

## AVALIAÇÃO DA GENOTOXICIDADE E TOXICIDADE DE AGROTÓXICOS UTILIZANDO BIOENSAIOS COM *ALLIUM CEPA*

### EVALUATION OF THE GENOTOXICITY AND TOXICITY OF PESTICIDES USING BIOASSAYS WITH *ALLIUM CEPA*

Jaciele Aparecida Monteiro<sup>1</sup>  
Walter Dias Júnior<sup>2</sup>

**RESUMO:** O aumento da utilização e consumo de agrotóxicos pela agricultura e população no Brasil tem como consequência, o aumento do aparecimento de resíduos dos pesticidas nos alimentos oferecidos no mercado e conseqüentemente na mesa dos brasileiros. Essa contaminação residual faz com que a população fique exposta a produtos químicos. Por isso, é importante realizar estudos que verifiquem a possibilidade de prejuízos na saúde dos trabalhadores rurais e dos consumidores desses alimentos contaminados. Por esse motivo, o objetivo desse trabalho foi avaliar se a dose de Ingestão Diária Aceitável preconizada pela Anvisa e a dose para a potabilidade da água recomenda pelo Ministério da Saúde promove genotoxicidade e toxicidade em testes com raízes de *A. cepa*. Para isso, utilizou-se três formulações comerciais das principais classes de agrotóxicos (fungicida, herbicida e inseticida) durante três períodos de exposição, 24, 48 e 72 horas. Como resultados encontramos que a divisão celular apresenta um pico no número de células em divisão entre as 15:30 e 17 h. O índice de toxicidade medido pelo comprimento das raízes da cebola mostrou que as doses testadas não promovem inibição do crescimento das raízes, ou seja, não causa efeito tóxico, ao avaliarmos o índice mitótico é possível afirmar que os agrotóxicos testados não alteram a proliferação celular, e para a variável genotoxicidade, quantificada pelo índice de alteração celular constatou-se que as doses estudadas não exercem efeito genotóxico nas raízes da cebola. Por outro lado, as doses IDA/Anvisa para Tamaron (Metamidofós), Glis480SL (Glifosato) e Dithane (Mancozebe) promoveram alterações no ciclo mitótico, sendo constatada a ocorrência de células poliploides, C-Metáfase, Perda cromossômica, Aderência cromossômica, Atraso cromossômico, Ponte e Quebra cromossômica, o que, na verdade mostra um efeito genotóxico para esses agrotóxicos, mesmo em baixas doses.

3471

**Palavras-chave:** Raiz de cebola. Fungicida. Herbicida. Inseticida. IDA. Citotoxicidade.

**ABSTRACT:** The increased use and consumption of pesticides in agriculture and by the population in Brazil has led to a rise in pesticide residues in the food available on the market and, consequently, on the tables of Brazilians. This residual contamination exposes the population to chemical products. Therefore, it is important to conduct studies that assess the potential health risks to rural workers and consumers of these contaminated foods. For this reason, the aim of this study was to evaluate whether the Acceptable Daily Intake dose recommended by Anvisa and the water potability dose recommended by the Ministry of Health induce genotoxicity and toxicity in *A. cepa* root tests. To achieve this, three commercial formulations from the main pesticide classes (fungicide, herbicide, and insecticide) were used during three exposure periods: 24, 48, and 72 hours. Cell division shows a peak in the number of dividing cells between 3:30 PM and 5:00 PM. The toxicity index, measured by the length of onion roots, indicated that the tested doses do not inhibit root growth, meaning they do not cause toxic effects. When evaluating the mitotic index, it is possible to affirm that the tested pesticides do not alter cell proliferation, and for the genotoxicity variable, quantified by the cellular alteration index, it was found that the studied doses do not exert genotoxic effects on onion roots. On the other hand, the ADI/Anvisa doses for Tamaron (Methamidophos), Glis480SL (Glyphosate), and Dithane (Mancozeb) promoted alterations in the mitotic cycle, with the occurrence of polyploid cells, C-Metaphase, Chromosomal Loss, Chromosomal Adherence, Chromosomal Delay, Chromosomal Bridge, and Chromosomal Break, which indicates a genotoxic effect for these pesticides, even at low doses.

**Keywords:** Onion root. Fungicide. Herbicide. Insecticide. ADI. Cytotoxicity.

<sup>1</sup>Acadêmica do curso de Bacharelado em Enfermagem. Universidade Estadual de Goiás.

<sup>2</sup>Professor/Orientador Universidade Estadual de Goiás. Doutor em Fisiologia Geral (FMRP-USP).

## INTRODUÇÃO

De acordo com o MAPA (Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento), o Brasil ocupa o 44º lugar no ranking mundial de consumo de agrotóxico. Esses dados fazem parte do ranking divulgado pela Organização das Nações Unidas para a Alimentação e a Agricultura (FAO) sobre uso de defensivos agrícolas (BRASIL-MAPA, 2022).

O Brasil possui uma legislação específica sobre os agrotóxicos (Lei nº 7.802/89), a qual regulamenta seu uso somente após registro em órgão federal competente, de acordo com as diretrizes e exigências dos órgãos responsáveis pelos setores da saúde, do meio ambiente e da agricultura (GRISOLIA, 2005; ANVISA-PARA, 2016). Já a Portaria Conjunta SDA/MAPA-IBAMA-ANVISA nº 1, de 10 de abril de 2023, estabelece os procedimentos a serem adotados para o registro de produtos empregados no controle de pragas, e a Portaria Conjunta SDA/MAPA - IBAMA - ANVISA Nº 2, de 29 de setembro de 2023, estabelece as diretrizes para alterações de registro de agrotóxicos e afins, quanto às inclusões ou exclusões de Produto Técnico ou Pré-Mistura registrados, formulador, manipulador e embalagens.

Apesar disso, um grave retrocesso na proteção ao uso de agrotóxicos tem interferido na legislação protetiva brasileira de autorização de registros dos agrotóxicos, flexibilizando-a em favor de interesses econômicos e políticos, tornando a proteção ineficaz e sem importância, contrariando as recomendações da ONU, que enfatiza a necessidade de cooperação entre esses órgãos na regulação e controle dos agrotóxicos, para evitar impactos adversos do uso desses pesticidas e mitigar os riscos relacionados ao uso indevido e intensivo (MOSMANN et al., 2019). Além disso, a percepção de risco ao uso de agrotóxicos entre trabalhadores agrícolas é uma avaliação subjetiva dos perigos do seu uso, influenciada por fatores como escolaridade, experiência, comunicação de risco e acesso à informação, assim como a falta de apoio técnico aos agricultores, que leva os trabalhadores à adoção de práticas inadequadas, aumentando a exposição aos pesticidas (SANTANA et al., 2024).

A Anvisa e Ministério da Saúde desenvolvem estudos que avaliam o potencial tóxico desses pesticidas, recomendam, respectivamente, as doses dos pesticidas para Ingestão Diária Aceitável (IDA) e para a potabilidade da água. Para a potabilidade da água o Ministério da Saúde trás na Portaria Nº 2.914 de 12 de dezembro de 2011 (BRASIL, 2011) o Valor Máximo Permitido (VMP), que dispõe sobre os procedimentos de controle e de vigilância da qualidade da água pra o consumo humano.

O uso de agrotóxicos implica em uma série de problemas relacionados à contaminação, pois eles dispersam-se no ambiente, contaminando a água, o solo, além de deixarem resíduos nos alimentos (KRÜGER, 2009), trazendo sérias consequências para o meio ambiente e a saúde, especialmente em países com forte dependência do agronegócio, tornando-se uma questão de saúde pública que afeta principalmente os trabalhadores rurais (SANTANA et al., 2024).

Segundo a análise realizada pelo Programa de Resíduos de Agrotóxicos em Alimentos (PARA-Anvisa), de 2016 a 2022, 58% dos alimentos consumidos diariamente pelos brasileiros apresentaram resíduos de mais de 300 agrotóxicos diferentes, sendo que 25% desses alimentos excediam o Limite Máximo de Resíduo (LMR), configurando uma irregularidade (ANVISA-PARA, 2019 e 2023).

Na saúde pública os impactos são inúmeros, pois atinge tanto os trabalhadores rurais, que lidam com os pesticidas, quanto os moradores do entorno de fábricas e fazendas, além de todos que consomem alimentos e água com resíduos, mesmo estando dentro dos limites permitidos pela Anvisa (ABRASCO, 2015).

Dependendo da natureza química e da concentração, os agrotóxicos lançados no ambiente podem causar danos diversos na biota a eles expostos. Embora, na maioria dos casos, estes compostos não sejam capazes de provocar efeitos agudos e imediatos, podem, por outro lado, reduzir a sobrevivência destes organismos devido a lesões crônicas que se manifestam a médio e longo prazo, como desordens fisiológicas em diferentes tecidos e órgãos ou como alterações genéticas (KRÜGER, 2009).

Quando essas alterações genéticas desenvolvem danos permanentes no DNA e se tornam hereditárias (mutações), o agente é denominado mutagênico (OBE et al., 2004; CALVIELLO et al., 2006). Embora ocorram mutações espontâneas, muitas delas são induzidas por agentes químicos, como os pesticidas, e como já foi dito, são consumidos diariamente pela população.

O ensaio com *Allium cepa* (cebola) é um excelente bioindicador para identificação de características citotóxicas e genotóxicas. É validado pelo Programa Internacional de Segurança Química (IPCS, WHO) e pelo Programa Ambiental das Nações Unidas (UNEP), além de ser considerado um instrumento de extrema eficiência para o monitoramento *in situ* da genotoxicidade de substâncias químicas (FACHINETTO et al., 2007).

Nesse tipo de ensaio, a exposição dos bulbos à solução teste por um determinado período, permite avaliar, tanto efeitos citotóxicos, pela redução do crescimento das raízes ou da

diminuição do índice mitótico, como efeitos genotóxicos, geralmente constatados pelas análises de micronúcleos ou de anormalidades nucleares (FISKEJÖ & LEVAN, 1993 e 1985).

A partir desse contexto, torna-se importante o conhecimento sobre a toxicidade e genotoxicidade dos agrotóxicos utilizados na agricultura em vários tipos de cultivo, principalmente em doses mais baixas. Portanto, o objetivo desse trabalho foi avaliar os possíveis danos genéticos e o desenvolvimento radicular de bulbos de cebola decorrentes da exposição a doses residuais de metamidofós, glifosato e mancozebe.

## MATERIAIS E MÉTODOS

Para esse estudo foram escolhidas três diferentes classes de agrotóxicos sendo eles: inseticida, herbicida e fungicida, cujos ingredientes ativos são Metamidofós, Glifosato e Mancozebe nas formulações comerciais Tamaron®, Glis®480SL e Dithane®NY, respectivamente. Também foram escolhidas duas doses dos agrotóxicos para exposição dos bulbos, tomando como base a Ingestão Diária Aceitável (IDA) determinada pela Anvisa e publicada no Índice Monográfico/Anvisa (ANVISA, 2016, 2015 e 2010) e o Valor Máximo Permitido (VMP) para potabilidade da água determinada pelo Ministério da Saúde publicada na Portaria n.2914, de 12 de dezembro de 2012 (BRASIL, 2011).

3474

Os valores das doses determinadas pela Anvisa (IDA) e Ministério da Saúde (MS) para os ingredientes ativos utilizadas nos testes foram Metamidofós (IDA: 0,0012mg/Kg PC ou 0,0012ppm; MS: 0,012mg/L ou 0,012ppm), Glifosato (IDA: 0,042mg/Kg PC ou 0,042ppm; MS: 0,5mg/L ou 0,5ppm) e Mancozebe (IDA: 0,03mg/Kg PC ou 0,03ppm; MS: 0,18mg/L ou 0,18ppm), e como controles foram utilizados água mineral para o Controle negativo e Paracetamol (200mg/mL ou 200ppm) para Controle positivo, o qual age como inibidor de crescimento radicular (índice de toxicidade). Além disso, os bulbos foram expostos às formulações comerciais dos agrotóxicos em três diferentes tempos de exposição, 24, 48 e 72h.

O experimento foi realizado no Laboratório de Fisiologia e Bioquímica Toxicológica na Universidade Estadual de Goiás – Unidade Universitária de Ceres/GO. Foram utilizados 150 bulbos de cebolas (cinco bulbos/tratamento), adquiridas comercialmente e posteriormente colocadas para desenvolvimento radicular em copos descartáveis com água mineral, apoiadas em hastes e madeira (palitos de dente) durante aproximadamente 48 horas. Após esse período, e a constatação do início do desenvolvimento radicular, os bulbos foram transferidos para os recipientes com as soluções testes.

Primeiramente, foi realizado um pré-teste para determinação do período circadiano de divisões celulares nas raízes de cebola, e assim determinar se existe um horário de pico de crescimento das raízes nos bulbos experimentais. Para isso, foram colocados 3 bulbos para cada horário, das 13:00 às 22:00h, com intervalo de 30 minutos, totalizando 19 horários de coleta. Cada bulbo permaneceu em um copo (200mL - apoiados com palitos de dentes) com água mineral e assim que iniciou o desenvolvimento radicular, raízes com aproximadamente 0,5 a 1,0cm de comprimento, iniciou-se as coletas nos respectivos horários.

Em cada horário os 3 bulbos foram retirados, suas raízes cortadas e fixadas em carnoy para posterior avaliação do ciclo celular (descrito abaixo), analisando-se 3.000 células por raiz, e duas raízes/bulbo.

Já para o teste experimental, ao final de cada um dos três períodos de incubação, 15 raízes/bulbo foram coletadas entre 15:30 e 17h, para estimar a toxicidade, determinada pelo comprimento médio (cm) das raízes de cada bulbo, com auxílio de um paquímetro. Em seguida as amostras foram fixadas em carnoy 3:1 (Álcool Etilico P.A: ácido Acético Glacial) por 24 horas e depois conservadas refrigeradas em álcool 70% até sua utilização. As raízes, previamente fixadas, foram lavadas em três banhos com água destilada por 5min. cada, e em seguida foram submetidas à hidrólise ácida com HCl 1N durante 8min. a 60°C. Para coloração, as raízes foram submetidas ao reativo de Schiff por duas horas em ambiente escuro conforme descrito por Fernandes et al. (2007).

3475

Após a coloração, os meristemas foram lavados em três banhos por cinco minutos cada, em água destilada, e em seguida foram confeccionadas duas lâminas (1meristema/lâmina) para cada cebola e realizada uma contagem de 1.500 células/lâmina, avaliando assim o Índice Mitótico (IM) e Índice de Alterações Celulares (IAC) em um total de 3.000 células.

O Índice Mitótico (%) e o Índice de Alterações Celulares (%) (quantidade de células portadoras de alterações nucleares) foram as variáveis utilizadas para determinar a genotoxicidade, sendo estimados durante as análises citológicas dos meristemas das raízes das cebolas, utilizando as fórmulas descritas a seguir:

$$IM(\text{índice mitótico}) = \frac{N^{\circ} \text{ de células em divisão}}{\text{Total de células observadas}} \times 100$$

$$IAC(\text{índice de alterações celulares}) = \frac{N^{\circ} \text{ de células alteradas}}{\text{Total de células observadas}} \times 100$$

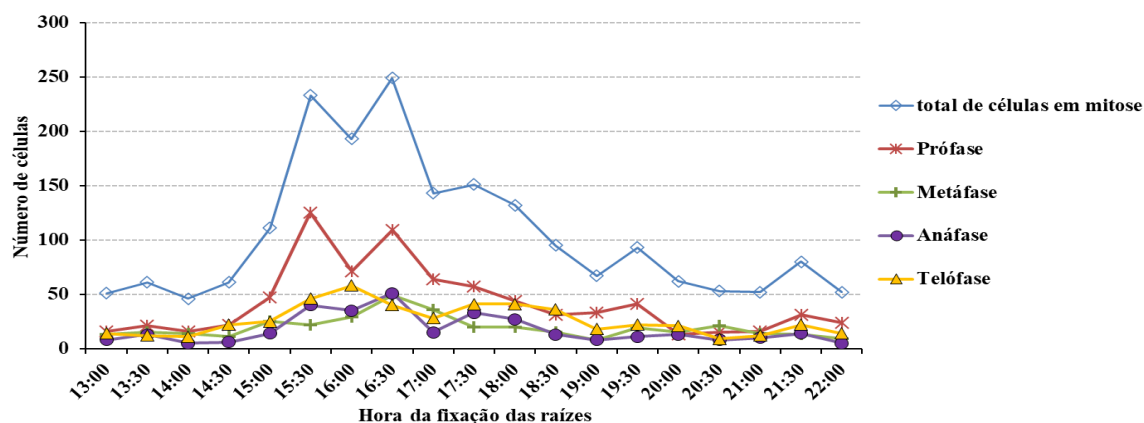
Ao comprimento radicular (toxicidade), índice mitótico (IM) e índice de alterações celulares (IAC) (aberrações cromossômicas) foi aplicada a análise de variância (ANOVA) para confirmar a variabilidade dos dados e validade dos resultados, seguido do teste t Student. Diferenças entre controles correspondentes e tratamentos de exposição foram consideradas estatisticamente significantes em  $p < 0,05$ .

## RESULTADOS

Os resultados do teste circadiano de divisão celular mostraram que houve um aumento do número de divisões das células cujo pico estava entre 15:30 e 17:00h (Figura 1).

O total de células em mitose nesse horário foi de aproximadamente  $225 \pm 29$ , representando 7,5% das 3.000 células contadas. Desse total,  $102 \pm 28$  células (3,4%) estavam em Prófase. Por outro lado, as fases de Metáfase, Anáfase e Telófase apresentaram aproximadamente  $41 \pm 10$  células (1,4%) cada uma.

**Figura 1:** Número de células em mitose, de um total de 3.000 células, separadas de acordo com cada fase de divisão celular, das 13:00 às 22:00h, evidenciando um período circadiano de aumento de divisões celulares nas raízes da cebola (*Allium cepa*).



A análise de variância dos dados experimentais mostrou que não houve diferença dos tempos de exposição testados (24, 48 e 72 horas). Assim, os valores de tempo de exposição para as variáveis de Toxicidade (cm), Índice Mitótico (%) e Índice de Alterações Celulares (IAC) (%) foram agrupados, cujas médias foram compostas por 15 repetições/tratamento.

Na Tabela 1 estão apresentados os valores para Toxicidade (cm), Índice Mitótico (IM) e Índice de Alterações Celulares (IAC), para as doses recomendadas pela Anvisa (Ingestão Diária Aceitável) e Ministério da Saúde (potabilidade da água) para os ingredientes ativos

Metamidofós, Glifosato e Mancozebe, das raízes de cebolas tratadas com as formulações comerciais Tamaron<sup>®</sup>BR, Glis<sup>®</sup>480SL, Dithane<sup>®</sup>NT, respectivamente.

Com relação ao controle positivo, o paracetamol (Dose de 200mg/mL ou 200ppm) promoveu uma inibição ( $p < 0,05$ ) do crescimento das raízes, o que ocasionou uma diminuição nos valores de Toxicidade, do Índice Mitótico e Índice de Alterações Celulares, pois não houve desenvolvimento radicular (Tabela 1 e Figura 2).

**Tabela 1.** Toxicidade (cm), Índice Mitótico (%) e Índice de Alterações Celulares (%), de 3000 células de raízes de *A. cepa* (cebola) tratadas com as formulações comerciais de Metamidofós (Tamaron<sup>®</sup>BR), Glifosato (Glis<sup>®</sup>480SL) e Mancozebe (Dithane<sup>®</sup>NT) de acordo com as doses preconizadas pela Anvisa para ingestão diária aceitável (IDA) e Ministério da Saúde (MS) para potabilidade da água (Valor Máximo Permitido, Portaria n.2.914), e seus controles positivos e negativos. IM: Índice Mitótico; IAC: Índice de Alterações Celulares. Valores representam Média $\pm$ Desvio Padrão da Média.

TRATAMENTO	TOXICIDADE (cm)		IM (%)		IAC (%)	
	IDA	MS	IDA	MS	IDA	MS
CONTROLE (-)	1,96 $\pm$ 0,20	1,55 $\pm$ 0,37	2,91 $\pm$ 0,65	2,70 $\pm$ 0,64	1,64 $\pm$ 0,52#	1,14 $\pm$ 0,49
CONTROLE (+)	0,45 $\pm$ 0,12	0,51 $\pm$ 0,09	0,21 $\pm$ 0,57	0,31 $\pm$ 0,55	0,16 $\pm$ 0,43	0,16 $\pm$ 0,16
METAMIDÓFOS	1,69 $\pm$ 0,28	1,81 $\pm$ 0,49	2,96 $\pm$ 1,09*	2,62 $\pm$ 0,85*	1,82 $\pm$ 0,75*#	1,05 $\pm$ 0,38*
GLIFOSATO	1,62 $\pm$ 0,41	1,64 $\pm$ 0,49	2,82 $\pm$ 0,97*	2,53 $\pm$ 0,60*	1,88 $\pm$ 0,58*#	1,10 $\pm$ 0,40*
MANCOZEBE	1,83 $\pm$ 0,28	1,51 $\pm$ 0,61	2,81 $\pm$ 1,27*	2,65 $\pm$ 1,39*	1,74 $\pm$ 0,81*#	1,16 $\pm$ 0,79*

\* ( $p < 0,05$ ) Agrotóxico versus controle positivo dentro de dose.

# ( $p < 0,05$ ) Dose (IDA versus MS) dentro de agrotóxico.

3477

Por outro lado, os tratamentos não inibiram o crescimento das raízes, ou seja, não demonstraram efeitos tóxicos (Figura 2). A ausência de Toxicidade é evidenciada pelo desenvolvimento radicular dos tratamentos serem muito semelhantes ao do controle negativo ( $p > 0,05$ ) para todos os agrotóxicos e doses testadas.

O Índice Mitótico é caracterizado pelo número de células em divisão e permite avaliar o potencial de uma determinada substância em inibir ou aumentar a proliferação celular. Não foi possível observar nenhuma alteração no IM, pois os resultados dos grupos expostos foram semelhantes ao controle negativo.

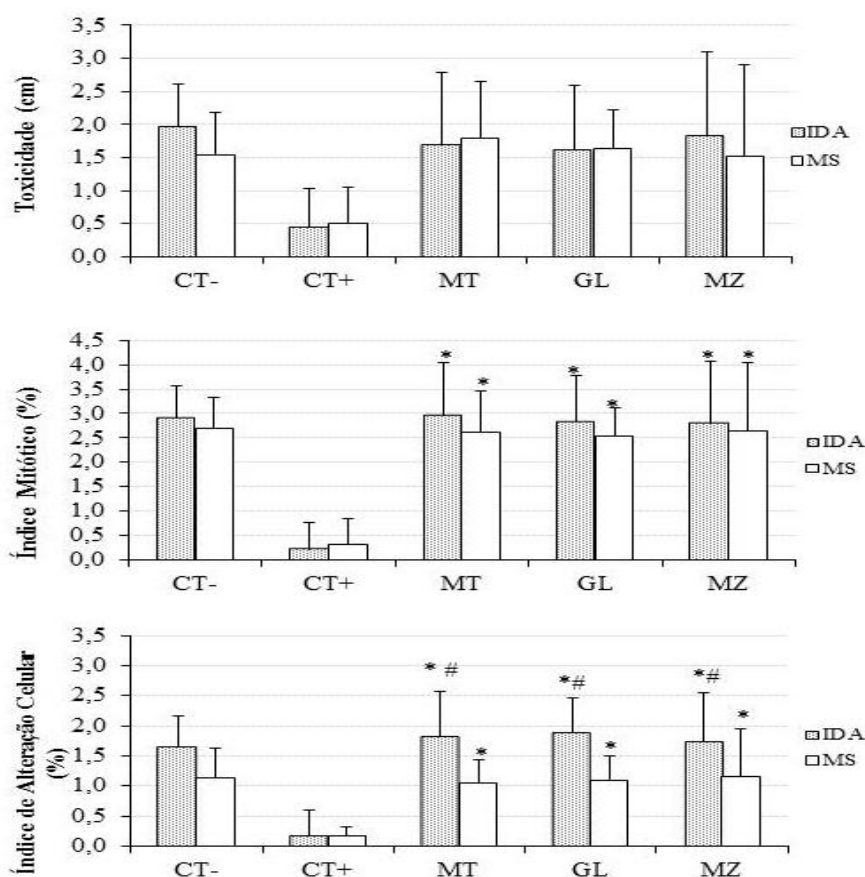
Ao se comparar as doses (IDA e MS) dos pesticidas é possível verificar que as doses referentes à IDA/Anvisa e MS dentro de cada agrotóxico não promoveu alteração no índice mitótico das radículas de todos os bulbos tratados (Tabela 1 e Figura 2).

Portanto, podemos afirmar que as doses preconizadas pela Anvisa e o Ministério da Saúde não promovem alteração na proliferação das células das raízes dos bulbos tratados com os agrotóxicos.

Na Tabela 1 e Figura 2 também estão apresentados os valores para Índice de Alterações Celular (IAC), o qual representa o agrupamento de todas as aberrações cromossômicas encontradas nas células analisadas e reflete a genotoxicidade dos agrotóxicos estudados.

De acordo com os resultados, os tratamentos com os agrotóxicos Metamidofós, Glifosato e Mancozebe nas doses preconizadas pela IDA/Anvisa e Ministério da Saúde não promoveram alterações ( $p > 0,05$ ) no IAC (Índice de Alterações Celulares), uma vez que os resultados dos grupos expostos aos agrotóxicos foram semelhantes ao controle negativo, ou seja, não apresentam efeitos genotóxicos. Para essa análise foram considerados como aberrações cromossômicas, nas diferentes fases da divisão celular (prófase, metáfase, anáfase e telófase), Célula Ameboide, Célula Binucleada, Micronúcleo, Célula poliploide, C-Metáfase, Perda cromossômica, Aderência cromossômica, Atraso cromossômico, Ponte e Quebra cromossômica, as quais estão apresentadas na Tabela 2 e ilustradas na Figura 3.

**Figura 2.** Comprimento das raízes (cm), Índice Mitótico (IM= (células em divisão/3000)x100) e Índice das Alterações Celulares (IAC=(células com alterações/3000)x100), de raízes de *A. cepa* (cebola) tratadas com as formulações comerciais de metamidofós (Tamaron®BR), glifosato (Glis®480SL) e mancozebe (Dithane®NT) de acordo com as doses preconizadas pela Anvisa para ingestão diária aceitável (IDA) e Ministério da Saúde (MS) para potabilidade da água, e seus controles positivos e negativos. Valores representam Média±Desvio Padrão. # ( $p < 0,05$ ) Dose (IDA versus MS) dentro de agrotóxico. \* ( $p < 0,05$ ) Agrotóxico versus controle positivo dentro de dose.





Por outro lado, ao se analisar o efeito isolado das ocorrências das alterações celulares dentro de cada dose de agrotóxico, percebe-se que existe uma variação significativa ( $p < 0,05$ ).

A ocorrência de célula Amebóide, Binucleada e Micronúcleos foi extremamente baixa, sendo que os Micronúcleos totalizaram somente seis eventos para a dose IDA/Anvisa e quatro para a dose do Ministério da Saúde, distribuídos entre os tratamentos.

Apesar da análise de variância não mostrar efeito dos agrotóxicos nas aberrações cromossômicas como um todo, é possível observar que algumas alterações nucleares se mostraram mais frequentes. Observa-se um aumento ( $p < 0,05$ ) de 139,5% na ocorrência de anomalias como Células poliploides (POL), 183% de Aderência cromossômica (ADC) e 53% de Ponte (Tabela 2). Porém, também foi observada uma diminuição ( $p < 0,05$ ) de 86,3% na ocorrência das anomalias como C-Metáfase (CM) e de 99,6% para Quebra cromossômica (QB) (Tabela 2). Essas significativas alterações só foram observadas para a dose IDA/Anvisa. Isso mostra que os valores para IDA/Anvisa promovem alterações no ciclo celular.

**Tabela 2** Alterações do Ciclo Mitótico nos tratamentos Metamidófos (Tamaron®), Glifosato (Glis®480SL), Mancozebe (Dithane®NT) para as concentrações definidas pela IDA/Anvisa e Ministério da Saúde, nas diferentes fases da divisão celular (prófase, metáfase, anáfase e telófase). \*( $p < 0,05$ ) versus controle negativo.

TRATAMENTO	AM	BIN	MN	POL	CM	PC	ADC	ATR	PT	QB	
C(-)	0,00	3,33	0,00	12,33	7,53	1,13	4,40	2,73	4,13	13,6	
C(+)	0,07	0,67	0,13	0,60*	1,00*	0,00*	0,00*	0,20*	0,07*	2,07*	
<b>IDA/Anvisa</b>	Mt	0,00	0,00	0,27	29,93*	1,20*	1,00	11,60*	3,87	6,53*	0,07*
	Gl	0,00	0,27	0,00	29,73*	4,00	0,40*	13,20*	2,40	6,47*	0,00*
	Mz	0,00	0,00	0,00	28,93*	0,87*	1,13	12,53*	2,67	6,00*	0,07*
<b>MS</b>	C(-)	0,00	0,20	0,00	14,33	1,53	1,40	6,87	5,60	4,27	0,00
	C(+)	0,07	0,00	0,13	0,53*	0,07*	0,67*	0,67*	2,73*	0,00*	0,00*
	Mt	0,00	0,20	0,07	13,33	3,67*	0,60	5,87	3,80*	3,93	0,13
	Gl	0,00	0,00	0,07	15,00	2,13	1,33	5,80	4,87	3,47	0,20*
	Mz	0,00	0,33	0,00	13,00	3,33	2,53	6,47	5,53	3,40	0,07

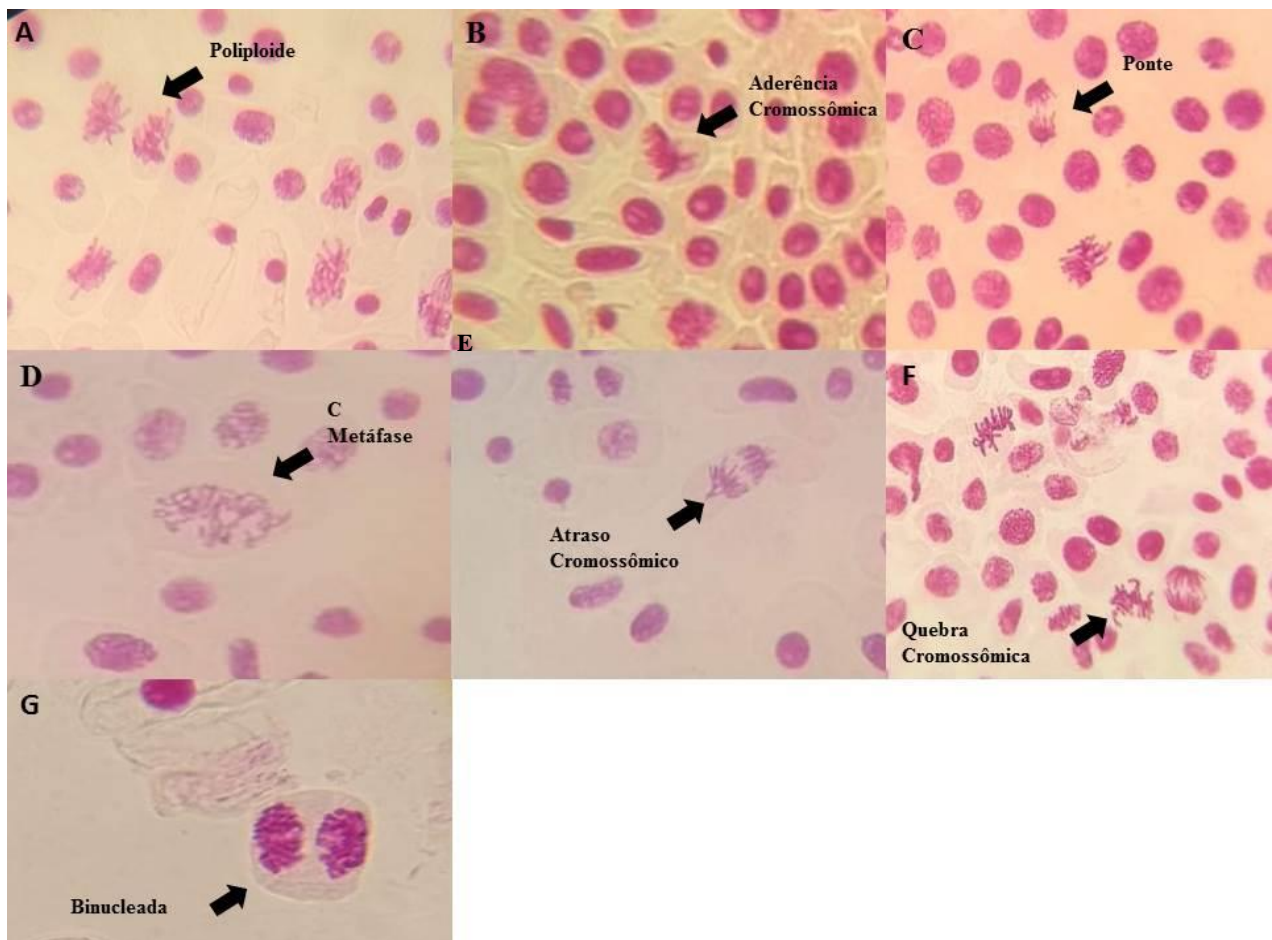
AM: Ameboide; BIN: Binucleada; MN: Micronúcleo; POL: Célula poliploide; CM: C-Metáfase; PC: Perda cromossômica; ADC: Aderência cromossômica; ATR: Atraso cromossômico; PT: Ponte; QB: Quebra cromossômica; C(-): controle negativo; C(+): controle positivo; Mt: metamidofós; Gl: glifosato; Mz: mancozebe; MS: Ministério da Saúde; IDA: Ingestão Diária Aceitável.

Para a dose do Ministério da Saúde, somente o tratamento com metamidofós promoveu aumento de 139% na ocorrência de C-Metáfase e uma queda de 32% na ocorrência de Atraso

cromossômico, como também o Glifosato promoveu um ligeiro aumento do número de Quebra cromossômica.

Ao se comparar as doses da IDA/Anvisa com MS é possível constatar que a dose determinada pela Anvisa para os três agrotóxicos promoveu um aumento ( $p < 0,05$ ) nas alterações do ciclo mitótico, sendo 73,3%, 71% e 50% para metamidofós, glifosato e mancozebe, respectivamente (Tabela 1 e Figura 2).

**Figura 3.** Alterações cromossômicas encontradas nas células meristemáticas de raiz de cebola (*Allium cepa*) de bulbos tratados com as formulações comerciais de Metamidofós (Tamaron®BR), Glifosato (Glis®480SL) e Mancozebe (Dithane®NT) de acordo com as doses preconizadas pela Anvisa para ingestão diária aceitável (IDA) e Ministério da Saúde (MS) para potabilidade da água. A: Metáfase poliploide; B: Metáfase com Aderência Cromossômica; C: Anáfase com ponte; D: C-Metáfase; E: Anáfase com atraso cromossômico, F: Metáfase com quebra cromossômica, G: Célula binucleada.



## DISCUSSÃO

Existe uma onda de divisão celular sincronizada nas raízes de cebola, por volta das 15:30 a 16:30h, e a coleta das raízes nesse horário tem grande probabilidade de apresentar um maior número de células em divisão celular, facilitando a avaliação das alterações genéticas após uma

exposição a um composto químico específico. Dessa forma, recomenda-se a coleta das raízes nesse horário para experimentos com objetivo de avaliação de genotoxicidade.

O índice de toxicidade mostra que as baixas doses determinadas pela IDA/Anvisa e MS para os agrotóxicos testados em nosso experimento não interferem no crescimento das raízes das cebolas. Isso indica que não houve nenhum indicador de efeito subletal, não havendo nem inibição e nem retardo do crescimento da raiz (SOBRERO e RONCO, 2004).

Ao estudar o efeito de diferentes doses e tempos de exposição do inseticida Fipronil, Pedro (2008) relata que a germinação das sementes expostas foi normal, e em consequência disso, as divisões celulares ocorreram normalmente, uma vez que, não foram encontradas células em processo de morte celular e nem alteração nos índices mitóticos, confirmando que o inseticida Fipronil não é citotóxico para *A. cepa*, corroborando nossos resultados para o inseticida metamidofós nas doses da IDA/Anvisa e MS, e nos três diferentes tempos de exposição.

Martins et al. (2018) estudaram o efeito de várias diluições (0,0001; 0,001; 0,01; 0,1; 1, 10 e 100%, equivalente à 0,4 até 400.000mg/L) do herbicida 2,4-D no crescimento de raízes de cebola e observaram que essas doses promoveram uma inibição do crescimento das raízes de *A. cepa*. Esse herbicida possui mecanismo auxínico somente em dicotiledôneas. Um herbicida auxínico reproduz a ação do ácido indolacético, que é uma auxina natural, e em baixas concentrações, promove o alongamento da raiz. Por outro lado, concentrações mais altas desse composto promovem efeitos contrários, ou seja, inibe o crescimento radicular. Apesar de não apresentar um efeito auxínico nas monocotiledôneas como *A. cepa*, mesmo uma concentração de 0,4mg/L (0,4ppm ou 0,0001%) de 2,4-D ainda foi considerada alta o suficiente para inibir o crescimento das raízes. Em nosso trabalho as doses do herbicida Glifosato testadas (IDA: 0,042mg/Kg PC ou 0,042ppm; MS: 0,5mg/L ou 0,5ppm) também não apresentaram nenhuma alteração no crescimento das raízes, apesar das dosagens estarem próximas às estudadas por Martins et al. (2018).

Já o glifosato estudado por Krüger (2009) nas concentrações de 0,36 a 1,44mg/L (1 a 4μL/L a 36%*m/v* de sal de glifosato) mostrou uma inibição do crescimento das raízes que variou de 37 a 58% em função da dose, em relação ao observado no controle negativo. Porém, a menor dose utilizada por Krüger (2009) é pelo menos 8,5 vezes maior que a dose utilizada em nosso trabalho.

Krüger (2009) avaliou também os efeitos tóxicos do fungicida Mancozebe. A menor dose utilizada por ele foi de 250mg/L ou 250ppm, ou seja, aproximadamente 8.300 vezes maior que a dose de mancozebe utilizada em nosso trabalho (IDA/Anvisa: 0,03mg/Kg ou 0,03ppm). Essa alta dose utilizada por Krüger (2009) promoveu uma inibição no crescimento das raízes. Por outro lado, as doses da IDA/Anvisa e MS utilizada em nosso trabalho não promoveram efeitos tóxicos, pois as raízes desse tratamento apresentaram crescimento normal durante todo período de incubação.

Assim como a toxicidade é utilizada para avaliar o efeito citotóxico desses pesticidas o Índice mitótico (IM) também tem a mesma finalidade, pois busca observar a capacidade de proliferação celular nas radículas (SOARES et al., 2024 e ALMEIDA et al., 2021). Esses autores afirmam que as alterações citotóxicas que inibem a divisão celular são evidenciadas por um Índice Mitótico (IM) significativamente menor que o do controle negativo. Já valores de IM significativamente maiores que controle negativo indicam alterações na divisão celular, que interferem no ciclo celular e aumentam a probabilidade das células realizarem um check-point para iniciar uma nova rodada de mitose (SOARES et al., 2024 e ALMEIDA et al., 2021).

Martins et al. (2018) afirmam que o herbicida Tordon® na concentração de 0,01% (40mg/L ou 40ppm) apresentou efeitos citotóxicos nas raízes de *A. cepa*. Por outro lado, Pedro (2008) ao estudar o inseticida Fipronil, e Rodríguez et al. (2015) ao estudar o inseticida Imidacloprid, não observaram alterações do Índice Mitótico. Da mesma forma, a exposição dos bulbos deste experimento aos três diferentes agrotóxicos (Tamaron-Metamidofós; Glis480SL-Glifosato e Dithane-Mancozebe) e nas doses testadas, IDA/Anvisa e Ministério da Saúde, também não promoveu alterações do índice mitótico das raízes, provando que nessas doses esses três pesticidas não têm potencial em inibir ou aumentar a proliferação celular.

Porém, Silva Souza et al. (2024) verificaram um efeito dos herbicidas 2,4-D e Glifosato no índice mitótico, sendo que uma dose de 400µg/L de 2,4-D inibe o índice mitótico e as doses de 0,65 e 65µg/L de Glifosato estimulam o índice mitótico. O trabalho desses autores comprova que a exposição de baixas doses (permitida pela legislação brasileira) aos herbicidas estudados promovem efeitos citotóxicos.

No que diz respeito à genotoxicidade os resultados de nossas análises demonstram que as doses utilizadas não promoveram alterações no índice de genotoxicidade, uma vez que os resultados dos grupos expostos aos agrotóxicos foram semelhantes ao controle negativo.

Ao se analisar isoladamente os grupos expostos com a dose IDA/Anvisa verifica-se um aumento do Índice de Alterações Celulares (IAC). É possível observar que houve um aumento do número de células poliploides, aderências cromossômicas e pontes, e uma diminuição no número de C-metáfase e quebras cromossômicas.

Isso sugere que as doses recomendadas pela Anvisa, para os três agrotóxicos estudados, estimula o aparecimento de alterações celulares durante a divisão celular, mas não é possível afirmar que esse efeito é resultado da variação da dose, uma vez que o controle negativo também apresentou uma variação do IAC, com um aumento de 44% ( $p < 0,05$ ) para a dose da IDA. Apesar dos controles IDA e MS apresentarem essa variação significativa entre as doses, não sabemos explicar o porquê dessa variação.

Porém, Silva Souza et al. (2024) afirmam que os herbicidas 2,4-D e Glifosato promovem aumento na frequência de aberrações cromossômicas e micronúcleo, e afirmam que, a exposição à baixas doses (permitidas pela legislação Brasileira) promove efeitos genotóxicos.

Souza (2010) descreve uma indução de alterações cromossômicas para o inseticida Fipronil, registrando a ocorrência de células com perdas cromossômicas, C-metáfases e aderência cromossômica, corroborando nossos resultados.

Dentre todas as aberrações observadas por Souza (2010) as células poliploides, as células com aderência cromossômica e com ponte foram as mais frequentes. Em nosso trabalho também podemos observar um aumento dessas mesmas alterações cromossômicas, para o Metamidofós, Glifosato e Mancozebe.

A aderência cromossômica reflete efeitos altamente tóxicos, geralmente irreversíveis, que podem levar à formação de pontes cromossômicas devido à falha na separação dos cromossomos aderidos durante a anáfase (SABEEN et al., 2020 e RABELO e CORREIA, 2024).

De acordo com Silva et al. (2024) um agente químico é considerado genotóxico, quando danifica o DNA de forma direta ou indireta. Apesar disso, não é possível afirmar que este inseticida Metamidofós é genotóxico, mas é possível afirmar que, assim como Finopril, o Metamidofós apresentou uma maior ação no citoplasma do que no núcleo celular devido à ocorrência das alterações nucleares encontradas.

Fernandes et al. (2007) estudaram a Trifuralina, que é um herbicida microtúbulo despolimerizante, pois é capaz de promover mudanças críticas no processo de divisão celular, podendo resultar em instabilidade genômica. Esses autores relatam a ação desse herbicida em duas versões, a primeira é a ligação do herbicida às moléculas da proteína tubulina, impedindo

a polimerização dos microtúbulos, e a segunda, é o aumento do conteúdo de íons cálcio nas células, promovendo problemas na regulação polimerizante/despolimerizante dos microtúbulos, na qual a alta concentração de cálcio certamente interfere na atividade das enzimas que controlam esse processo.

O complexo herbicida-tubulina formado, inviabiliza a polimerização dos microtúbulos e conseqüentemente, dos fusos mitóticos. Essa estrutura é uma das responsáveis pelo sucesso da divisão celular, e sua ausência pode ocasionar alterações como C-metáfases e células poliploides.

Células poliploides acontecem também devido ao impedimento do processo de citocinese, em decorrência da dificuldade na formação do fragmoplasto (FERNANDES, 2007). A ausência do fragmoplasto impede a formação de células filhas, originando células poliploides, as quais tendem a apresentar maior concentração cromossômica, que pode acarretar aderências cromatídicas e cromossômicas.

A aderência cromossômica é um sinal comum da ação tóxica sobre material genético e decorre, provavelmente, em um efeito irreversível para células (FISKEJÖ e LEVAN, 1993 e 1985; MARCANO e DEL CAMPO, 1995; MARCANO et al., 1998).

A Nota Técnica n.23 publicada pela Anvisa (2018), que sugere a revisão da dose de ingestão diária aceitável (IDA), concluiu que, quanto às propriedades proibitivas de registro, previstas na Lei 7.802, de 11 de julho de 1989 (Lei dos Agrotóxicos), o glifosato não apresenta características mutagênicas, teratogênicas e carcinogênicas, não é desregulador endócrino e não é tóxico para a reprodução. Além disso, essa nota técnica aponta que não há evidências científicas de que o glifosato cause mais danos à saúde que os testes com animais de laboratório puderam demonstrar. Após a reavaliação dos estudos científicos foram determinados novos parâmetros de referência de avaliação de risco do glifosato, definindo uma nova IDA para o Glifosato com valores de 0,5mg/Kg de peso corporal/dia (ANVISA, 2024), o que representa um aumento de 12 vezes ao valor anterior (0,042mg/Kg de peso corporal – ANVISA, 2015).

De acordo com os resultados apresentados nesse trabalho, de fato as raízes expostas a antiga dose de IDA/Anvisa de 0,042mg de glifosato/Kg PC/dia não apresentou nenhuma alteração na citotoxicidade ou genotoxicidade, resta saber se esse aumento de 12 vezes também não é prejudicial à célula.

No caso do fungicida mancozebe estudos relatam um aumento significativo de danos ao DNA em células de ratos Wistar expostas *in vitro* (CALVIELLO et al., 2006). O grupo de

Georgian et al. (1983) também estudaram os efeitos do Mancozebe sobre as células de medula óssea de ratos Wistar (*in vivo*) e sobre linfócitos humanos (*in vitro*), e revelaram um aumento nas frequências de aberrações cromossômicas de modo dose-dependente nessas células.

A atividade genotóxica do Mancozebe também foi documentada em um estudo realizado por Krüger (2009), revelando um aumento na frequência de anormalidades na divisão celular em raízes de bulbos de *Allium cepa* expostos a uma formulação comercial do produto. Outro estudo da ação do Mancozebe não mostrou efeito de indução de danos ao DNA dos eritrócitos de peixes (*Astyanax jacuhiensis*, uma espécie de lambari) (GOLDONI, 2012).

Em nosso estudo também não foi observado nenhuma alteração tóxica ou genotóxica dos tratamentos, corroborando com estudo de Goldoni (2012). Apesar disso, não se pode descartar a possibilidade de efeitos genotóxicos desse fungicida com concentrações mais elevadas ou com maior tempo de exposição.

Portanto, é possível inferir que as doses recomendadas pela Anvisa/IDA e Ministério da Saúde para a potabilidade da água não provocam efeitos de toxicidade e genotoxicidade em testes com *Allium cepa*. Porém, não podemos descartar os perigos dos agrotóxicos em outros sistemas, como nos vertebrados, pois existem muitas evidências científicas testando outras doses e outros produtos comerciais e obtendo resultados preocupantes.

## CONCLUSÃO

As doses IDA/Anvisa e Ministério da Saúde para Tamaron (Metamidofós), Glis480SL (Glifosato) e Dithane (Mancozebe) não mostraram efeitos tóxicos, e nem promoveram alterações na proliferação das células das raízes de bulbos de *Allium cepa*. O tempo de exposição dos bulbos também não mostrou influência nos resultados de toxicidade e genotoxicidade. Por outro lado, a dose IDA/Anvisa para Tamaron (Metamidofós), Glis480SL (Glifosato) e Dithane (Mancozebe) promoveu alterações no ciclo mitótico, sendo constatada a ocorrência de células poliploides, C-Metáfase, Perda cromossômica, Aderência cromossômica, Atraso cromossômico, Ponte e Quebra cromossômica, o que na verdade mostra um efeito genotóxico para esses agrotóxicos, mesmo em baixas doses.

## AGRADECIMENTOS

Ao Edital CCB/UEG 001/2018 – Bolsa PVIC de iniciação científica da acadêmica de Enfermagem Jaciele Aparecida Monteiro.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABRASCO. **Dossiê: um alerta sobre os impactos dos agrotóxicos na saúde** / Organização de Fernando Ferreira Carneiro, Lia Giraldo da Silva Augusto, Raquel Maria Rigotto, Karen Friedrich e André Campos Búrigo. - Rio de Janeiro: EPSJV; São Paulo: Expressão Popular, 2015. 624 p. Disponível em: < [https://abrasco.org.br/wp-content/uploads/2016/11/DossieAbrasco\\_2015\\_web.pdf](https://abrasco.org.br/wp-content/uploads/2016/11/DossieAbrasco_2015_web.pdf)>

ALMEIDA, L. M.; BAILÃO, E. F. L. C.; CAMILO-COTRIM, C. F.; SOARES, R. R.; GARCIA, F. F.; PAULA, M. I. M.; LIMA, G. G. **Conservação e monitoramento ambiental utilizando Allium cepa como indicadora de poluição das águas superficiais: uma revisão narrativa**. Capítulo II. Robson José de Oliveira – Ed. Águas e Florestas: desafios para conservação e utilização. Editora Científica. p. 174-191. 2021. DOI:<<http://dx.doi.org/10.37885/210303792>>

ANVISA. Índice Monográfico, glifosato. Diário oficial da união. 2015. Disponível em: <https://www.bing.com/ck/a?!&&p=3b65b17f65b117fJmltdHM9MTcyNDE5ODQwMCZpZ3VpZDoyZjMxNWY5NiiNDNlTYwODAtMWM2NyooYjgzYzU2OTYxYzImaW5zaWQ9NTE5Nw&ptn=3&ver=2&hsh=3&fclid=2f315f96-c43e-6080-1c67-4b83c56961c2&psq=indice+monogr%c3%arfico+glifosato+2015&u=ariaHRocDovL2FudGlnby5hbnZpc2EuZ292LmJyL2RvY3VtZW50cy8zMzgz4MC8yNTUwODg5LyVDMYU4RG5kaWNlK01vbm9nciVDMYVBMWZpY28rZG8rY29tcG9uZW50ZStHbGlmb3NhdG8vODEoYzU2NTktZGFkNyooZmUzLTlmY2MtZTJmOTlmZTEoNDBlP3ZlcnNpb249MS4w&ntb=1>

ANVISA. Índice Monográfico, glifosato. Diário oficial da união. 2024. Disponível em: <https://www.bing.com/ck/a?!&&p=77f982037dabd4f6JmltdHM9MTcyNDE5ODQwMCZpZ3VpZDoyZjMxNWY5NiiNDNlTYwODAtMWM2NyooYjgzYzU2OTYxYzImaW5zaWQ9NTIxOA&ptn=3&ver=2&hsh=3&fclid=2f315f96-c43e-6080-1c67-4b83c56961c2&psq=indice+monogr%c3%arfico+glifosato+2015&u=ariaHRocHM6Ly93d3cuZ292LmJyL2FudmlzYS9wdCii9zZXRvcnJlZ3VsYWRvL3JlZ3VsYXJpemFjYW8vYWdyb3Rv eGljb3MvbW9ub2dyYWZpYXMTvW9ub2dyYWZpYXMTYXVob3JpemFkYXMTvZy10LWkvNDM3OGpzb24tZmlsZSox&ntb=1>

ANVISA. Índice Monográfico, mancozebe. 2010. Disponível em: < <https://www.gov.br/anvisa/pt-br/setorregulado/regularizacao/agrotoxicos/monografias/monografias-autorizadas/m-n-o/4419json-file-1>>

ANVISA. Índice Monográfico, metamidófos/acefato. 2016. Disponível em: < <https://www.gov.br/anvisa/pt-br/setorregulado/regularizacao/agrotoxicos/monografias/monografias-autorizadas/a/acefato>>

ANVISA. **Nota Técnica n.23/2018/SEI/CREAV/GEMAR/GGTOX/DIRE3/ANVISA**. Nota técnica preliminar sobre conclusões da reavaliação do glifosato com as respectivas recomendações e proposta de minuta de RDC a ser submetida a consulta pública. SEI/ANVISA – 0370960-Nota técnica. 10p. 2018. Disponível em: < <https://apublica.org/wp-content/uploads/2020/09/nota-tecnica-23-de-2018-glifosato.pdf>>



ANVISA-PARA. **Programa de análise de resíduos de agrotóxicos em alimentos-PARA. Relatório das das amostras analisadas no período de 2017 à 2018.** Primeiro ciclo do Plano Plurianual 2017-2018. Gerência Geral de Toxicologia. Brasília- DF, 136p., 2019. Disponível em: <<https://www.gov.br/anvisa/pt-br/assuntos/agrotoxicos/programa-de-analise-de-residuos-em-alimentos/arquivos/3770json-file-1>>

ANVISA-PARA. **Programa de análise de resíduos de agrotóxicos em alimentos-PARA. Relatório dos resultados das análises de amostras monitoradas nos ciclos 2018-2019 e 2022.** Plano Plurianual 2017-2022. Brasília- DF, 191p., 2023. Disponível em: <<https://www.gov.br/anvisa/pt-br/assuntos/agrotoxicos/programa-de-analise-de-residuos-em-alimentos/arquivos/relatorio-2018-2019-2022>>

BRASIL. **Lei nº 7.802, de 11 de julho de 1989.** Dispõe sobre a pesquisa, a produção, a embalagem e rotulagem, o transporte, o armazenamento, a comercialização, a propaganda comercial, a utilização, a importação, a exportação, o destino final dos resíduos e embalagens, o registro, a classificação, o controle, a inspeção e a fiscalização de agrotóxicos, seus componentes e afins, e dá outras providências. In: Legislação federal de agrotóxicos e afins. Brasília: Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento, 1998. p. 7-13. Disponível em: <[https://www.planalto.gov.br/ccivil\\_03/LEIS/L7802.htm](https://www.planalto.gov.br/ccivil_03/LEIS/L7802.htm)>

BRASIL-MAPA. Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento. **Ranking da FAO mostra que uso de defensivos no Brasil é menor que em diversos países da Europa.** publicado em 26/06/2019, atualizado em 28/12/2022. Disponível em <<https://www.gov.br/agricultura/pt-br/assuntos/noticias/ranking-da-fao-mostra-que-uso-de-defensivos-no-brasil-e-menor-que-em-diversos-paises-da-europa>>

3487

BRASIL. Ministério da Saúde. Gabinete do Ministro. **Portaria nº2.914, de 12 de dezembro de 2011.** Dispõe sobre os procedimentos de controle e de vigilância da qualidade da água para consumo humano e seu padrão de potabilidade. Diário Oficial da União da República Federativa do Brasil. Brasília, 14 dez 2011. Disponível em: <[https://cvs.saude.sp.gov.br/zip/Portaria\\_MS\\_2914-11.pdf](https://cvs.saude.sp.gov.br/zip/Portaria_MS_2914-11.pdf)>

CALVIELLO, G.; PICCIONI, E.; BONINSEGNA, A.; TEDESCO, B.; MAGGIANO, N.; SERINI, S.; WOLF, F.I.; PALOZZA, P. DNA damage and apoptosis induction by the pesticide Mancozeb in rat cells: Involvement of the oxidative mechanism, **Toxicology and Applied Pharmacology**, v.211, n.2, p.87-96. 2006. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.taap.2005.06.001>

FACHINETTO, J. M.; BAGATINI, M. D.; DURIGON, J.; SILVA, A. C. F.; TEDESCO, S. B.; Efeito anti-proliferativo das infusões de *Achyrocline satureioides* DC (Asteraceae) sobre o ciclo celular de *Allium cepa*. **Revista Brasileira de Farmacognosia**. v.17, n.1, p.49-54. 2007. Disponível em: <<http://www.scielo.br/pdf/rbfar/v17n1/a11v17n1.pdf>>

FERNANDES, T. C. C, MAZZEO, D. E. C.; MARIN-MORALES, M. A. Mechanism of micronuclei formation in polyploidized cells of *A. cepa* exposed to trifluralin herbicide. **Pesticide Biochemistry and Physiology**, San Diego. v.88, n.3, p.252-259, 2007. DOI:<<https://doi.org/10.1016/j.pestbp.2006.12.003>>

FISKEJÖ, G.; LEVAN, A. Evaluation of the first tem MeIC chemicals in the *Allium cepa*. **Atlas**, v. 21, p. 139-149. 1993. DOI:<<https://doi.org/10.1177/026119299302100204>>

FISKESJÖ, G. The Allium test as a standard in environmental monitoring. **Hereditas**, Lundskrona, v. 102, p. 99-112. 1985. DOI:< <https://doi.org/10.1111/j.1601-5223.1985.tb00471.x>>

GEORGIAN, L.; MORARU, I.; DRAGHICESCU, T.; DINU, I.; GHIZELEA, G. Cytogenetic effects of alachlor and mancozeb. **Mutation Research**, Amsterdam, v. 116, N.3-4, p. 341-348, mar. 1983. DOI:< [https://doi.org/10.1016/0165-1218\(83\)90072-1](https://doi.org/10.1016/0165-1218(83)90072-1)>

GOLDONI, A.; SILVA, L. B., Potencial mutagênico do fungicida mancozebe em *Astyanax jacuhiensis* (Teleostei: Characidae). **Bioscience Journal**, v. 28, n. 2, p. 297-301.2012. DOI:< <http://www.seer.ufu.br/index.php/biosciencejournal/article/view/11651/8491>>

GRISOLIA, C. K. **Agrotóxicos: mutações, câncer e reprodução**. 1 ed. Brasília: Editora ULBRA, 2005. 394p.

KRÜGER, R. A. **Análise da toxicidade e da genotoxicidade de agrotóxicos utilizados na agricultura utilizando bioensaios com *Allium cepa***. 2009, 58p. Dissertação de Mestrado em Qualidade Ambiental, Fevale. Novo Hamburgo. 2009. Disponível em: <<https://aplicweb.feevale.br/site/files/documentos/pdf/29080.pdf>>.

MARCANO, L.; BRACHO, M.; MONTIEL, X.; CARRUYO, I.; ATENCIO, L. Efecto mitotóxico y genotóxico del cadmio em poblaciones meristemáticas de *Allium cepa* L. (cebolla). **Ciência**, v.6, p.93-99, 1998. DOI:< <https://produccioncientificaluz.org/index.php/ciencia/article/view/8843>>

MARCANO, L.; DEL CAMPO, A. Estudio ultraestructural del nucléolo en poblaciones meristemáticas de cebola *Allium cepa* L. tratadas com inhibidores metabólicos. **Ciência**, v.3, p.73-82, 1995. DOI:< <https://produccioncientificaluz.org/index.php/ciencia/article/view/8714>>

3488

MARTINS, H.; PEREIRA, F. D. C. Avaliação dos efeitos tóxicos do agroquímico tordon sobre os organismos teste *Lactuca sativa* e *Allium cepa*. **Visão Acadêmica**, Curitiba, v.19 n.2, 2018. DOI:< <http://dx.doi.org/10.5380/acd.v19i2.59763>>

MOSMANN, M.P.; ALBUQUERQUE, L.; BARBIERI, I.B. Agrotóxicos e direitos humanos no contexto global: o Brasil em risco de retrocesso? **Revista de Direito Internacional**. v.16, n.2, p.150-167, 2019. DOI: 10.5102/rdi.v16i2.6107. Acesso em: 30/11/2019. Disponível em: <<https://www.publicacoes.uniceub.br/rdi/article/view/6107/pdf>>

OBE, G. PFEIFFER, P., SAVAGE, J. R. K., JOHANNES, C., GOEDECKE, W., JEPPESEN, P., DRETS, M. E. Chromosomal aberrations: formation, identification and distribution. **Mutation Research**, Orlando, v. 504, n.1-2, p. 17-36, 2004. DOI:< [https://doi.org/10.1016/S0027-5107\(02\)00076-3](https://doi.org/10.1016/S0027-5107(02)00076-3)>

PEDRO, J. **Detecção da citotoxicidade, genotoxicidade e mutagenicidade do inseticida fipronil no organismo teste *Allium cepa***. 2008. 104p. Dissertação (mestrado) – Universidade Estadual Paulista, Instituto de Biociências de Rio Claro Orientador: Maria Aparecida Marin Morales – Rio Claro: [s.n.], 2008. Disponível em: < <http://hdl.handle.net/11449/87704>>

RABELO, A.C.; CORREA, R.C.C. **Avaliação da toxicidade do alumínio na raiz da cebola (*Allium cepa*)**. 2024. 48p. Trabalho Conclusão de Curso. Ciências Biológicas. Universidade

Federal Rural da Amazônia. Tomé-Açú/PA. 2024. DOI:  
<<http://bdta.ufra.edu.br/jspui/handle/123456789/3712>>

RODRIGUÉZ, Y. A., CHRISTOFOLETTI, C. A., PEDRO, J., BUENO, O. C., MALASPINA, O., FERREIRA, R. A. C., FONTANETTI, C. S. *Allium cepa* and *Tradescantia pallida* bioassays to evaluate effects of the insecticide imidacloprid. **Chemosphere**, v.120, p.438-442 p. 2015. DOI:< <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2014.08.022>>

SABEEN, M.; MAHMOOD, Q.; BHATTI, Z.A.; IRSHAD, F.M., BILAL, M.; HAYAT, T.; IRSHAD, U.; AKBAR, T.A.; ARSLAN, M.; SHAHID, N. *Allium cepa* assay based comparative study of selected vegetables and the chromosomal aberrations due to heavy metal accumulation. **Saudi Journal of Biological Sciences**. v.27, n.5, p.1368-1374. 2020. DOI: <<https://doi.org/10.1016/j.sjbs.2019.12.011>>

SANTANA, J.R.C.; BRANDÃO, L.M.S.; SANTANA, L.A.C.; SANTOS, C.A.B.; LIMA, A.G.D. Uso de Agrotóxicos no Submédio do Vale do São Francisco: conhecimento dos trabalhadores rurais da fruticultura irrigada. **REVISA**. v.13, n.2, p.502-512. 2024. DOI: <<https://doi.org/10.36239/revisa.v13.n2.p502a512>>

SILVA, V.M.; LIZANIO, T.M.; CONCEIÇÃO, E.F.; SANTOS, L.N.; PEREIRA, A.D.; RODRIGUES, J.C.; SÁ, M.V.A.; SILVA, R.G.; SILVA, T.A.; VIEIRA, J.G.C.; FREITAS VIANA, D.S.F. Síntese verde e estabilização de nanopartículas de prata em *Morinda citrifolia* L. (noni) como coadjuvante no tratamento de câncer. **Brazilian Journal of Implantology and Health Sciences**. v.6, n.3, p.1841-1865. 2024. DOI: <<https://doi.org/10.36557/2674-8169.2024v6n3p1841-1865>>

3489

SILVA SOUZA, T.; TAVARES, G.B.; SOUZA, V.V. Cytogenotoxicity of 2,4-D and Glyphosate Herbicides: Effects of Isolated and Combined Environmental Concentrations on Onion Root Tips (*Allium cepa*). **Water Air & Soil Pollution**. v.235, n.523. 2024. DOI: <<https://doi.org/10.1007/s11270-024-07282-3>>

SOARES, I.; BENINI, A.; TÁVORA, R.; ARRUDA, G.; MOURA, A.; BARONI, S.; SOUZA-FRANCO, G. Água de poços superficiais: efeito genotóxico em células eucarióticas. **Peer Review**. v.6, n.8, p.87-99. 2024. DOI: <<https://peerw.org/index.php/journals/article/view/2078>>

SOBRERO, M. C.; RONCO, A. **Ensayo de toxicidad aguda con semillas de lechuga** (*Lactuca sativa* L) In: MORALES, G. C. (Ed.). Ensayos toxicológicos y métodos de evaluación de calidad de aguas: estandarización, intercalibración, resultados y aplicaciones. 1. ed. México: Instituto Mexicano de Tecnología del Agua, 2004. 71 p. Disponível em: <[https://www.academia.edu/27791545/Ensayos\\_de\\_toxicidad\\_aguda\\_con\\_semillas\\_de\\_lechuga](https://www.academia.edu/27791545/Ensayos_de_toxicidad_aguda_con_semillas_de_lechuga)>

SOUZA, L.L. **Avaliação dos efeitos citotóxicos, genotóxicos e mutagênicos do fipronil, após fotodegradação, utilizando *Allium cepa* como organismo teste**. 2010. 44p. Trabalho de Conclusão de Curso (bacharelado Ciências Biológicas) Universidade Estadual Paulista, Instituto de Biociências de Rio Claro, 2010. Disponível em: <http://hdl.handle.net/11449/121438>