reprodução de peixes.

Palavras chaves: Toxicidade. Organofosforado. Ovários. Micronúcleos.

¹Acadêmico do Curso do curso de Ciências Biológicas da Universidade do Contestado, Campus Concórdia. Atualmente é bolsista do FAP (Fundo de Apoio a Pesquisa da Universidade do Contestado). Santa Catarina. Brasil. E-mail: tainanfilipe@hotmail.com

²Professora, Bióloga, Dra em Ecologia (UFRGS) da Universidade do Contestado, Campus Concórdia. Santa Catarina. Brasil. E-mail: elisete@unc.br

³Professora, Bióloga, Dra em Biologia Celular e do Desenvolvimento (UFSC) da Universidade do Contestado, Campus Concórdia. Santa Catarina. Brasil. E-mail: armiliato@unc.br

EVALUATION OF THE CELLULAR TOXICITY OF GLYPHOSATE ON THE GONADS OF *Danio rerio* (Cyprinidae)

ABSTRACT

Herbicides are widely used in agriculture for replaced hand labor on weeding, thus reducing the effort required for the work, and optimizing the farmers' time, but at a high concentration can bring harm to aquatic organisms may cause molecular changes and phones that will affect the morphology, physiology and biochemistry of tissue. Among the pesticides, the organophosphates Glyphosate is one of the most widely used insecticides in Brazil and worldwide. Considering the importance of recognizing the macroscopic and mutagenic changes in assessing the toxicity of glyphosate herbicide, widely used in agriculture, it was used in this study as an experimental model, the fish zebrafish. The study aimed to evaluate the sublethal effects of the herbicide glyphosate toxicity in the morphology of *D. rerio* ovaries and analyze the percentage of micronucleus in fish exposed to glyphosate concentrations. The fish were divided into two groups, one exposed to the herbicide at a concentration 65 mg / L diluted in water, determined by the National Council of Environment (CONAMA) N° 357 of 17 March 2005 laying down the concentration 65 µg/L of glyphosate in water rivers in Brazil. The other group of fish was used as a control and kept in water without herbicide. There was a significant increase in mass of the ovaries, as well as a significant increase in GSI (GSI) in fish ovaries exposed to glyphosate for a period of 15 days. Regarding the percentage of erythrocyte micronucleus groups were not statistically different from e achother. Even in glyphosate concentration regulated to the Rivers of Brazil, toxic sublethal effects were identified in the ovaries. Thus, it is suggest ed to carry out toxicology tests to assess reproduce tive parameters. The adverse effects of glyphos at eon the ovaries hown here represent a major risk for there production offish.

Key words: Toxicity. Organophosphate. Ovaries. Micronuclei.

1 INTRODUÇÃO

A poluição causa grande desequilíbrio nos diversos ecossistemas, sendo gerada principalmente por resíduos químicos oriundos de atividades agrícolas e industriais, por esgoto sem tratamento e por acúmulos de lixo. Dentre os resíduos químicos, os agrotóxicos são agentes mais tóxicos, constituídos por uma grande variedade de compostos, que afetam tanto os organismos animais quanto vegetais (FONSECA, 2007).

No oeste do estado de Santa Catarina, a agricultura é a atividade econômica predominante, visando à produção de milho e soja, produtos destinados principalmente à pecuária e a criação de suínos e aves. A economia do município de Concórdia tem por base a agroindústria, predominando a suinocultura, avicultura, pecuária de leite, culturas agrícolas e indústria alimentícia (SECRETARIA DE ESTADO DO DESENVOLVIMENTO URBANO E MEIO AMBIENTE, 1997).

Assim, nas últimas décadas houve um aumento no uso de agrotóxicos na região resultando em um comprometimento da fauna e da flora, que pode levar a alterações significativas na biologia das espécies. É importante salientar que, a longo prazo, a contaminação dos ambientes aquáticos pode culminar na diminuição das populações (FONSECA, 2007). Deve-se estar atento ainda para as concentrações não letais dos agrotóxicos, cujos efeitos silenciosos, podem afetar tanto a morfologia, fisiologia e bioquímica dos tecidos orgânicos, provocando impactos em vários níveis, do molecular ao sistêmico (BEGUM, 2004).

Os agrotóxicos podem atingir os corpos d'água através do lençol freático por meio da lixiviação, da infiltração da água das chuvas, da irrigação ou da percolação no solo (SCHUMACHER; HOPPE, 1998; GRISOLIA, 2005). Dentre os agrotóxicos, o organofosforado Roundup® é um dos inseticidas mais usados no Brasil e no mundo. Seu princípio ativo é o glifosato (N-fosfometil-glicina), geralmente comercializado na forma de sal isopropilamônio, cujas propriedades químicas permitem que se solubilize facilmente nos ambientes aquáticos.

A necessidade de se detectar e avaliar o impacto do glifosato, especialmente em concentrações subletais, no monitoramento da qualidade ambiental, levou ao estudo de respostas biológicas em diversas espécies, como equinodermas, moluscos, crustáceos e peixes (GOLDFARB *et al.*, 1998). De um modo geral, as respostas moleculares e celulares apontam para os sinais iniciais de perturbação, de forma que tais avaliações vêm sendo comumente utilizadas em programas de biomonitoramento (CAJARAVILLE *et al.*, 2000; NIGRO *et al.*, 2006). O uso de peixes em estudos toxicológicos tem se mostrado muito apropriado, pois este grupo apresenta respostas biológicas bastante similares aos grandes vertebrados, reforçando o caráter conservativo dos processos moleculares e celulares na escala animal (AL-SABTI 1986; METCALFE, 1989).

A espécie *D. rerio*, conhecida como paulistinha ou zebrafish tem sido utilizada em diversos estudos envolvendo exposição a agentes tóxicos, pois apresenta sensibilidade quando exposto a produtos químicos por ser capaz de absorver de forma rápida os compostos que são diretamente adicionados na água e acumulá-los em diferentes tecidos. Diante do exposto o objetivo desse estudo foi avaliar os efeitos subletais de toxicidade do herbicida glifosato sobre os ovários de *D. rerio*.

2 METODOLOGIA

No presente estudo foram utilizados peixes adultos da espécie *D. rerio* (Figura 1). Os experimentos foram realizados em dois grupos de 40 fêmeas adultas de *D. rerio*. Os peixes foram expostos por 15 dias em aquários (Figura 2) a uma concentração do herbicida glifosato com base na Resolução do CONAMA Nº 357, de 17 de março de 2005 que estabelece a concentração máxima permitida em águas interiores. Foi testado o efeito do glifosato na concentração máxima permitida (65 µg/L).

Figura 1 – Fêmea adulta de *Daniorerio*.



Fonte: Laboratório de Reprodução e Desenvolvimento Animal BEG/UFSC. Escala: 0,5 cm (ARMILIATO, 2014).

Foram determinados para o estudo dois grupos experimentais:

Grupo 1 (exposto): fêmeas expostas a concentração de 65 µg/L de glifosato;

Grupo 2 (controle): fêmeas não expostas ao glifosato, as quais foram utilizadas como controle.

Figura 2 – Aquários utilizados para a realização do experimento.



Fonte: Dados da pesquisa (2015)

Todos os experimentos foram realizados de acordo com as diretrizes do Comitê de Ética para uso de Animais da Universidade do Contestado (aprovação do CEUEA/UnC/07/15), seguindo as normas do Conselho Nacional de Controle e Experimentação Animal (CONCEA) e Lei Federal nº 11794 de 08 de outubro de 2008.

Os indivíduos adultos de *D. rerio* com comprimento médio entre 3 a 5 cm foram adquiridos em loja especializada de animais aquáticos e mantidos em aquários com água corrente-declorada e estocados a densidade de 1 g de peixe para cada litro (RAMSDORF, 2007). A aclimação foi feita por 05 dias em condições de aeração constante, temperatura de 27 (±1°C), foto período natural e alimentação diária com ração comercial. Os parâmetros de qualidade da água dos aquários, como oxigênio dissolvido, pH e temperatura, foram monitorados diariamente durante os 15 dias de exposição.

Após o período de exposição à concentração do herbicida glifosato foi realizada anestesia nos peixes para a dissecação das gônadas e coleta de sangue das brânquias. Os animais foram anestesiados com hidrocloreto de benzocaína na concentração de 100 mg/L por litro de água, conforme estudo realizado por Gimbo *et al.*, 2008. Após anestesia, os peixes foram mantidos em água a 4°C, por 5-10 minutos até a morte. O mesmo procedimento foi realizado com os peixes do grupo controle. A coleta de sangue das brânquias foi realizada com auxílio de seringa previamente heparinizada em quantidade suficiente para realização de duas lâminas de esfregaço por peixe. Com base nestas amostragens, foi possível realizar um estudo de genotoxicidade através do percentual de micronúcleos nas hemácias dos peixes coletados. As lâminas foram processadas no laboratório de Análise Ambiental da UnC- Concórdia, para secagem, fixação, coloração e análise. A secagem das lâminas foi realizada por 12 horas, em temperatura ambiente e posição horizontal. As lâminas secas foram fixadas em álcool metílico por 10 minutos e secadas ao ar em temperatura ambiente por 4 minutos. Em seguida, foram coradas com *Giemsa* 5%, por 25 minutos. Posteriormente as lâminas foram lavadas em água destilada e secas ao ar.

A análise das lâminas foi realizada em microscopia ótica (imersão – 1000X) para identificação e quantificação de micronúcleos. Foram analisados 2.000 eritrócitos por animal, conforme metodologia adaptada de Cestari *et al.* (2005). Os critérios para identificação do micronúcleo são o seu tamanho, a sua forma e a sua coloração (RIBEIRO *et al.*, 2003).

As lâminas foram, em primeiro lugar, analisadas em aumento médio de 200 a 400X, para encontrar campos com boa qualidade técnica, com células espalhadas, não danificadas e coradas apropriadamente. Após, as células foram analisadas, para verificar a presença de micronúcleo, usando um aumento de 1000X. As fotomicrografias foram feitas em microscópio Nikon®, através da captura de imagens com câmera CCD e transferidas para um microcomputador.

Após o procedimento foram realizadas as medidas peso (g) e de comprimento total (cm) dos peixes, esta última obtida pela distância entre a extremidade final da nadadeira caudal até a extremidade anterior da cabeça.

As gônadas dissecadas foram pesadas para o cálculo do Índice Gonadossomático (IGS), através da fórmula: peso do ovário/peso da fêmea x 100.

Para comparação da magnitude das variações das amostras, as médias foram comparadas pelo teste t de Student, alfa, 0,05. As análises foram feitas com o Software Past. Para comparação dos percentuais de micronúcleo dos eritrócitos foi utilizado o programa SISVAR e os dados submetidos ao teste de Scott Knott.

Os resíduos do ensaio, como a água e os peixes tiveram destino adequado, juntamente com outros resíduos do complexo laboratorial da UnC – Concórdia. Esse procedimento foi realizado com todos os grupos de peixes do delineamento experimental.

3 RESULTADOS E DISCUSSÕES

Os parâmetros temperatura e pH, durante o período experimental, mantiveram uma média de 27 ($\pm 1^\circ\text{C}$), pH 7,00 (± 1), respectivamente. Estes resultados são considerados ideias para a manutenção dos peixes da espécie *D. rerio* em laboratório.

As fêmeas foram expostas ao glifosato diluído em água do aquário, nas mesmas condições de temperatura, pH, fotoperíodo e alimentação, como no período de aclimatação. As fêmeas não expostas ao glifosato (grupo controle) foram mantidas nas mesmas condições que as fêmeas expostas ao herbicida.

Foram avaliadas fêmeas com massa corporal média de (0,32 \pm 0,02) e (0,35 \pm 0,02), para o grupo controle e glifosato, respectivamente. A massa das gônadas das fêmeas expostas ao glifosato foi significativamente maior que a das fêmeas mantidas em condições controle (Teste t de *Student*, alfa = 0,05) (Figura 3).

Figura 3 – Médias das massas(g) das gônadas das fêmeas de *Danio rerio* mantidas em duas condições experimentais (com glifosato e sem glifosato - controle)



Fonte: Dados da pesquisa (2015).

Os resultados obtidos neste trabalho revelaram que a média do IGS das fêmeas de *D. rerio* expostas a 65 $\mu\text{g/L}$ de glifosato foi maior quando comparada com as fêmeas não expostas ao herbicida (Teste t de *Student*, alfa = 0,05) (Figura 4). Tais dados sugerem que as células germinativas estão respondendo a esta concentração de glifosato, o que pode alterar o ciclo reprodutivo da espécie em questão.

Sugere-se que o aumento do IGS foi resultante do aumento da expressão de proteínas envolvidas na biossíntese de hormônios esteroides. Como o sistema endócrino reprodutivo é composto pelo eixo hipotálamo-hipófise-gonadal, os resultados encontrados neste estudo permitem supor que a exposição por 15 dias ao herbicida glifosato interferiu neste eixo, estimulando a maturação dos ovários, sem que houvesse prejuízo ao funcionamento geral do organismo. O efeito do glifosato como disruptor endócrino em organismos e linhagens celulares apresenta-se bem caracterizado em estudos experimentais realizados em ratos e camundongos (WALSH et al., 2000; ASTIZ et al., 2009; ROMANO et al., 2009; CLAIR et al., 2012).

O IGS é um parâmetro relevante para avaliação e determinação das fases do ciclo reprodutivo, principalmente em peixes, pelo fato da maturação das células reprodutivas ocorrerem simultaneamente ao aumento da massa das gônadas. As alterações no IGS são as consequências mais comuns observadas em peixes expostos a poluentes (KIME, 1955).

Em estudos realizados *in vitro* com células de placenta humana (RICHARD et al., 2005), verificou-se que o Roundup® reduziu a atividade da enzima aromatase, responsável pela síntese dos estrogênios e reduziu a expressão da proteína regulatória esteroidogênica aguda (StAR). O glifosato pode alterar o perfil dos hormônios esteroides, que estão diretamente relacionados a maturação gonadal, sendo este um processo complexo e influenciado por fatores de crescimento e hormonais (SOSO et al., 2007; GASNIER et al., 2009)

Figura 4 – Gráfico representativo das médias do Índice Gonadosomático dos peixes *Danio rerio*.



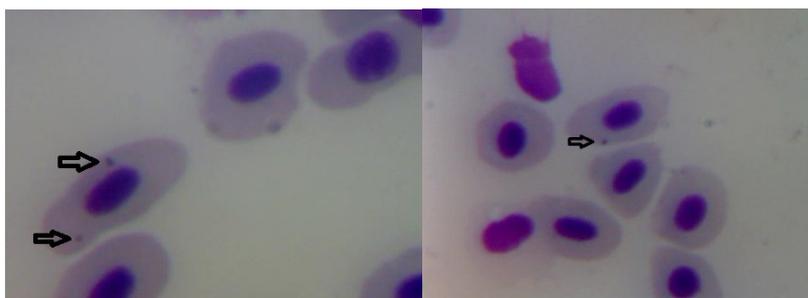
Fonte: Dados da pesquisa (2015).

Em relação a ocorrência de micronúcleo nos eritrócitos, os indivíduos mantidos em aquário contendo glifosato apresentaram em média 0,68 % das suas

células com incidência de micronúcleo (Figura 5). Os peixes do grupo controle (não expostos ao glifosato) apresentaram em média 0,31%. Estes resultados não diferiram estatisticamente quando comparados pelo teste Scott Knott.

Os resultados encontrados neste estudo mostram que o glifosato na concentração indicada como segura pelo CONAMA, de 65 µg/L por um tempo de exposição de 15 dias induziu aumento na frequência de micronúcleos em células sanguíneas das brânquias de fêmeas de *D. rerio*. As brânquias foram escolhidas para este ensaio por serem as estruturas de contato direto do ambiente externo como o organismo. Os resultados evidenciam que os fêmeas expostas absorveram o glifosato e apresentaram uma resposta biológica na forma de micronúcleo. Estudos realizados por Çavas e Könen (2007), com três diferentes concentrações de uma formulação comercial a base glifosato (5, 10 e 15 ppm), amostrados em intervalos de 48, 96 e 144 h, obtiveram aumentos significativos de modo dose-dependente nas frequências de micronúcleo nos peixes *Carassius auratus* (da família Cyprinidae).

Figura 5 – Eritrócitos de *Danio rerio* com formação de micronúcleo (seta) e eritrócitos normais.



Fonte: Dados da pesquisa (2015)

Existem grandes variações com base nos estudos sobre o potencial genotóxico de glifosato e formulações, tal como o Roundup®, devido às diferentes formulações farmacêuticas, as doses aplicadas, os métodos utilizados e os organismos estudados (CAVALCANTE et al, 2008).

Outras células são utilizadas no monitoramento dos efeitos genotóxicos de poluentes, podendo então observar-se melhor respostas específicas de tecidos, sendo assim diferentes tecidos, como o intestino, o fígado, brânquias, gônadas, rim, baço e músculo, são escolhidos para a determinação do dano no DNA (CAVALCANTE et al, 2008). Esta é uma questão que deve ser levada em conta, uma vez que a uma maior quantidade de testes em tecidos diferentes pode apontar com mais clareza o potencial genotóxico do glifosato.

4 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Os resultados apresentados neste trabalho contribuem para a compreensão de aspectos relacionados à toxicidade do herbicida glifosato e permitem inferir que, mesmo na concentração regulamentada para os rios do Brasil, efeitos subletais foram identificados nos ovários das fêmeas de *D. rerio*. Os efeitos adversos do glifosato sobre os ovários demonstrados aqui preocupam, pois podem comprometer a reprodução de peixes. No entanto, há necessidade de novas investigações no sentido de contribuir para a avaliação completa dos efeitos do glifosato sobre a reprodução.

Por fim, este estudo demonstrou a importância de se investigar a toxicidade do glifosato sobre a reprodução feminina, utilizando ovários de peixe. Esta linha de investigação tem sido conduzida principalmente no modelo com ratos, e pouco se sabe dos efeitos deste herbicida em organismos aquáticos e as suas consequências, que podem abranger desde o nível celular, até o sistêmico e populacional.

REFERÊNCIAS

- AL-SABTI, K. Clastogenic effects of live carcinogenic-mutagenic chemicals on the cells of the common carp (*Cyprinus carpio* L.). **Comparative Biochemistry and Physiology**, v. 85, p. 5-9, 1986.
- ARMILIATO N. et al. Changes in ultrastructure and expression of steroidogenic Factor-1 in ovaries of Zebrafish *Danio rerio* exposed to glyphosate. **J. Toxicol. Environ. Health**. v. 77, n. 7, p. 405-414, 2014.
- ASTIZ, M.; DE ALANIZ, M. J. T.; MARRA, C. A. The impact of simultaneous intoxication with agrochemicals on the antioxidant defense system in rat. **Pesticide Biochemistry and Physiology**, v. 94, n. 2-3, p. 93-99, 2009.
- ÇAVAŞ, T.; KÖNEN, S. Detection of cytogenetic and DNA damage in peripheral erythrocytes of goldfish (*Carassius auratus*) exposed to a glyphosate formulation using the micronucleus test and the comet assay. **Mutagenesis**, v. 22, p. 263-268, 2007.
- BEGUM, G. Carbofuran insecticide induced biochemical alterations in liver and muscle tissues of the fish *Clarias batrachus* (Linn) and recovery response. **Aquatic Toxicology**, v. 66, p. 83-92, 2004.

BRASIL. Resolução Conama, Nº 357, de 17 de março de 2005: Dispõe sobre a classificação dos corpos de água e diretrizes ambientais para o seu enquadramento, bem como estabelece as condições e padrões de lançamento de efluentes, e dá outras providências. **Diário Oficial da União**, v. 18, p. 1-9. 2005.

CAJARAVILLE, M. P. et al. The use of biomarkers to assess the impact of pollution in coastal environments of the Iberian Peninsula: a practical approach. **The Science of the Total Environment**, v. 247, n. 2-3, p. 295-311, 2000.

CAVALCANTE, D.; MARTINEZ, C. B. R.; SOFIA, S. H. Genotoxic effects of Round up on the fish *Prochilodus lineatus*. **Mutation Research Genetic Toxicology and Environmental Mutagenesis**. 15 abr. 2008.

CLAIR, É. et al. A glyphosate-based herbicide induces necrosis and apoptosis in mature rat testicular cells in vitro, and testosterone decrease at lower levels. **Toxicology in Vitro**, v. 26, n. 2, p. 269-279, 2012.

CESTARI, M. M. et al. Mutagenic effects of tributyltin (TBT) and inorganic lead (PbII) on the fish *H. malabaricus* evaluated using the comet assay, piscine micronucleous and chromosome aberrations tests. **Genetics and Molecular Biology**, v. 27, n. 1, p. 103-107, 2004.

FONSECA, M. B. **Crescimento e parâmetros toxicológicos em jundiás (*Rhamdia quelen*) expostos a uma formulação comercial do herbicida 2,4-Diamin**. Dissertação de Mestrado. Universidade de Santa Maria/RS, 2007.

GASNIER, C. et al. Glyphosate-based herbicides are toxic and endocrine disruptors in human cell lines. **Toxicology**, v. 262, n. 3, p. 184-191, 2009.

GOLDFARB, P.; LIVINGSTONE, D.; BIRMELIN, C. Biomonitoring in the aquatic environment: use of molecular biomarkers. **Biochemical Society Transactions**, v. 26, n. 4, p. 690- 694. 1998.

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

KIME, D. E. The effects of pollution on reproduction in fish. **Reviews in Fish Biology and Fisheries**, v. 5, n. 1, p. 52-95, 1995.

METCALFE, C. D. Testes for Predicting Carcinogenicity in Fish. **Critical Reviews in Aquatic Sciences**, v. 1, p. 111-129, 1989.

NIGRO, M. et al. Cellular biomarkers for monitoring estuarine environments: transplanted versus native mussels. **Aquatic Toxicology**, v. 77, n. 4, p. 339-347, 2006.

RAMSDORF, W. Utilização de duas espécies *Astyanax* (*Astyanax sp B e A. altiparanae*) como bioindicadores de região contaminada por agrotóxico. **Environmental Toxicology and Pharmacology**, v. 23, p. 308-313, 2007.

RIBEIRO, Lucia Regina, SALVADORI, Daisy M. F., MARQUES, Edmundo Kanan, **Mutagênese Ambiental**. 1. ed. Canoas: ULBRA, 2003.

ROMANO, R. M.; ROMANO, M. A.; OLIVEIRA, C. A. **Glifosato como desregulador endócrino químico** *Ambiência*, v. 5, n. 2, p. 359-372, 2009.

SOSO, A. B. et al. Chronic exposure to sub-lethal concentration of a glyphosate-based herbicide alters hormone profiles and affects reproduction of female Jundiá (*Rhamdia quelen*). **Environmental Toxicology and Pharmacology**, v. 23, n. 3, p. 308-313, 2007.

SCHUMACHER, M.V.; HOPPE, J.M. **A floresta e a água**. Porto Alegre: Pallotti, 1998.

SECRETARIA DE ESTADO DO DESENVOLVIMENTO URBANO E MEIO AMBIENTE. **Bacia hidrográfica do Estado de Santa Catarina**: diagnóstico geral. Governo de Santa Catarina: Florianópolis, 1997.

WALSH, L. P. et al. Roundup inhibits steroidogenesis by disrupting steroidogenic acute regulatory (StAR) protein expression. **Environmental Health Perspectives**, v. 108, n. 8, p. 769-776, 2000.

Artigo recebido em: 24/11/2015

Artigo aprovado em: 07/02/2017