

RENATA MARINO ROMANO

**Efeitos da exposição pré-púbere ao herbicida glifosato no desenvolvimento reprodutivo de ratos Wistar machos**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Reprodução Animal da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo para obtenção do título de Mestre em Medicina Veterinária

**Departamento:**

Reprodução Animal

**Área de Concentração:**

Reprodução Animal

**Orientador:**

Prof. Dr. Cláudio Alvarenga de Oliveira

São Paulo

2007

## RESUMO

ROMANO, R. M. **Efeitos da exposição pré-púbere ao herbicida glifosato no desenvolvimento reprodutivo de ratos Wistar machos.** [Effects of the prepubertal exposure to glyphosate-Roundup on reproductive development of male Wistar rats]. 2007. 99 f. Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2007.

O glifosato-Roundup é um herbicida amplamente utilizado em diversas culturas agrícolas. Sua toxicidade reprodutiva está relacionada com a inibição da proteína StAR e da enzima aromatase, causando *in vitro* redução significativa da produção de testosterona e estradiol. Este trabalho teve como objetivo verificar esse efeito *in vivo*, utilizando-se ratos Wistar machos pré-púberes como modelo experimental. Utilizou-se 68 machos tratados dos 23 aos 53 dias de idade com as doses de 0, 5, 50 e 250 mg/kg de peso vivo por gavagem uma vez ao dia. Foram avaliados a progressão da puberdade, o desenvolvimento corporal, a produção hormonal de testosterona, estradiol e corticosterona, morfologia testicular e da glândula adrenal, função renal e hepática e histopatologia renal e hepática. As análises estatísticas utilizadas foram a análise de variâncias de uma via ANOVA, de duas vias MANOVA ou Kruskal-Wallis e pós-testes de Tukey-Kramer, Fisher ou de Dun. O herbicida glyphosate-Roundup alterou de forma significativa a progressão da puberdade de forma dose dependente, bem como se observou a redução na produção de testosterona e alterações na morfologia dos túbulos seminíferos. A morfologia da glândula adrenal e a produção de corticosterona não foram afetadas pelas doses utilizadas nesse estudo. Observou-se comprometimento da função renal e alterações patológicas nesse órgão. Não foram evidenciadas alterações hepáticas. O crescimento corporal dos animais não foi influenciado pelo tratamento. Pode-se concluir que esse herbicida é um potente *disruptor* endócrino *in vivo*, causando distúrbios no desenvolvimento reprodutivo e na produção hormonal dos animais.

Palavras-chave: Glifosato. Roundup. Disrupção endócrina. Esteroidogênese. Morfologia testicular.

## ABSTRACT

ROMANO, R. M. **Effects of the prepubertal exposure to glyphosate herbicide on reproductive development of male Wistar rats.** [Efeitos da exposição pré-púbere ao glifosato-Roundup no desenvolvimento reprodutivo de ratos Wistar machos]. 2007. 99 f. Dissertação (Mestrado em Reprodução Animal) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2007.

The glyphosate-Roundup is a widely pesticide used in several culturas agrícolas. Its reproductive toxicity is associated to inhibition of StAR protein and aromatase enzyme that cause *in vitro* significantly reduction in testosterone and estradiol production. The objective of this study was to evaluate the *in vivo* effects of inhibition of StAR protein and aromatase enzyme, using prepubertal male Wistar rats like experimental model. 68 animals were exposed once a day by gavage to glyphosate-Roundup in following doses: 0, 5, 50 or 250 mg/kg of body weight. The end points were puberty progression, body development, testosterone, estradiol and corticosterona productions and testicular and adrenal morphology, renal and liver function and histopatology. The statistical analysis used were one-way ANOVA, multi-way ANOVA or Kruskal-Wallis and *posthoc* tests of Tukey-Kramer, Fisher or Dun. The herbicide glyphosate-Roundup changed significantly the puberty progression in dose-dependent manner, as well reduction in testosterone production and alterations in testicular morphology. There were not observed alterations in adrenal morphology or corticosterone production in the doses used in this study. The renal function and histopatology were altered in treated groups while liver function wasn't. The body development was not influenced by the exposure. In conclusion, glyphosate-Roundup is a potent endocrine disruptor *in vivo* that cause problems in reproductive development and hormonal synthesis in exposure animals.

Key-words: Glyphosate. Roundup. Endocrine disruption. Steroidogenesis. Testicular morphology.

## 1 INTRODUÇÃO

*Disruptores*<sup>1</sup>endócrinos são moléculas exógenas ambientais que podem afetar a síntese, secreção, transporte, metabolismo, ligação, ação e catabolismo de hormônios naturais do organismo, podendo exercer seu efeito mesmo quando em mínimas quantidades.

O glifosato é um herbicida utilizado no combate às ervas daninhas prejudiciais a diversas culturas, bastante efetivo, não-seletivo e pós-emergente que inibe o crescimento da planta através da interferência com a produção de aminoácidos aromáticos essenciais pela inibição da fotossíntese.

A detecção de resíduos de praguicidas em residências de agricultores e a presença desses resíduos e seus metabólitos em urina das famílias residentes em área agrícola demonstra que há risco de exposição ambiental, o que torna importante o conhecimento dos efeitos tóxicos em baixas doses por períodos prolongados.

O glifosato em baixas concentrações não tóxicas causa efeito de disrupção sobre a enzima aromatase em células de placenta humana *in vitro*. A partir do momento que o glifosato penetra na célula, e isso é facilitado nas formulações com adjuvantes (Roundup<sup>®</sup>, Monsanto Co.), ele reduz a atividade da enzima aromatase, responsável pela síntese de estrógenos e também por diminuir expressivamente a expressão da proteína StAR (proteína de regulação rápida da esteroidogênese).

Nas culturas agrícolas, em diversas partes do mundo, o uso de praguicidas é intenso. Animais expostos a longos períodos de pastagem em áreas de Integração Lavoura e Pecuária podem estar ingerindo quantidades de subprodutos, metabólitos e contaminantes utilizados na agricultura. A contaminação do solo e água tanto fluvial como subterrânea, pode levar a distúrbios reprodutivos principalmente no que se refere às alterações do perfil hormonal destes animais. Os efeitos residuais destas substâncias podem estar contidos no sangue, na carne, no leite, na urina e nas fezes dos animais levando a recontaminação do solo e podendo chegar ao consumo humano.

---

<sup>1</sup> Empregarei o termo inglês uma vez que não há correspondente em língua portuguesa.

O objetivo desse estudo foi avaliar o efeito da disrupção endócrina ocasionada pelo herbicida glifosato em mamíferos, utilizando-se ratos pré-puberes como modelo experimental em protocolo previamente desenvolvido e validado. Esse efeito foi mensurado através do acompanhamento da progressão da puberdade; das dosagens séricas de testosterona, estradiol e corticosterona; pela morfologia do epitélio germinativo dos túbulos seminíferos e da glândula adrenal; pela análise das funções hepática e renal; e pela histopatologia renal e hepática.

## 7 CONCLUSÕES

Com base nos resultados obtidos nesse estudo, pode-se concluir que o glifosato-Rondup® Monsanto:

- Causa problemas na progressão da puberdade, evidenciada pelo atraso à separação balanoprepucial desde a dose de 50 mg/kgPV.
- Não interfere com o crescimento corporal dos animais tratados.
- Causa alterações no peso dos órgãos esteroideogênicos testículos e adrenais no grupo tratado com a dose de 250 mg/kgPV.
- Causa alterações no nível sérico de testosterona em todos os grupos tratados, desde a dose de 5 mg/kgPV.
- Não altera o nível sérico de estradiol
- Não altera o nível sérico de corticosterona, nem alterações histopatológicas evidentes.
- Causa alterações morfológicas testiculares, reduzindo a espessura do epitélio germinativo desde a dose de 5 mg/kgPV.
- Causa alterações funcionais e histopatológicas nos rins, desde a dose de 5 mg/kg (histopatologia).
- Não causa alterações hepáticas funcionais ou histopatológicas significativas nas doses utilizadas.
- Finalmente, com base no efeito sobre a testosterona sérica pode-se considerar que produto é um *disruptor* endócrino sobre o eixo reprodutivo de mamíferos *in vivo*, desde a dose mais baixa utilizada neste estudo, de 5 mg/kg.

## REFERÊNCIAS

ABREU-JR, C. H.; MURAOKA, T.; LAVORANTE, A. F. Relationship between acidity and chemical properties of Brazilian soils. **Science Agricultural**, v. 60, p. 337-343, 2003.

AKINGBEMI, B. T. Estrogen regulation of testicular function. **Reproductive Biology and Endocrinology**, v. 3, n. 51, p. 1-13, 2005. Disponível em: <<http://www.pubmedcentral.nih.gov>>. Acesso em: 10 Jul 2006.

AKINGBEMI, B. T.; GE, R.; KLINEFELTER, G. R.; ZIRKIN, B. R.; HARDY M. P. Phthalate-Induced Leydig cell Hyperplasia is Associated With Multiple Endocrine Disturbances. **PNAS – Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, v. 101, n. 3, p. 775-780, 2004.

ATANASSOVA, N.; MCKINNEL, C.; TURNER, K. J.; WALKER, M.; FISHER, J. S.; MORLEY, M.; MILLAR, M. R.; GROOME, N. P.; SHARPE, R. M. Comparative effects of neonatal exposure of male rats to potent and weak (environmental) estrogens on spermatogenesis at puberty and the relationship to adult testis size and fertility: evidence for stimulatory effects of low estrogen levels. **Endocrinology**, v. 141, n. 10, p. 3898-3907, 2000.

ATANASSOVA, N.; MCKINNEL, C.; WALKER, M.; TURNER, K. J.; FISHER, J. S.; MORLEY, M.; MILLAR, M. R.; GROOME, N. P.; SHARPE, R. M. Permanent effects of neonatal estrogen exposure in rats on reproductive hormone levels, Sertoli cell number, and the efficiency of spermatogenesis in adulthood. **Endocrinology**, v. 140, n. 11, p. 5364-5373, 1999.

ATANASSOVA, N. N.; WALKER, M.; MCKINNEL, C.; FISHER, J. S.; SHARPE, R. M. Evidence that androgens and oestrogens, as well follicle stimulating hormone, can alter Sertoli cell number in the neonatal rat. **Journal of Endocrinology**, v. 184, p. 107-117, 2005.

BARNETT, J. B.; COLBORN, T.; FOURNIER, M. Consensus Statement from the work session on 'Chemically induced alteration in the development immune system'. The Wildlife connection. **Environmental Health Perspectives**, v. 104, n. 4, p. 807-808, 1996 (Supplement).

BELLES, D.; SHANER, D.; WESTRA, P.; BRUNK, G. Comparison of efficacy absorption and translocation of three glyphosate formulations on velvetleaf. **Pesticide Management Science**, v. 62, p. 1177-1181, 2006.

BENACHOUR, N.; SIPAHUTAR, H.; MOSLEMI, S.; GASNIER, C.; TRAVERT, C.; SERALINI, G. E. Time and dose-dependent effects of Roundup on human embryonic and placental cells. **Archives of Environmental Contamination and Toxicology**, v. 53, p. 126-133, 2007.

BENEDETTI, A. L.; VITURI, C. D.; TRENTIN, A. G.; DOMINGUES, M. A. C.; ALVAREZ-SILVA, M. The effects of sub-chronic exposure of Wistar rats to the herbicide Glyphosate-Biocarb. **Toxicology Letters**, v. 153, n. 2, p. 227-232, 2004.

BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária – ANVISA. **Critérios para a classificação toxicológica**. Manual de procedimentos para análise toxicológica de produtos agrotóxicos, seus componentes e afins. Brasília: ANVISA, 2002. Disponível em: <<http://www.anvisa.gov.br/toxicologia/manual> >. Acesso em: 17 out 2005.

BRAUSCH, J. M.; SMITH, P. N. Toxicity of three polyethoxylated tallowamine surfactant formulations to laboratory and field collected fairy shrimp, *Thamnocephalus platyurus*. **Archives of Environmental Contamination and Toxicology**, v. 52, n. 2, p. 217-221, 2007.

BREWSTER, D.; WARREN, J.; HOPKINS, W. Metabolism of glyphosate in Sprague-Dawley rats: Tissue distribution, identification and quantification of glyphosate derived materials following a single oral dose. **Fundamental and Applied Toxicology**, v. 17, n. 1, p. 43-51, 1991.

CARON, K. M.; SOO, S. C.; WETSEL, W. C.; STOCCO, D. M.; CLARK, B. J.; PARKER, K. L. Target disruption of the mouse gene encoding esteroidogenic acute regulatory protein provides insights into congenital lipid adrenal hyperplasia. **PNAS – Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, v. 94, p. 11540-11545, 1997.

CASTLE, L. A.; SIEHL, D. L.; GORTON, R.; PATTEN, P. A.; CHEN, Y. H.; BERTAIN, S.; CHO, H. J.; DUCK, N.; WONG, J.; LIU, D.; LASSNER, M. W. Discovery and directed evolution of a glyphosate tolerance gene. **Science**, v. 304, p. 1151-1154, 2004.

CERDEIRA, A. L.; DUKE, S. O. The current status and environmental impacts of glyphosate-resistant crops: a review. **Journal Environmental Qual**, v. 35, p. 1633-1658, 2006.



CERDEIRA, A. L.; GAZZIERO, D. L. P.; DUKE, S. O.; MATALLO, M. B.; SPADOTTO, C. A. Review of potential environmental impacts of transgenic glyphosate-resistant soybean in Brazil. **Journal of Environmental Science and Health Part B**, v. 42, p. 539-549, 2007.

COLBORN, T.; DUMANOSKI, D.; MEYERS, J. P. **Our stolen future: are we threatening our fertility, intelligence and survival? A Scientific detective story.** New York: Ed Dutton, 1996.

COX, C.; SURGAN, M. Unidentified inert ingredients in pesticides: implications for human and environmental health. **Environmental Health Perspectives**, v. 114, n. 2, p. 1803-1806, 2006.

CRAIN, D. A.; GUILLETTE, L. J.; ROONEY, A. A.; PICKFORD, D. B. Alterations in steroidogenesis in alligators (*Alligator mississippiensis*) exposed naturally and experimentally to environmental contaminants. **Environmental Health Perspectives**, v. 105, p. 528-533, 1997.

CRISP, T. M.; CLEGG, E. D.; COOPER, R. L.; WOOD, W. P.; ANDERSON, D. G.; BAETCKE, K. P.; HOFFMANN, J. L.; MORROW, M. S.; RODIER, D. J.; SCHAEFFER, J. E.; TOUART, L. W.; ZEEMAN, M. G.; PATEL, Y. L. Environmental Endocrine Disruption: an effects assessment and analysis. **Environmental Health Perspectives**, v. 106, n. 1, p.11-56, 1998 (Supplement).

CURWIN, B. D.; HEIN, M. J.; SANDERSON, W. T.; NISHIOKA, M. G.; REYNOLDS, S. J.; WARM, E. M.; ALAVANJA, M. C. Pesticide constamination inside farm and nonfarm homes. **Journal Occupational Environmental Hygiene**, v. 2, n. 7, p. 357-367, 2005.

CURWIN, B. D.; HEIN, M. J.; SANDERSON, W. T.; STRILEY, C.; HEEDERIK, D.; KROMHOUT, H.; REYNOLDS, S. J.; ALAVANJA, M. C. Urinary pesticide concentrations among children, mothers and fathers living in farm and non-farm households in Iowa. **Journal Occupational Environmental Hygiene**, v. 51, n. 1, p. 53-65, 2007.

DALLEGRAVE, E.; MANTESE, F. D.; COELHO, R. S.; PEREIRA, J. D.; DALSENTER, P. R.; LANGELOH, A. The teratogenic potential of the herbicide glyphosate-Roundup im Wistas rats. **Toxicology Letters**, v. 142, n. 1-2, p. 45-52, 2003.

DEVLIN, T. M. **Manual de bioquímica com correlações clínicas.** 4. ed. São Paulo: Ed. Edgard Blücher Ltda., 2000. 1007 p.

EDDY, E. M.; WASHBURN, T. F.; BUNCH, D. O.; GOULDING, E. H.; GLADEN, B. C.; LUBAHN, D. B.; KORACH, K. S. Target disruption of the estrogen receptor gene in male mice causes alteration of spermatogenesis and infertility. **Endocrinology**, v. 137, n. 11, p. 4796-4805, 1996.

ENDOCRINE DISRUPTOR SCREENING PROGRAM. Proposed statement of policy. **Federal Register**. v. 63, n. 248, p. 71541-71568. 1998. Disponível em: <http://www.epa.gov/EPA-PEST/1998/December/Day-28/p34298.htm>. Acesso em: 20 Nov 2006.

EPA. ENVIRONMENT PROTECTION AGENCY: Assessing health risks from pesticides. Washington DC: Office of Pollution Prevention Worksheet, 1999. Disponível em: <<http://www.epa.gov/pesticides/factsheets/riskassess.htm>> Acesso em: 20 Nov 2006.

EPAND, R. M. Cholesterol interactions of proteins with membrane domains. **Progress in Lipid Research**, v. 45, p. 279-294, 2006.

ETCGROUP. **Down on the farm**: The impact of nano-scale technologies on food and agriculture. Ottawa: ETCGroup, 2004, 68 p. Disponível em: <<http://www.etcgroup.org>>. Acesso em: 20 Nov 2006.

FISHER, C. R.; GRAVES, K. H.; PARLOW, A. F.; SIMPSON, E. R. Characterization of mice deficient aromatase (ARKO) because of targeted disruption of the cyp19 gene. **PNAS – Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, v. 95, p. 6965-6970, 1998.

GETENGA, Z. M.; KENGARA, F. O. Mineralization of glifosate in compost-amended soil under controlled conditions. **Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology**, v. 72, p. 266-275, 2004.

GOLDMAN, J. M.; LAWS, S. C.; BALCHAK, S. K.; COOPER, R. L.; KAVLOCK, R. J. Prepubertal exposures and effects on sexual maturation and thyroid activity in the female rat. A focus on the EDSTAC recommendations. Endocrine Disrupting Screening and Testing Advisory Committee. **Critical Reviews in Toxicology**, v. 30, n. 2, p. 135-196, 2000.

GOLDSBOROUGH, L. G.; BROWN, D. J. Dissipation of glyphosate and aminomethylphosphonic acid in water and sediments of boreal forest. **Environment Toxicology Chem**, v. 12, p. 1139-1147, 1993.

GOYAL, H. O.; BRADEN, T. D.; MANSOUR, M.; WILLIAMS, C. S.; KAMALELDIN, A.; SRIVASTAVA, K. K. Diethylstilbestrol-treated adult rats with altered epididymal sperm numbers and sperm motility parameters, but without alterations in sperm production and sperm morphology. **Biology of Reproduction**, v. 64, p. 927-934, 2001.

GOYAL, H. O.; ROBATEOU, A.; BRADEN, T. D.; WILLIAMS, C. S.; SRIVASTAVA, K. K.; ALI, K. Neonatal estrogen exposure of male rats alters reproductive functions at adulthood. **Biology of Reproduction**, v. 68, n. 6, p. 2081-2091, 2003.

GRAY, L. E.; WOLF, C.; LAMBRIGHT, C.; MANN, P.; PRICE, M.; COOPER, R. L.; OSTTBY, J. Administration of potentially antiandrogenic pesticides and toxic substances during sexual differentiation produces diverse profiles of reproductive malformations in the male rat. **Toxicology and Industrial Health**, v. 15, n. 1-2, p. 94-118, 1999.

HAEFS, R.; SCHMITZ-EIBERGER, M.; MAINX, H. G.; MITTELSTAEDT, W.; NOGA, G. Studies on a new group of biodegradable surfactants for glyphosate. **Pesticide Management Science**, v. 58, n. 8, p. 825-833, 2002.

HAFEZ, E. S. E.; HAFEZ, B. (Ed.). **Reproduction in farm animals**. 7. ed. Philadelphia: Ed Lippincott Williams & Wilkins, 2000. 509 p.

HALL, P. F. Testicular steroid synthesis: organization and regulation. In: KNOBIL, E.; NEILL, J. D. (Eds.). **The physiology of reproduction**. 2. ed. New York: Raven Press Ltda, 1994, v. 2, p. 363-410.

HANEY, R. L.; SENSEMAN, S. A.; HONS, F. M. Bioremediation and biodegradation: effect of Roundup Ultra on microbial activity and biomass from selected soils. **Journal of Environmental Quality**, v. 31, p. 730-735, 2002.

HAYES, W. J.; LAWS, E. R. (Eds.) **Handbook of pesticide toxicology**. San Diego: Academic Press, 1991, v. 3, p. 1339-1340.

HOWE, C. M.; BERRILL, M.; PAULI, B. D.; HELBING, C. C.; WERRY, K.; VELDHOEN, N. Toxicity of glyphosate-based pesticides to four North American frog species. **Environmental Toxicology Chemistry**, v. 23, n. 8, p. 1928-38, 2004.

INOUE, M. H.; OLIVEIRA-JR., R. S.; REGITANO, J. B.; TORMENA, C. A.; TORNISIELO, V. L.; CONSTANTIN, J. Critérios para avaliação do potencial de lixiviação dos herbicidas comercializados no Estado do Paraná. **Planta Daninha**, v. 21, p. 313-323, 2003.

KRIMSKI, S. **Hormonal chaos. The scientific and social origins of the environmental endocrine hypothesis**. Baltimore: John Hopkins University Press, 2000.

LAWS, S. C.; STOKER, T. E.; GOLDMAN, J. M.; WILSON, V.; GRAY-JR, L. E.; COOPER, R. L. The U.S. EPA Endocrine Disruptor Screening Program: in vitro and in vivo mammalian tier 1 screening assays. In: HOOD, R. D. (Ed.) **Developmental and reproductive toxicology**. New York: Taylor and Francis, 2006, p. 489-523.

LE BLANC, G. A.; BAIN, L. J.; WILSON, V. S. Pesticides: multiple mechanisms of demasculinization. **Molecular and Cellular Endocrinology**, v. 126, n. 1, p. 1-5, 1997.

LEVALLET, J.; BILINSKA, B.; MITTRE, H.; GENISSEL, C.; FRESNEL, J.; CARREAU, S. Expression and immunolocalization of functional cytochrome p450 aromatase in mature rat testicular cells. **Biology of Reproduction**, v. 58, p. 919-926, 1998.

LU, F. C. A review of the acceptable daily intakes of pesticides assessed by WHO. **Regulatory Toxicology and Pharmacology**, v. 21, p. 352-364, 1995.

MARC, J.; MULNER-LORILLON, O.; BOULBEN, S.; HUREAU, D.; DURAND, G.; BELLÉ, R. Pesticide Roundup provokes cell division dysfunction at the level of CDK1/cyclin B activation. **Chemicals Research Toxicology**, v. 15, p. 326-331, 2002.

NORMAN, A. W.; LITWACK, G. **Hormones**. 2. ed. Califórnia: Academic Press, 1997. 558p.

OGAWA, S.; CHAN, J.; CHESTER, A. E.; GUSTAFSSON, J.; KORACH, K. S.; PFAFF, D. W. Survival of reproductive behaviors in estrogen receptor gene-deficient (ERKO) male and female mice. **PNAS – Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, v. 96, n. 22, p. 12887-12892, 1999.

OJEDA, S. R.; BILGER, M. Neuroendocrine regulation of puberty. In: CONN, P. M.; FREEMAN, M. E. (Ed.). **Neuroendocrinology in physiology and medicine**. 1. ed. New Jersey: Humana Press Inc., 2000, p. 197-224.

OJEDA, S. R.; URBANSKI, H. F. Puberty in the rat. In: KNOBIL, E.; NEILL, J. D. (Ed.). **The physiology of reproduction**. 2. ed. New York: Raven Press Ltda, 1994, v.2, p. 363-410.

OLIVEIRA, A. G.; TELLES, L. F.; HESS, R. A.; MAHECHA, G. A. B.; OLIVEIRA, C. A. Effects of the herbicide Roundap on the epididymal region of drakes *Anas platyrhynchos*. **Reproductive Toxicology**, v. 23, p. 182-191, 2007.

PARKER, R. M. Testing for reproductive toxicity. In: HOOD, R. D. (Ed.). **Developmental and reproductive toxicology**. New York: Taylor and Francis, 2006, p. 425-487.

PEIXOTO, F. Comparative effects of the Roundup and glyphosate on mitochondrial oxidative phosphorylation. **Chemosphere**, v. 61, p. 1115-1122, 2005.

PESTICIDE residues in food: 2004 toxicological evaluations. In: JOINT MEETING OF THE FAO PANEL OF EXPERTS ON PESTICIDE RESIDUES IN FOOD AND THE ENVIRONMENT AND THE WHO CORE ASSESSMENT GROUP, 2004, Rome. [Proceedings]. Geneva: World Health Organization, 2006. 723p. Disponível em: <[http://www.who.int/ipocs/publications/jmrp/draft\\_impr\\_2004\\_monograph.pdf](http://www.who.int/ipocs/publications/jmrp/draft_impr_2004_monograph.pdf)> Acesso em: 14 Jul 2007.

PORTER, W. P.; JAEGER, J. W.; CARLSON, I. H. Endocrine, Immune and Behavioral effects of aldicarb (carbamate), Atrazine (triazine) and nitrate (fertilizers) mixtures at groundwater concentrations. **Toxicology Industrial Health**, v. 15, p. 133-150, 1999.

RICHARD, S.; MOSLEMI, S.; SIPAHUTAR, H.; BENACHOUR, N.; SERALINI, G. Differential effects of glyphosate and Roundap on human placental cells. **Environmental Health Perspectives**, v. 113, n. 6, p. 716-720, 2005.

ROBERTSON, K. M.; O'DONNELL, L.; JONES, M. E. E.; MEACHEM, S. J.; BOON, W. C.; FISHER, C. R.; GRAVES, K. H.; MCLACHLAN, R. I.; SIMPSON, E. R. Impairment of spermatogenesis in mice lacking a functional aromatase (cyp19) gene. **PNAS – Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, v. 96, p. 7986-7991, 1999.

RODRIGUES, B. N.; ALMEIDA, F. S. **Guia de herbicidas**. 4. ed. Londrina: Ed. Agris, 1998, p. 300-309.

ROLHF, F. J. **tpsDig**. Versão 2.10. Suny at Stony Brook: Ecology and Evolution, 2006. Disponível em: <<http://life.bio.sunysb.edu/morph>>. Acesso em: 07 jul 2007.

SANCHES, S. M.; SILVA, C. H. T. P.; CAMPOS, S. X.; VIEIRA, E. M. Pesticidas e seus respectivos riscos associados à contaminação da água. **Pesticidas: Ecotoxicologia e Meio Ambiente**, v. 13, p. 53-58, 2003.

SCOTT, F. G. **Developmental Biology**. 6.ed. Editora Sinauer, 2005. Disponível em:< [www.ncbi.nlm.nih.gov](http://www.ncbi.nlm.nih.gov)>. Acesso em: 14 out 2005.

SHARPE, R. M.; ATANASSOVA, N.; MCKINNEL, C.; PARTE, P.; TURNER, K. J.; FISHER, J. S.; KERR, J. B.; GROOME, N. P.; MACPHERSON, S.; MILLAR, M. R.; SAUNDERS, P. T. K. Abnormalities in functional development of the Sertoli cells in rats treated neonatally with DES: a possible role for estrogens in Sertoli cell development. **Biology of Reproduction**, v. 59, p. 1084-1094, 1998.

SHUGHRUE, P. J.; LANE, M. V.; SCRIMO, P. J.; MERCHENTHALER, I. Comparative distribution os estrogen receptor alpha and beta mRNA in the rat pituitary, gonad and reproductive tract. **Steroids**, v. 63, p. 498-504, 1998.

SHUPNIK, M. A.; ROSENZWEIG, B. A. Identification of an estrogen responsive element in the rat LH beta gene. DNA-estrogen receptor interactions and functional analysis. **Journal of Biology Chemistry**, v. 266, p. 17084-17091, 1991.

SILVA, M. D.; PERALBA, M. C. R.; MATTOS, M. L. T. Determinação do glifosato e ácido aminometilfosfônico em águas superficiais do Arroio Passo do Pilão. **Pesticidas: R Ecotoxicologia e Meio Ambiente**, v. 13, p. 19-28, 2003.

SOLOMON, G. M.; SCHETTLER, T. Environment and Health: Endocrine disruption and potencial human health implications. **Canadian Medical Association of Journal**, v. 163, n. 11, p. 1471-76, 2000.

**STATISTICA** (data analysis software system), version 6. 2001.

STOCCO, D. M.; CLARK, B. J. Regulation of the acute production of steroids in steroidogenic cells. **Endocrinology Reviews**, v. 17, p. 221-244, 1996.

STOKER, T. E.; LAWS, S. C.; GUIDICI, D. L.; COOPER, R. L. The effect of atrazine on puberty in male Wistar rats: an evaluation in the protocol for the assessment of pubertal development and thyroid function. **Toxicological Sciences**, v. 58, p. 50-59, 2000a.

STOKER, T. E.; PARKS, L. G.; GRAY, L. E.; COOPER, R. L. Endocrine-disrupting chemicals: pubertal exposures and effects on sexual maturation and thyroid function in the male rat. A focus on the EDSTAC recommendations. Endocrine Disrupting Screening and Testing Advisory Committee. **Critical Reviews in Toxicology**, v. 30, n. 2, p. 197-252, 2000b.

SURGAN, M. H. Toxicity tests: "inert" and active ingredients. **Environmental Health Perspectives**, v. 113, n. 10, p. A657-A658, 2005.

TONI, L. R. M.; SANTANA, H.; ZAIA, D. A. M. Adsorção de glifosato sobre solos e minerais. **Química Nova**, v. 29, n. 4, p. 829-833, 2006.

TSUI, M. T. K.; CHU, L. M. Aquatic toxicity of glyphosate-base formulations: comparison between different organisms and the effects of environmental factors. **Chemosphere**, v. 52, p. 1189-1197, 2003.

TSUI, M. T. K.; CHU, L. M. Comparative toxicity of glyphosate-base herbicides: aqueous and sediment porewater exposures. **Archives of Environmental Contamination and Toxicology**, v. 46, p. 316-323, 2004.

TYL, R. W.; MARR, M. C. Developmental toxicity testing – Methodology. In: HOOD, R. D. (Ed.). **Developmental and reproductive toxicology**. New York: Taylor and Francis, 2006, p. 201-261.

VOGEL, J. M. Perils of paradigm: complexity, policy design and the Endocrine Disruptor Screening Program. **Environmental health: A global access science source**, v.4, n. 2, 2005. Disponível em: <<http://www.ehjournal.net/content/4/1/2>>. Acesso em: 20 Nov 2006.

WALSH, L. P.; MCCORMICK, C.; MARTIN, C.; STOCCO, D. M. Roundap inhibits steroidogenesis by disrupting steroidogenic acute regulatory (StAR) protein expression. **Environmental Health Perspectives**, v. 108, n. 8, p. 769-776, 2000.

WILLIAMS, G. M.; KROES, R.; MUNRO, I. C. Safety evaluation and risk assessment of the herbicide Roundap and its active ingredient, glyphosate, for humans. **Regulatory Toxicology and Pharmacology**, v. 31, n. 2, p. 117-165, 2000.

YASOUR, H.; RIOV, J.; RUBIN, B. Glyphosate-induced male sterility in glyphosate-resistant cotton (*Gossypium hirsutum* L.) is associated with inhibition of anther dehiscence and reduced pollen viability. **Crop Protection**, v. 26, p. 363-369, 2007.