Taxa de mutagênese em hortaliças de cultivo tradicional obtida através do uso da metodologia TRAD-MCN

Bruna Caroline Ferreira Santana[1], Luciana Bizeto[1], Claudia de Moura[1], Ana Beatriz Carollo Rocha-Lima[1*].

[1]Instituto de Ciências da Saúde – Universidade Paulista – UNIP, Jundiaí-SP, Brasil.
Endereço: Universidade Paulista - UNIP, *campus* Jundiaí, Instituto de Ciências da Saúde. Avenida Armando Giassetti, 577 - Vila Hortolândia - Trevo Itu/Itatiba - Jundiaí – SP, CEP 13214-525, Tel.: (11) 4815-2333
*Autor de Correspondência: abeatrizcrl@gmail.com
Os autores declaram não haver conflito de interesses.

Resumo
O presente bioensaio avaliou a genotoxicidade em hortaliças cultivadas tradicionalmente (com agrotóxicos) e hortaliças orgânicas através do método Trad-MCN, comparando os resultados de quatro grupos experimentais entre eles e com os controles positivo, negativo e branco. Não foram identificadas diferenças estatisticamente significativas entre as amostras de hortaliças de cultivo tradicional e orgânicas; entretanto, foram encontradas diferenças estatisticamente significativas entre as amostras com agrotóxicos em relação aos controles branco e negativo ($p<0,05$), denotando que as hortaliças cultivadas tradicionalmente apresentaram maior taxa de mutagênese em relação aos controles inócuos. Portanto, o presente bioensaio faz uso de uma técnica amplamente difundida em análises de toxicidade ambiental para demonstrar a capacidade que os agrotóxicos possuem de interagir com sistemas biológicos, que pode ser atestada mesmo em experimentos de simples execução. O presente bioensaio também ressalta a importância do monitoramento e da conscientização acerca do uso excessivo dos defensivos agrícolas e propõe uma reflexão sobre os malefícios comprovadamente causados pelos agrotóxicos.

Palavras-chave: Agrotóxicos, Genotoxicidade, Mutagênese, Tradescantia, Toxicologia, Bioensaio.

Mutagenesis rate in traditional vegetable cultivation obtained using the TRAD-MCN methodology

Abstract
This bioassay evaluated the genotoxicity in traditionally vegetables (with pesticides) and organic vegetables through the Trad-MCN method, comparing the results of four experimental groups between them and with the positive, negative and blank controls. No statistically significant differences were identified between the samples of traditionally and organic vegetables; however, statistically significant differences were found between the samples with pesticides in relation to white and negative controls ($p <0.05$), demonstrating that traditionally grown vegetables had a higher rate of mutagenesis than innocuous controls. Therefore, the present bioassay makes use of a widespread technique in environmental toxicity analysis to demonstrate the ability of pesticides have to interact with biological systems, which can be demonstrated even in easy-to-execute experiments. The present bioassay also highlights the importance of monitoring and awareness of the overuse of pesticides and proposes a reflection on the harmful effects caused by pesticides.

Keywords: Pesticides, Genotoxicity, Mutagenesis, Tradescantia, Toxicology, Bioassay.

Introdução

O uso de agrotóxicos na agricultura brasileira aumentou muito nos últimos anos: o Brasil encontrava-se entre os oito maiores consumidores de agrotóxicos do mundo, e em 2008 passou a deter o 1° lugar do ranking[1]. Segundo alerta feito pela Associação Brasileira de Saúde Coletiva (ABRASCO), um terço dos alimentos consumidos cotidianamente pelos brasileiros está contaminado por agrotóxicos[2,3].

Os agrotóxicos ou pesticidas são divididos conforme sua função e seu mecanismo de ação em herbicidas (48%), inseticidas (25%) e fungicidas (22%), sendo os herbicidas os mais utilizados no manejo de ervas daninhas, visando diminuir as perdas por competição biológica e obter maiores rendimentos[4,5]. O uso de agrotóxicos em hortaliças, sobretudo os fungicidas, expõe de forma recorrente e perigosa a saúde do consumidor, o ambiente e os trabalhadores à contaminação química por uso de agrotóxicos[1].

No atual sistema agrícola, é comum que ocorra a desestruturação ecológica do meio ambiente por meio da remoção química de plantas competidoras, controle de pragas, seleção de linhagens, monocultura, adubação química, irrigação, entre outros processos[5]. Vários insumos agrícolas apresentam efeitos nocivos ao meio ambiente como a presença de resíduos no solo, na água, no ar, nas plantas e nos animais, podendo esses resíduos chegarem ao homem através da cadeia alimentar[6].

As intoxicações agudas por agrotóxicos atingem três milhões de pessoas anualmente, sendo 2,1 milhões de casos só nos países em desenvolvimento, e cerca de 193 mil pessoas no mundo perdem a vida todos os anos por exposição a substâncias químicas nocivas[7,8]; só no Brasil, morrem por ano cerca de cinco mil trabalhadores vítimas de agrotóxicos. A maior parte dessas mortes poderia ser evitada se houvesse o uso efetivo de EPIs por parte dos agricultores que manuseiam o produto[9,10].

A exposição ocupacional de trabalhadores rurais aos agrotóxicos tem uma forte influência na saúde pública. Os efeitos mais bem documentados sobre a exposição envolvem o sistema nervoso, sobretudo as consequências neurotóxicas de uma exposição aguda de alto nível. Os sintomas neurológicos mais comuns incluem cefaleia, tontura, náusea, vômito e suor excessivo. Já os mais graves incluem o desenvolvimento de fraqueza muscular e broncoespasmos, podendo evoluir para convulsões e coma, e em alguns casos para óbito[11]. A exposição a pesticidas pode ainda estar associada ao aumento de doenças e alterações como a Doença de Parkinson, alterações do humor e distúrbios do comportamento como surtos psicótico, bem como à diminuição das defesas imunológicas, anemia, impotência sexual masculina, insônia e alterações da pressão arterial[12,13]. Um grande número de agrotóxicos apresenta ainda atividades capazes de desregular o equilíbrio hormonal (homeostase corporal), desencadear tumores, causar modificação na razão entre sexos ao nascimento, infertilidade, más-formações congênitas no trato genital masculino, modificações na qualidade do sêmen e intoxicações em diferentes graus. Em alguns casos, a ingestão de agrotóxicos ocorre voluntariamente como tentativa de suicídio e alguns estudos mostram que a exposição aos inseticidas está relacionado a alguns sintomas da depressão[5,14].

No Brasil os casos de intoxicação por defensivos agrícolas apresentam grandes índices de subnotificação e de dispersão de informações decorrentes da dificuldade

de locomoção e acesso às unidades de saúde, da inexistência de centros de saúde em regiões produtoras, da dificuldade de diagnóstico e de correlacionar os problemas de saúde com a exposição, da escassez de laboratórios de monitoramento biológico e da inexistência de biomarcadores precoces e/ou confiáveis. Está previsto que o número de mortes deve crescer em decorrência dessas intoxicações[5].

Os alimentos orgânicos são definidos como alimentos *in natura* ou oriundos de um sistema orgânico de produção agropecuária e industrial, baseado em técnicas que dispensam o uso de defensivos agrícolas (e.g. pesticidas sintéticos, fertilizantes químicos, medicamentos de uso veterinários, organismos geneticamente modificados, conservantes, aditivos e irradiação)[15]. A produção de orgânicos leva em conta o correto manuseio do solo e o uso de práticas de gestão de acordo com as condições regionais, adaptando localmente os sistemas de produção. As principais vantagens do consumo de orgânicos frente aos convencionais referem-se ao menor índice de toxicidade e à manutenção do equilíbrio ambiental[16].

As vantagens desse sistema para o produtor estariam relacionadas a não utilização dos produtos químicos, já que boa parte dos agricultores não faz uso de equipamentos de proteção individual (EPIs), ou geralmente os produtos são utilizados de forma indiscriminada e desordenada pelos mesmos. Além disso, os agricultores se sentem pessoalmente satisfeitos em oferecer aos consumidores produtos de melhor qualidade e que também proporcionam saúde para a população próxima aos locais de produção, diminuindo consideravelmente a contaminação ambiental[17].

É importante salientar que, mesmo que a produção dos alimentos orgânicos não se utilize de artifícios como os agrotóxicos, não é possível garantir a ausência total de resíduos de contaminantes químicos, devido à contaminação ambiental com produtos persistentes e a mecanismos como derivação e proximidade de propriedades convencionais[15].

A metodologia de contagem de micronúcleos (Trad-MCN) representa um índice a partir da determinação da taxa de aberrações cromossômicas detectadas através da identificação e contagem de micronúcleos em uma determinada população celular. Sua utilização tem sido proposta como teste de curta duração para avaliação do potencial genotóxico de agentes químicos e físicos[18].

Este teste permite a detecção da exposição a compostos genotóxicos, mas não possibilita a determinação do tempo exato da exposição, por isso é considerado como um marcador de exposição[19]. O bioensaio Trad-MCN vem se mostrando adequado para uma rápida averiguação de riscos impostos por substâncias mutagênicas aos sistemas biológicos. Além disso, esta técnica permite investigar o agente quando diluído em meio líquido, como no caso dos agrotóxicos[20].

O uso da técnica de contagem de micronúcleos (Trad-MCN), mais especificamente com a planta *Tradescantia pallida,* pode colaborar muito nos estudos de genotoxicidade; entretanto, a maior parte desses estudos esses estão voltados à poluição atmosférica e da água, não sendo comumente estudados a genotoxicidade de agrotóxicos[21].

O presente bioensaio teve como objetivo comparar a genotoxicidade de hortaliças cultivadas tradicionalmente (com agrotóxicos) e hortaliças orgânicas através da obtenção da taxa de mutagênese, utilizando a técnica Trad-MCN.

Portanto, o presente bioensaio faz uso de uma técnica amplamente difundida em análises de toxicidade ambiental para ressaltar a importância do monitoramento e da conscientização

acerca do uso excessivo dos defensivos agrícolas. Pretende-se também que o presente estudo proponha uma reflexão sobre os malefícios comprovadamente causados pelos agrotóxicos e demonstre a capacidade que os agrotóxicos possuem de interagir com sistemas biológicos, que pode ser atestada mesmo em experimentos de simples execução.

Materiais e Métodos

No presente bioensaio escolheu-se utilizar o vegetal *Tradescantia pallida* como bioindicador (método Trad-MCN). A metodologia Trad-MCN consiste na exposição do vegetal *Tradescantia pallida* a agentes genotóxicos, assim suas células reprodutoras (tétrades) desenvolvem fragmentos do núcleo (micronúcleos) formados a partir de quebras cromossômicas e/ou perda de cromossomos. Os micronúcleos podem ser identificados através de leituras microscópicas, contados e analisados estatisticamente[22].

O objeto de estudo escolhido no presente bioensaio foi a hortaliça chicória oriunda de cultivo tradicional (com agrotóxicos), que foi adquirida em um supermercado, e a hortaliça chicória oriunda de cultivo orgânico, comprada de produtores locais que não utilizam agrotóxicos em seus produtos.

No dia 04 de setembro de 2017, foram coletadas 104 hastes de aproximadamente 10 cm da região apical de *Tradescantia pallida*, contendo inflorescências. A coleta foi realizada no Jardim Botânico de Jundiaí, com a devida autorização dos responsáveis pelo local. As hastes ou *cuttings* foram levadas ao Laboratório de Análises Clínicas da Universidade Paulista-UNIP, *campus* Jundiaí, onde foram separadas e transferidas para sete béqueres contendo água de torneira por 24 horas (fase de adaptação).

Após a fase de adaptação das hastes, estas foram divididas entre os grupos experimentais em sete béqueres para a fase de intoxicação. O primeiro grupo experimental consistiu de um béquer com uma solução de cinco folhas de chicória orgânica trituradas em um *mixer* com 200 mL de água e um béquer com uma solução de cinco folhas de chicória comprada em supermercado, oriunda de cultivo tradicional, também trituradas em um *mixer* com 200 mL de água; estas amostras experimentais foram denominadas SO (solução orgânica) e SP (solução pesticida).

A fim de minimizar a possibilidade de metabólitos das hortaliças atuarem como substâncias genotóxicas nas soluções processadas com *mixer*, outro grupo experimental foi testado: cinco folhas levemente picadas de chicória orgânica em 200 ml de água e cinco folhas de chicória comprada em supermercado, oriunda de cultivo tradicional, levemente picadas em 200 ml de água. Estas amostras experimentais foram denominadas IO (imersão orgânica) e IP (imersão pesticida) (Figura 1).



Fonte: da autora, 2017

Figura 1. Intoxicação das hastes em soluções experimentais processadas e não processadas.

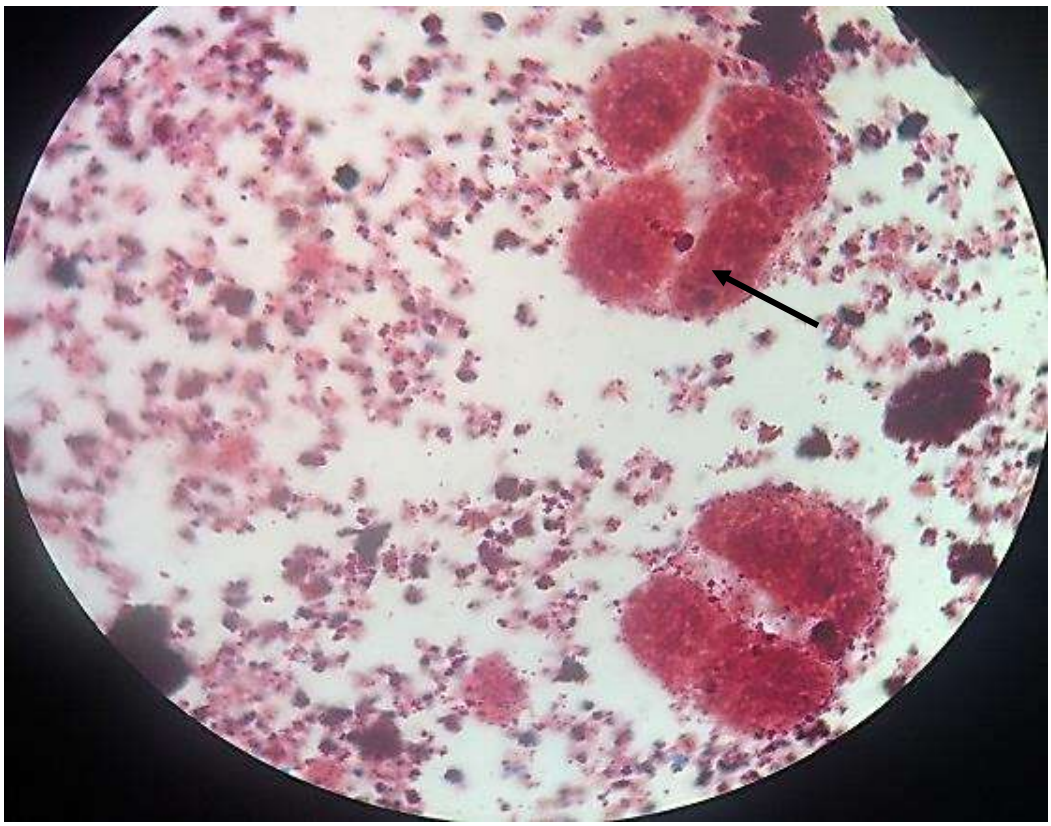
.

Também foram realizados os controles positivo, negativo e branco. As hastes restantes foram divididas em três béqueres, um contendo 200 mL de água deionizada (controle branco), um contendo 200 ml de água de torneira (controle negativo) e um contendo 200 ml de uma solução de formol 1:1000ml (controle positivo).

A fase de intoxicação durou 8 horas, e foi sucedida pela fase de recuperação, em que foi repetido o mesmo processo da fase de adaptação (as hastes foram imersas em água de torneira durante 24h). Após a recuperação, todos os botões das inflorescências foram colocados no fixador (1 parte de ácido acético para 3 partes de álcool etílico 98°INPM), no qual permaneceram por mais de 48 horas antes do início das análises.

Para a preparação das lâminas foram escolhidos os botões médios da inflorescência e, com o estile histológico de ponta fina, estes foram macerados sobre lâminas e corados com uma mistura dos corantes Carmim e Orceína acética. Os "debris" (restos de sépalas que podem interferir na visualização) foram descartados e a lamínula foi apoiada sobre o líquido obtido. A lâmina foi levemente aquecida sobre a chama de uma espiriteira e foi então analisada ao microscópio para a visualização das tétrades.

Foi realizada a contagem de micronúcleo em 300 tétrades para cada um dos sete grupos, totalizando 2100 tétrades. Três quesitos foram considerados para a identificação dos micronúcleos: estar nitidamente separado do núcleo e dentro do citoplasma da tétrade, não estar sobreposto ao núcleo e apresentar formato regularmente redondo (Figura 2).



Fonte: da autora, 2017.

Figura 2. Tétrades com micronúcleo (aumento de 100x).

Os valores obtidos foram analisados estatisticamente através do teste qui-quadrado (X^2), cujo princípio básico é comparar proporções, isto é, as possíveis divergências entre as frequências observadas e esperadas para certo evento[23]. Além disso, é um teste de probabilidade que se destina a identificar um valor de dispersão para duas variantes nominais, verificando a associação existente entre variantes qualitativas, levando-se em conta diferenças superiores a 95% entre as amostras, ou seja, com nível de significância ($P<0,05$). As análises foram realizadas utilizando-se o software Excel, da Microsoft Corporation®.

Resultados

Na análise microscópica das tétrades para cada grupo analisado, todas as amostras apresentaram micronúcleos, exceto o controle branco. Na tabela I encontram-se expressos os resultados absolutos e os percentuais obtidos em relação ao total de 300 tétrades por amostra.

Tabela 1. Resultados amostrais absolutos e percentuais.

Amostra	Valor absoluto	% de micronúcleos
SO – Solução Orgânica	2	0,66%
SP – Solução Pesticida	8	2,66%
IO – Imersão Orgânica	5	1,66%
IP – Imersão Pesticida	11	3,66%
Controle Positivo	12	4%
Controle Negativo	2	0,66%
Controle Branco	0	0

Fonte: da autora, 2018.

Nas tabelas 2 e 3 encontram-se expressos os resultados das análises estatísticas realizadas.

Tabela 2. Valores de P e significância do teste X^2. Os resultados estatisticamente significativos estão sinalizados com um *.

AMOSTRA	SO – Solução Orgânica	SP – Solução Pesticida	IO – Imersão Orgânica	IP – Imersão Pesticida
Positivo	0,006 (P<0,05)*	0,36 (P>0,05)	0,02 (P<0,05)*	0,83 (P>0,05)
Negativo	0,15 (P>0,05)	0,055 (P>0,05)	0,25 (P>0,05)	0,01 (P<0,05)*
Branco	0,15 (P>0,05)	0,004 (P<0,05)*	0,02 (P<0,05)*	$8{,}15^{-4}$ (P<0,05)*

Fonte: Própria, 2018.

Tabela 3. Valores de P e significância do teste X^2.

AMOSTRA	SP – Solução Pesticida	IO – Imersão Orgânica
SO - Solução Orgânica	0,056 (P>0,05)	0,254 (P>0,05)
IP - Imersão Pesticida	0,484 (P>0,05)	0,128 (P>0,05)

Fonte: da autora, 2018.

Discussão

Foram encontradas diferenças estatisticamente significativas na quantidade de micronúcleos das amostras orgânicas em relação ao controle positivo, o que demonstra que ambas as soluções experimentais que não possuem pesticidas são significativamente menos tóxicas do que a solução de formol 1:1000, comprovadamente mutagênica e genotóxica. Todas as amostras orgânicas não apresentaram diferenças estatisticamente significativas em relação aos controles inócuos (negativo, água da torneira, e branco, água deionizada), exceto a amostra IO, que apresentou diferenças estatisticamente significativas com o controle branco. Portanto, a maioria das amostras não se mostrou mais tóxica do que os controles inócuos.

Também foram encontradas diferenças estatisticamente significativas entre as amostras de cultivo tradicional em relação aos controles negativo e branco, exceto a amostra SP, que não apresentou diferença estatisticamente significativa com o controle negativo; dessa forma, é possível atestar que a maioria das amostras é significativamente mais tóxica do que os controles inócuos. Estes resultados corroboram com o estudo de Ansoar-Rodríguez e colaboradores[24], que obtiveram resultados semelhantes com o pesticida imidacloprida em diferentes concentrações, tendo um aumento significativo da frequência de micronúcleos conforme a dose do pesticida que foi utilizada.

Os efeitos mutagênicos dos agrotóxicos já são bem conhecidos há muito tempo. Em 1972, os pesquisadores Tomkins e Grant[25] já alertaram a comunidade acadêmica sobre os efeitos mutagênicos dos pesticidas sobre os sistemas biológicos: um estudo comparou os efeitos citológicos dos pesticidas menazon (MEN), metobromuron (PAT) e tetracloroisoftalonitrilos (DAC) utilizando a o bioensaio Trad-MCN. Um dos pesticidas gerou efeitos estatisticamente significativos nos bioindicadores.

O bioensaio Trad-MCN não foi suficientemente sensível para avaliação de toxicidade da maioria dos pesticidas testados no estudo de Fadic et al,

entretanto o bioensaio foi capaz de demonstrar o efeito clastogênico do pesticidas tais como dimetoato, carbaril e produto de quebra de DDT, DDE[26]. O composto organoclorado DDE induziu a formação de micronúcleos.

Porém, não foram identificadas diferenças estatisticamente significativas entre nenhuma das amostras de hortaliças cultivadas com agrotóxicos em relação às hortaliças orgânicas, resultado que poderia reforçar as diferenças estatísticas encontradas entre as amostras e os controles.

Também não foram identificadas diferenças estatisticamente significativas entre os dois métodos de intoxicação experimentados a fim de evitar que os metabólitos presentes nas hortaliças não interferissem no resultado final do estudo, de maneira que qualquer um dos métodos pode ser utilizado por estudos posteriores para avaliar a genotoxicidade de agrotóxicos residuais, se utilizadas as mesmas hortaliças.

O presente estudo apresentou, em sua maioria, resultados significativos na comparação entre as amostras experimentais em relação aos controles, mas não demonstrou diferenças entre os grupos experimentais. Dessa forma, interpretamos que o bioensaio Trad-MCN talvez não seja uma metodologia eficaz para identificar o grau de toxicidade e de mutagênese em agrotóxicos, possivelmente pelo fato de os agrotóxicos serem planejados para causar danos às pragas agrícolas e não aos vegetais.

Foi possível ainda concluir que, embora Trad-MCN seja um excelente indicador de genotoxicidade, possivelmente não foi mais eficaz neste bioensaio pelo fato de que os agrotóxicos são planejados para causar danos às pragas agrícolas e não aos vegetais.

Portanto, a partir dos resultados obtidos, sugere-se que estudos com metodologias distintas de Trad-MCN comparem hortaliças de cultivo tradicional com hortaliças orgânicas para que seus resultados possam evidenciar de forma mais conclusiva os danos que os agrotóxicos residuais em alimentos podem causar.

Considerações finais

O uso indiscriminado de agrotóxicos e pesticidas tem sido um problema recorrente no país. O uso de agrotóxicos comprovadamente traz inúmeros riscos para a saúde humana e para o ambiente.

Embora os resultados do presente bioensaio tenham indicado parcialmente uma maior toxicidade das amostras de cultivo tradicional quando estas foram comparadas aos controles, os resultados não foram conclusivos, indicando que possivelmente Trad-MCN não seja o método mais eficaz para estudos envolvendo genotoxicidade de agrotóxicos.

Ainda assim, o presente bioensaio ressalta a importância do monitoramento e da conscientização acerca do uso excessivo dos defensivos agrícolas e propõe uma reflexão sobre os malefícios comprovadamente causados pelos agrotóxicos.

Agradecimentos

Os autores agradecem ao Programa de Iniciação Científica da Vice-Reitoria de Pós-Graduação e Pesquisa da Universidade Paulista – UNIP pela bolsa concedida, ao 18º Congresso Nacional de Iniciação Científica (CONIC-SEMESP) pela publicação da íntegra do relatório de pesquisa e ao Laboratório de Poluição Atmosférica Experimental do Departamento de Patologia da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo (FMUSP), na figura do prof. Dr. Paulo Hilário do Nascimento

Saldiva e da MSc. Débora-Jâ de Araujo Lobo, pelas técnicas e conhecimentos compartilhados.

Referências Bibliográficas

1 de Almeida VES, Carneiro FF, Vilela, NJ (2009). Agrotóxicos em hortaliças: segurança alimentar, riscos socioambientais e políticas públicas para promoção da saúde. *Tempus 4*(4):84-99.

Carneiro FF, Pignati W, Rigotto RM, Augusto LGS, Rizollo A, Muller NM, Alexandre VP, Friedrich K, Mello MSC (2012) Dossiê I: Um alerta sobre os impactos dos agrotóxicos nos alimentos e na saúde. Abrasco, 1ª Parte.

3 Ortiz F (2012). Um terço dos alimentos consumidos pelos brasileiros está contaminado por agrotóxicos. ©1996-2020 UOL Notícias, 01/05/2012. Disponível em: https://noticias.uol.com.br/saude/ultimas-noticias/redacao/2012/05/01/um-terco-dos-alimentos-consumidos-pelos-brasileiros-esta-contaminado-por-agrotoxicos.htm. Acesso em 20 mai 2018.

4 Tavella LB, Silva ÍN, Oliveira FL, Dias JRM, Lima Silva MI (2012). O uso de agrotóxicos na agricultura e suas consequências toxicológicas e ambientais. *Agropecuária Científica no Semiárido* 7(2):06-12.

5 Cassal VB, Azevedo LF, Ferreira RP, Silva DG, Simão RS (2014). Agrotóxicos: uma revisão de suas consequências para a saúde pública. *Revista Eletrônica em Gestão, Educação e Tecnologia Ambiental* 18(1):437-445.

6 Vieira BH (2010). Efeitos do agrotóxico Vertimec® no fitoplâncton: um estudo laboratorial e "in situ". Dissertação de mestrado. São Carlos: Universidade de São Paulo, Faculdade de Engenharia. Disponível em: http://www.teses.usp.br/teses/disponiveis/18/18139/tde-22032010-155059/pt-br.php. Acesso em 18 mai 2018.

7 Brasil. Ministério da Saúde. Secretaria de Políticas de Saúde. Organização Pan-Americana/Organização Mundial da Saúde. Manual de Vigilância da Saúde de Populações Expostas a Agrotóxicos. Brasília: Ministério da Saúde, 1996. Disponível em: http://bvsms.saude.gov.br/bvs/publicacoes/livro2.pdf. Acesso em 20 mai 2018.

8 Brasil. Ministério da Saúde. Secretaria de Políticas de Saúde. Organização Pan-Americana da Saúde/Organização Mundial da Saúde (2018). OPAS/OMS destaca a importância da atuação conjunta dos setores da saúde, agricultura e meio ambiente na regulamentação de agrotóxicos. Disponível em: https://www.paho.org/bra/index.php?option=com_content&view=article&id=5756:opas-oms-destaca-importancia-da-atuacao-conjunta-dos-setores-da-saude-agricultura-e-meio-ambiente-na-regulamentacao-de-agrotoxicos&Itemid=839. Acesso em 13 out 2018.

9 Rebelo FM (2006). Intoxicações por Agrotóxicos e Raticidas no Distrito Federal em 2004 e 2005. Dissertação de mestrado. Brasília: Universidade de Brasília, Faculdade de Ciências da Saúde; Disponível em: http://repositorio.unb.br/handle/10482/5215. Acesso em 20 mai 2018.

10 Veiga M, Duarte CMFJ, Meirelles LA, Garrigou A, Baldi I (2007). A contaminação por agrotóxicos e os Equipamentos de Proteção Individual (EPIs). *Revista Brasileira de Saúde Ocupacional* 32(116):57-68.

11 Bila DM, Dezotti M (2007). Desreguladores endócrinos no meio

ambiente: efeitos e conseqüências. *Química nova*, *30*(3), 651-666.

12 London L, Nell V, Thompson ML, Myers JE (1998). Effects of long-term organophosphate exposures on neurological symptoms, vibration sense and tremor among South African farm workers. *Scandinavian journal of work, environment & health* 24(1):18-29.

13 Bhatt MH, Elias MA, Mankodi AK (1999). Acute and reversible parkinsonism due to organophosphate pesticide intoxication Five cases. Neurology 52(7): 1467-1467.

14 Pires DX, Caldas ED, Recena MCP (2005). Uso de agrotóxicos e suicídios no Estado do Mato Grosso do Sul, Brasil. Cadernos de. Saúde Pública 21(2):598-605.

15 Sousa AAD, Azevedo ED, Lima EED, Silva APFD (2012). Alimentos orgânicos e saúde humana: estudo sobre as controvérsias. Revista Panamericana de Salud Pública, 31 (6):513-7.

16 Vilela NJ (2006). Perfil dos consumidores de produtos orgânicos no Distrito Federal. Embrapa Hortaliças. *Embrapa Hortaliças-Comunicado Técnico (INFOTECA-E)*. Disponível em: http://www.infoteca.cnptia.embrapa.br/bitstream/doc/779839/1/cot40.pdf. Acesso em 19 mai 2018.

17 Panzenhagen NV, Koller OC, Waquil PD, Souza PVDD, Dal Soglio FK (2008). Aspectos técnico-ambientais da produção orgânica na região citrícola do Vale do Rio Caí, RS. *Ciência Rural 38*(1):90-95.

18 Schimid W (1975). The micronucleus test. Mutation Research.31(1):9-15.

19 Neves JT (2011). Avaliação do dano genético em linfócitos de trabalhadores expostos a pesticidas através do teste de micronúcleos. Dissertação de mestrado. Porto: Universidade de Porto, Instituto de Ciências Biomédicas Abel Salazar. Disponível em: https://repositorio-aberto.up.pt/handle/10216/26235. Acesso em 20 mai 2018.

20 Ma TR, Rarris MM, Anderson VA, Ahmed I, Mohammed K, Bare JL, Lin, G. (1984). Tradescantia-micronucleus (TRAD-MC) tests on 140 health-related agents. Mutation Research 38:157-167.

21 Mielli AC, Saldiva PHN, Umbuzeiro GA (2009). Comparação entre as Respostas do Clone 4430 e Tradescantia pallida no Teste de Micronúcleos (TRAD-MN). *Journal of the Brazilian Society of Ecotoxicology*, *4*(1):49-54.

22 Ansoar-Rodríguez YA. Potencial tóxico e genotóxico do inseticida imidacloprido em organismos não alvos (2016). Dissertação de mestrado. Rio Claro: Universidade Estadual Paulista, Instituto de Biociências de Rio Claro. Disponível em: https://repositorio.unesp.br/handle/11449/143893. Acesso em 13 out 2018.

23 Piana CFDEB; Machado ADEA; Selau LPR (2009). Estatística Básica. Pelotas: Universidade Federal de Pelotas – Instituto de Física e matemática Departamento de matemática e estatística. Disponível em: http://bibliotecavirtualitl.com/bitl/bitstream/123456789/215/1/Apostila_EB.pdf. Acesso em 20 mai 2020.

24 Ansoar-Rodríguez YA, Christofoletti CA, Pedro J, Bueno OC, Malaspina O, Ferreira RAC, Fontanetti CS (2015). Allium cepa and Tradescantia pallida bioassays to evaluate effects of the insecticide imidacloprid. Chemosphere 120:438-442.

25 Tomkins DJ, Grant WF (1972). Comparative cytological effects of the pesticides menazon, metrobromuron and tetrachloroisophthalonitrile in Hordeum and Tradescantia. Canadian Journal of Genetics and Cytology 14(2):245-256.

26 Fadic X, Placencia F, Domínguez AM, Cereceda-Balic F (2016). Tradescantia as a biomonitor for pesticide genotoxicity evaluation of iprodione, carbaryl, dimethoate and 4,4'-DDE. Science of The Total Environment 575:146-151.