

INSTITUTO FEDERAL DE EDUCAÇÃO, CIÊNCIA E TECNOLOGIA
GOIANO – IF GOIANO – CAMPUS RIO VERDE
DIRETORIA DE PESQUISA E PÓS – GRADUAÇÃO
PROGRAMA DE PÓS GRADUAÇÃO EM BIODIVERSIDADE E
CONSERVAÇÃO

ASPECTOS GENOTÓXICOS E CITOTÓXICOS DE
FUNGICIDAS: UMA REVISÃO GLOBAL

Autora: Isis de Jesus Guerra Santos
Orientadora: Dr.^a Maria Andréia Corrêa Mendonça
Coorientadora: Dr.^a Lia Raquel de Souza Santos

Rio Verde – GO
Fevereiro de 2020

INSTITUTO FEDERAL DE EDUCAÇÃO, CIÊNCIA E TECNOLOGIA
GOIANO – IF GOIANO – CAMPUS RIO VERDE
DIRETORIA DE PESQUISA E PÓS – GRADUAÇÃO
PROGRAMA DE PÓS GRADUAÇÃO EM BIODIVERSIDADE E
CONSERVAÇÃO

ASPECTOS GENOTÓXICOS E CITOTÓXICOS DE
FUNGICIDAS: UMA REVISÃO GLOBAL

Autora: Isis de Jesus Guerra Santos
Orientadora: Dr^a. Maria Andréia Corrêa Mendonça
Coorientadora: Dr^a. Lia Raquel de Souza Santos

Dissertação apresentada, como parte das exigências para obtenção do título de Mestre em Biodiversidade e Conservação, no Programa de Pós-Graduação em Biodiversidade e Conservação do Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia Goiano – Campus Rio Verde – Área de concentração Conservação dos Recursos Naturais.

Rio Verde – GO
Fevereiro de 2020

Sistema desenvolvido pelo ICMC/USP
Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)
Sistema Integrado de Bibliotecas - Instituto Federal Goiano

S237a Santos, Isis de Jesus Guerra,
Aspectos genotóxicos e citotóxicos de fungicida:
uma revisão global. / Isis de Jesus Guerra,
Santos; orientadora Dr. a Maria Andréia Corrêa
Mendoza; co-orientadora Dr. a Lia Raquel de Souza
Santos. -- Rio Verde, 2020.
48 p.

Dissertação (em Mestrado em Biodiversidade e
Conservação) -- Instituto Federal Goiano, Campus Rio
Verde, 2020.

1. pesticidas. 2. bioensaio. 3. bioindicador. 4.
biomonitoramento. I. Corrêa Mendoza, Dr. a Maria
Andréia, orient. II. de Souza Santos, Dr. a Lia
Raquel , co-orient. III. Título.

Responsável: Johnathan Pereira Alves Diniz - Bibliotecário-Documentalista CRB-1 n°2376

**TERMO DE CIÊNCIA E DE AUTORIZAÇÃO PARA DISPONIBILIZAR
PRODUÇÕES TÉCNICO-CIENTÍFICAS NO REPOSITÓRIO INSTITUCIONAL DO
IF GOIANO**

Com base no disposto na Lei Federal nº 9.610/98, AUTORIZO o Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia Goiano, a disponibilizar gratuitamente o documento no Repositório Institucional do IF Goiano (RIIF Goiano), sem ressarcimento de direitos autorais, conforme permissão assinada abaixo, em formato digital para fins de leitura, download e impressão, a título de divulgação da produção técnico-científica no IF Goiano.

Identificação da Produção Técnico-Científica

- | | |
|--|---|
| <input type="checkbox"/> Tese | <input type="checkbox"/> Artigo Científico |
| <input checked="" type="checkbox"/> Dissertação | <input type="checkbox"/> Capítulo de Livro |
| <input type="checkbox"/> Monografia – Especialização | <input type="checkbox"/> Livro |
| <input type="checkbox"/> TCC - Graduação | <input type="checkbox"/> Trabalho Apresentado em Evento |
| <input type="checkbox"/> Produto Técnico e Educacional - Tipo: _____ | |

Nome Completo do Autor: Isis de Jesus Guerra Santos

Matrícula: 2017202310840047

Título do Trabalho: Aspectos genotóxicos e citotóxicos de fungicida: uma revisão global.

Restrições de Acesso ao Documento

Documento confidencial: Não Sim, justifique: _____

Informe a data que poderá ser disponibilizado no RIIF Goiano: 20/04/20

O documento está sujeito a registro de patente? Sim Não

O documento pode vir a ser publicado como livro? Sim Não

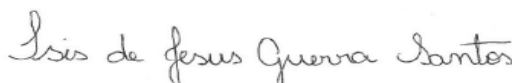
DECLARAÇÃO DE DISTRIBUIÇÃO NÃO-EXCLUSIVA

O/A referido/a autor/a declara que:

1. o documento é seu trabalho original, detém os direitos autorais da produção técnico-científica e não infringe os direitos de qualquer outra pessoa ou entidade;
2. obteve autorização de quaisquer materiais inclusos no documento do qual não detém os direitos de autor/a, para conceder ao Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia Goiano os direitos requeridos e que este material cujos direitos autorais são de terceiros, estão claramente identificados e reconhecidos no texto ou conteúdo do documento entregue;
3. cumpriu quaisquer obrigações exigidas por contrato ou acordo, caso o documento entregue seja baseado em trabalho financiado ou apoiado por outra instituição que não o Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia Goiano.

Rio Verde, 20 /04 /2020.

Local Data



Assinatura do Autor e/ou Detentor dos Direitos Autorais

Ciente e de acordo:



Assinatura do(a) orientador(a)

INSTITUTO FEDERAL DE EDUCAÇÃO, CIÊNCIA E TECNOLOGIA
GOIANO – CAMPUS RIO VERDE
DIRETORIA DE PÓS-GRADUAÇÃO, PESQUISA E INOVAÇÃO
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM BIODIVERSIDADE E
CONSERVAÇÃO

ASPECTOS GENOTÓXICOS E CITOTÓXICOS DE
FUNGICIDAS: UMA REVISÃO GLOBAL

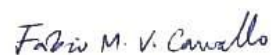
Autora: Isis de Jesus Guerra Santos
Orientadora: Maria Andréia Corrêa

TITULAÇÃO: Mestre em Biodiversidade e Conservação – Área de
concentração Conservação dos Recursos Naturais.

APROVADA em 20 de fevereiro de 2020.



Prof. Dr. Lucas Anjos de Souza
Avaliador interno
IF Goiano / Rio Verde



Prof. Dr. Fábio Carvalho
Avaliador externo
IF Goiano / Rio Verde



Prof.ª Dr.ª Maria Andréia Corrêa
Presidente da Banca
IF Goiano / Rio Verde

Dedicatória

À Deus por me permitir chegar até aqui, a minha família pelo apoio à minha caminhada em busca dos meus sonhos. Aos professores que me mostraram a beleza do conhecimento científico. Aos amigos e colegas que fiz durante essa trajetória tornando-a mais leve.

AGRADECIMENTOS

À Prof. Dra. Maria Andréia Corrêa Mendonça (orientadora) pela oportunidade e orientação prestada, pelo seu incentivo, disponibilidade e apoio que sempre demonstrou. Aqui expresso minha gratidão.

À Prof. Dra. Lia Raquel de Souza Santos (coorientadora), pela sua disponibilidade, incentivo, dedicação e apoio na elaboração desse trabalho.

Ao MSc. Marcelino Benvindo de Souza pela sua disponibilidade, amizade e apoio na produção dessa dissertação. Aqui expresso meus sinceros agradecimentos.

A todos amigos e colegas do Laboratório de Biologia Animal e do programa de mestrado em Biodiversidade e Conservação que de forma direta ou indireta, contribuíram, ou auxiliaram na elaboração do presente estudo, desde já meus agradecimentos.

Aos colegas, gestora e coordenadores da Escola Municipal a qual leciono pela flexibilização de horário de aulas para que fosse possível a realização desse trabalho.

A minha família pelo apoio, pela força e pelo carinho que sempre me prestaram ao longo da minha vida acadêmica, em especial a minha avó, a minha tia e ao meu esposo pela paciência, atenção e força nos momentos difíceis. Por isso muito obrigado.

BIOGRAFIA DO AUTOR

Isis de Jesus Guerra Santos, nascida em 24 de abril de 1993 no município de São Luiz de Montes Belos – GO, filha de Marlene Felícia de Jesus e Cláudio Henrique Guerra. Em 2009 concluiu o ensino médio no Colégio Estadual Antenor Padilha no município de Ivolândia – GO. Em 2011 matriculou-se no curso de Ciências Biológicas – Modalidade Licenciatura da Universidade Estadual de Goiás, Unidade Universitária de Iporá-GO, interrompendo seus estudos em 2013. Em 2015 graduou-se no curso de Licenciatura em Ciências Biológicas do Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia Goiano - Campus Rio Verde – GO. E em 2017 ingressou no Programa de Pós-Graduação em Biodiversidade e Conservação, também no Instituto Federal Goiano, Campus Rio Verde. É professora na Escola Municipal Armando Gomes da Fonseca no município de Montividiu – GO, onde ministra aulas de ciências para o ensino fundamental.

ÍNDICE

	Página
AGRADECIMENTOS	i
BIOGRAFIA DO AUTOR	ii
ÍNDICE DE TABELAS	iv
ÍNDICE DE FIGURAS	v
LISTA DE SÍMBOLOS, SIGLAS, ABREVIACÕES E UNIDADES	vi
RESUMO.....	vii
ABSTRACT.....	viii
1. INTRODUÇÃO GERAL	1
1.1- Uso de fungicidas	2
1.2- Bioensaios.....	4
1.3- Referências bibliográficas	6
2. OBJETIVOS	12
3. CAPÍTULO I	13
DANO GENOTÓXICO E CITOTÓXICO ATRIBUÍDO A FUNGICIDAS: O CENÁRIO GLOBAL	13
DANO GENOTÓXICO E CITOTÓXICO ATRIBUÍDO A FUNGICIDAS: O CENÁRIO GLOBAL	14
RESUMO.....	14
ABSTRACT.....	15
3.1. INTRODUÇÃO	16
3.2. METODOLOGIA DA PESQUISA	17
3.3. RESULTADOS.....	18
3.4. DISCUSSÃO	23
3.5. CONSIDERAÇÕES FINAIS	28
3.6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	28

ÍNDICE DE TABELAS

	Página
Tabela 1 – Os nove fungicidas sintéticos mais estudados	21
Tabela 2 – Grupos de organismos utilizados para observação da ação genotóxico e citotóxico de fungicidas	22

ÍNDICE DE FIGURAS

	Página
Figura 1 - Estrutura química dos fungicidas Tiram [®] , Maneb [®] e Macozeb [®]	3
Figura 2 - Estrutura química dos fungicidas Benomyl [®] e Imazalil [®]	4
Figura 3 – Variação no número de publicações sobre citotóxicidade e genotoxicidade de fungicidas, entre 1974 e 2018	19
Figura 4 – Produção científica para efeito citotóxico e genotóxico de fungicidas publicados entre 1974 e 2018 em diferentes países	20
Figura 5– Origem dos compostos químicos atribuído a dano genotóxico e citotóxico de fungicidas	20
Figura 6 – Variação nos tipos de danos para ação citotóxica e genotóxica de fungicidas	21

LISTA DE SÍMBOLOS, SIGLAS, ABREVIACIONES E UNIDADES

ACs: Aberrações cromossômicas

DNA: ácido desoxirribonucleico

EBDC: Etileno-bis-ditiocarbamatos.

ETU: Etileno-tiourea

Fig: Figura

MN: Micronúcleo

MTT: [3- (4,5-dimethylthiazol-2-yl) -2,5diphenyltetrazolium bromide]

N: número

SCE: Sister chromatid Exchange

RESUMO

SANTOS, ISIS DE JESUS GUERRA SANTOS. Instituto Federal Goiano – Campus Rio Verde – GO, 20 de fevereiro de 2020. **Aspectos genotóxicos e citotóxicos de fungicidas: uma revisão global.** Orientadora: Dra. Maria Andréia Corrêa Mendonça. Co-orientadora: Dra. Lia Raquel de Souza Santos.

Fungos são os principais causadores de danos às culturas em todo o mundo. Sendo assim, fungicidas são utilizados extensivamente, pois, controlam doenças fúngicas por inibir ou matar o fungo causador da doença. No entanto, a aplicação incessante desse pesticida pode causar danos ambientais, uma vez que podem afetar organismos não alvos. Dentro os efeitos negativos do uso de fungicidas destacam-se os efeitos genotóxicos e citotóxicos, que podem causar danos tanto em nível celular, como fisiológico e/ou morfológico. Diferentes tipos de bioensaios têm sido propostos para o monitoramento de genotoxicidade ambiental. Os bioensaios investigam os efeitos dos fungicidas em um organismo bioindicador. Os bioindicadores são uma parte importante do biomonitoramento e fornecem um meio rápido e barato para a avaliação da toxicidade. As plantas são excelentes para estudos de biomonitoramento. No entanto, outros organismos também podem ser utilizados como modelos para estudo. Os bioensaios para avaliação de genotoxicidade compreendem aberrações cromossômicas (ACs), teste de micronúcleo e ensaio cometa. E para avaliação da citotoxicidade compreendem o teste de *Allium cepa* e ensaio MTT [3- (4,5-dimethylthiazol-2-yl) - 2,5diphenyltetrazolium bromide]. Os danos genotóxicos podem ser definidos como alterações no DNA (ácido desoxirribonucleico). E os danos citotóxicos causam efeito tóxico no nível celular. Entre os efeitos tóxicos, podem ser morte celular, alterações na permeabilidade da membrana, ou a inibição enzimática. O presente estudo procura investigar a colaboração científica e a tendência global acerca de estudos de genotoxicidade e citotoxicidade de fungicidas.

PALAVRAS-CHAVE: pesticidas, bioensaio, bioindicador, biomonitoramento.

ABSTRACT

SANTOS, ISIS DE JESUS GUERRA SANTOS. Instituto Federal Goiano – Campus Rio Verde – GO, February, 20th, 2020. **Genotoxic and cytotoxic aspects of fungicides: a global review.** Advisor: Dr. Maria Andréia Corrêa Mendonça. Co-advisor: Dr. Lia Raquel de Souza Santos.

Fungi are a major cause of crop damage worldwide. Thus, fungicides are used extensively in order to control fungal diseases by inhibiting fungi growth or eliminating them. However, the overuse of this agrochemical may lead to environmental damage as it may affect non-target organisms. Among the negative effects of the fungicides overuse on non-target organisms are genotoxic and cytotoxic effects, which can cause damage at cellular, physiological and / or morphological level. Different types of bioassays have been proposed for monitoring environmental genotoxicity. Bioassays investigate the effects of fungicides on a bioindicator organism. Bioindicators are an important part of biomonitoring and provide a quick and inexpensive means for toxicity assessment and plants are excellent for biomonitoring studies. However, other organisms can also be used as models for study. The bioassays assessment for genotoxicity include chromosomal aberrations (CAs), micronucleus testing and comet assay, while assessment for cytotoxicity include the *Allium cepa* test and MTT [3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl) -2,5diphenyltetrazolium bromide] assay. Genotoxic damage can be defined as changes in DNA (deoxyribonucleic acid), while cytotoxic considers damage at the cellular level. Toxic effects may include cell death, changes in membrane permeability, or enzymatic inhibition. The present study seeks to investigate the scientific collaboration and the global trend regarding fungicide genotoxicity and cytotoxicity studies.

KEY WORDS: pesticides, bioassay, bioindicator, biomonitoring.

1. INTRODUÇÃO GERAL

Uma das principais preocupações dos produtores agrícolas é aumentar a produção de culturas, buscando maiores rendimentos e reduzindo as perdas pós-colheita. Sendo assim, pesticidas são utilizados extensivamente, pois combatem as pragas e as doenças de forma eficiente e relativamente rápida. Dentre os pesticidas mais amplamente utilizados encontram-se os fungicidas, os herbicidas e os inseticidas (Cayir et al., 2016; Chauhan et al., 2017).

No entanto, a aplicação incessante desses pesticidas pode causar danos ambientais, uma vez que podem afetar organismos não alvos. Nesse sentido, o uso desses químicos pode gerar efeitos negativos na fauna e flora em aspectos bioquímicos, fisiológicos e/ou moleculares (Schwarzbacherová et al., 2017). Dentro os efeitos negativos que o uso de pesticidas pode causar nos organismos não alvos, destacam-se os efeitos genotóxicos e citotóxicos, que podem causar danos tanto em nível celular, como fisiológico e/ou morfológico (Wandscheer et al., 2017). Alguns pesticidas podem ser tóxicos em diferentes organismos, podendo influenciar na sobrevivência, fertilidade e composição genética das populações.

Para tanto, a ecotoxicologia explica a relação entre os poluentes químicos, o ambiente em que são liberados e a biota naquele ambiente. Por isso, o estudo dessas substâncias deve ser realizado, para que seus riscos potenciais possam ser definidos, e assim, medidas possam ser tomadas para atenuar os prováveis impactos por meios de ações regulatórias e técnicas (Carvalho; Pivoto, 2011).

Diferentes tipos de bioensaios têm sido propostos para o monitoramento de genotoxicidade ambiental. Geralmente, as plantas são utilizadas para avaliação da citotoxicidade e genotoxicidade de pesticidas, uma vez que são reconhecidas como excelentes modelos de detecção de agentes mutagênicos ambientais, sendo, portanto, frequentemente usadas para estudos de biomonitoramento (Wandscheer et al., 2017).

No entanto, outros organismos tais como bactérias (Martinez et al., 2015), algas (Morais et al., 2017), insetos (Radko et al., 2017), moluscos (Kanemoto-Kataoka et al., 2017), peixes (Bonilla et al., 2017), aves (Lone et al., 2017) e mamíferos (Bayram, 2016) também podem ser utilizados como modelos para estudo em ecotoxicologia. São analisados geralmente culturas celulares de mamíferos, peixes e aves, dentre elas, células sanguíneas (linfócitos, leucócitos, macrófagos), células mononucleares de sangue periférico, timócitos, células hepáticas, fibroblastos e células intestinais (Juárez et al, 2016; Patriota et al., 2016; Akyil et al., 2016; Pierrard et al, 2012).

1.1- Uso de fungicidas

Os fungos são os principais causadores de danos às culturas em todo o mundo (Mcgrath, 2012). Os fungicidas são pesticidas utilizados na proteção de plantas. A aplicação massiva de pesticidas é parte integrante da agricultura moderna. Sua utilidade foi demonstrada pelo controle de doenças e melhor desempenho de numerosas culturas, com impacto econômico-social benéfico (FAO, 2020). Portanto, o fungicida é um tipo específico de pesticida que controla doenças fúngicas por inibir ou matar o fungo causador da doença (Mcgrath, 2012).

A classificação dos fungicidas é feita de acordo com sua natureza química e modo de ação contra fitopatógenos, podendo ser protetores ou de contato, erradicantes e sistêmicos (Garcia, 1999).

Os fungicidas protetores ou de contato são efetivos quando aplicados antes da contaminação do hospedeiro pelo patógeno, impedindo ou reduzindo as chances de ocorrência da doença, são exemplos os fungicidas Tiram® (Fig. 2 A), Ziram®, Maneb® (Fig. 2 B) e Mancozeb (Fig. 2 C)® (ditiocarbamatos) (Garcia, 1999).

Os erradicantes são fungicidas que atuam diretamente sobre o patógeno, eliminando-o. São exemplos os fungicidas a base de enxofre, como Cloropricina® e Dazonet® (Garcia, 1999).

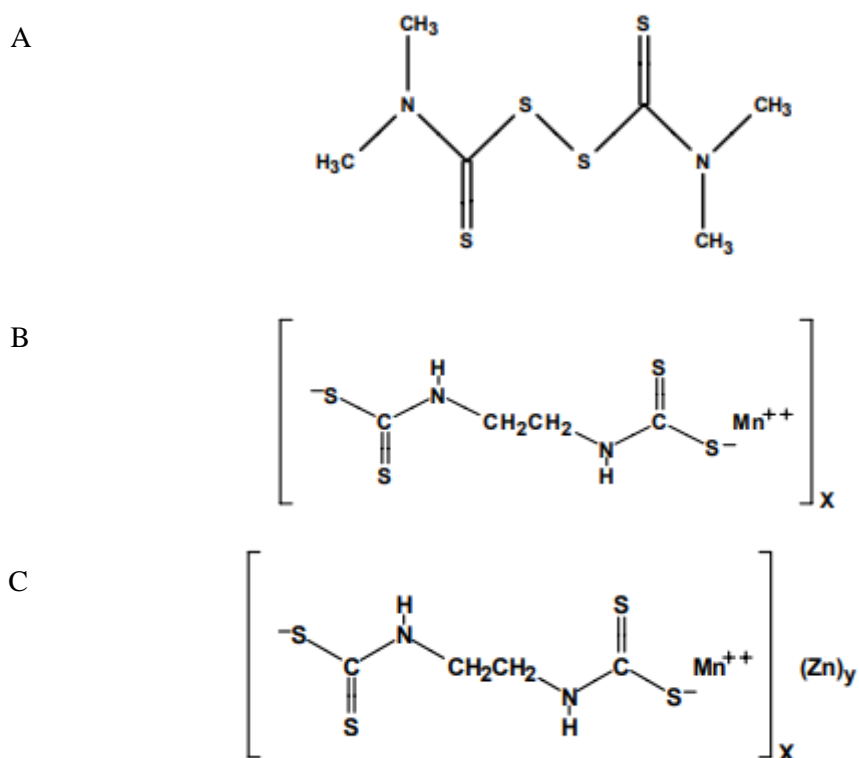


Fig. 1 - Estrutura química dos fungicidas Tiram[®](A), Maneb[®] (B) e Macozeb[®] (C).
Fonte: Adaptado de Silva (2005).

O uso de fungicidas iniciou-se em 1882, em Bordeaux, França, e atualmente os fungicidas representam um dos principais métodos de controle de doenças de plantas. A facilidade de aplicação e os resultados imediatos obtidos os tornaram amplamente difundidos em diversas culturas (Ghini; Kimati, 2002).

O Brasil é um dos principais produtores agrícolas do mundo. De acordo com o último Censo Agropecuário do ano de 2017 (Censo Agro, 2017), havia 5,072 milhões de empresas agropecuárias no ano de 2017, o que representava 350,253 milhões de hectares. Isso gera uma grande demanda e consumo de produtos ou compostos químicos denominados pesticidas ou agrotóxicos, dentro desse grupo tem-se herbicidas, fungicidas, inseticidas, entre outros. Com isso, o país tornou-se o maior consumidor dessas substâncias no mundo desde 2008, sendo responsável por 86% do consumo de agroquímicos na América Latina (Lopes; Albuquerque, 2018).

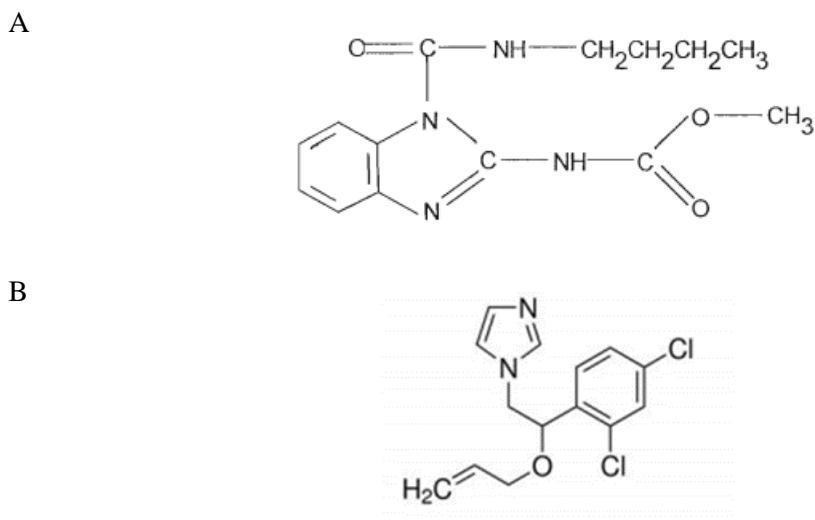


Fig. 2 - Estrutura química dos fungicidas Benomyl[®] (A) e Imazalil[®] (B). Fonte: Adaptado de: Pereira (2004) e Janke (2015).

No entanto, o uso incessante de fungicidas pode causar danos ambientais (Schwarzbacherová et al., 2017), pois contaminam o solo, a água, a água subterrânea, os animais, são perigosos para a saúde dos trabalhadores que lidam com esse tipo de produto e as comunidades rurais próximas as plantações que fazem uso de pesticidas (Vasconcelos, 2018), uma vez que podem ser tóxicos e / ou genotóxicos e citotóxicos em diferentes organismos, causando efeitos negativos nos mesmos (Wandscheer, et al., 2017). Estima-se que cerca de 200.000 pessoas em todo o mundo morrem a cada ano por intoxicação aguda por pesticidas - principalmente trabalhadores rurais e comunidades. No Brasil, 84.200 pessoas foram envenenadas pela exposição a pesticidas entre 2007 e 2015, ou uma média de 25 pessoas por dia (Vasconcelos, 2018). Devido ao uso indiscriminado de fungicidas e outros pesticidas é necessário aferir os possíveis danos desses químicos em diferentes organismos, para isso são utilizados os bioensaios, experimento científico que investiga os efeitos de uma substância química em um órgão isolado ou em um organismo chamado de bioindicador.

1.2- Bioensaios

Bioensaio é um experimento científico que investiga os efeitos de uma substância em um órgão isolado ou em um organismo (bioindicador). É essencial no desenvolvimento de novas drogas e monitoramento de poluentes no meio ambiente. Já um bioindicador é um organismo (ou partes de um organismo ou comunidade) que

reflete os diferentes níveis de contaminação ambiental, em ecossistemas reais ou em condições laboratoriais (Souza et al, 2016).

Bioindicadores são uma parte importante do biomonitoramento e refletem a biodisponibilidade de contaminantes, fornece um meio rápido e barato para a avaliação da toxicidade, podem servir como marcadores de classes de produtos químicos e servem como um alerta precoce do estresse da população e da comunidade (Hoffman et al, 2003).

Nos anos 50 e 60 a ecologia e a genética se uniram e desenvolveram os primeiros testes rápidos e eficientes hoje utilizados em genotoxicidade. A maioria dos testes genéticos busca agentes que podem afetar o genoma. Devido à universalidade do código genético, um agente que pode causar danos ao DNA tem potencial genotóxico em qualquer tipo de célula, seja ela, animal, vegetal ou de micro-organismos. No entanto, diferentes organismos possuem mecanismos de reparação e desintoxicação que variam consideravelmente, tornando diferente a resposta destes organismos a agentes genotóxicos. Para evitar este problema e suprir a necessidade de informações em mutagênese e carcinogênese foram criadas estratégias de avaliação em testes *in vitro* e *in vivo* em vários organismos modelos, estes organismos são valiosos para detectar alterações no ambiente (Erdtmann, 2003).

Os bioensaios para avaliação de genotoxicidade compreendem aberrações cromossômicas (ACs), que são quaisquer mudanças na estrutura do cariótipo, que criam um novo contexto genético pela movimentação do DNA, diferente do original; troca de cromátides irmãs – sister chromatid exchange (SCE), que consiste durante a divisão celular, segmentos de DNA resultantes da replicação trocam de lugar, simetricamente; mutações pontuais e oncogênicas, são alterações diretamente no DNA com deleções, duplicações e/ ou alterações de pares de bases; micronúcleos (MN), consiste na formação de pequenos núcleos representando o material genético que foi perdido pelo núcleo principal, como consequência de um dano genético que pode ser causado por agentes físicos e químicos ou biológicos; e o ensaio cometa, utilizado para avaliar lesões no DNA, causado por agentes quilantes, intercalantes e oxidantes (Valente et al., 2017; Erdtmann, 2003). Além disso, as enzimas relacionadas ao estresse oxidativo estão envolvidas no metabolismo de espécies reativas, que podem gerar dano celular, inclusive no material genético.

Ensaios de citotoxicidade também têm sido amplamente utilizados e se traduzem bem como pelo aparecimento de alterações morfológicas quando as células

são expostas a agentes externos. A base dos bioensaios de citotoxicidade está na avaliação da interferência induzida por agentes químicos nos processos metabólicos celulares e na investigação da maneira como esses processos podem vir a intervir no crescimento/multiplicação celular, ou na morte celular, reduzindo, assim o número de células viáveis se comparado com culturas controles não-tratadas; um exemplo é o teste *Allium cepa*, que consiste na observação de alterações celulares durante a divisão celular da raiz de cebola; e o ensaio de MTT [3- (4,5-dimethylthiazol-2-yl) - 2,5diphenyltetrazolium bromide], que mensura a atividade mitocondrial de células vivas e representa um parâmetro de suas atividade metabólica (Abreu, 2008; Andrighetti-Fröhner, 2003; Oliveira, 2009).

Os organismos utilizados para avaliação da citotoxicidade e genotoxicidade de fungicidas são diversos, sendo assim, o presente estudo procura avaliar os efeitos citotóxicos e genotóxicos de fungicidas, em organismos alvo e não alvo, e conhecer a quais grupos químicos esses fungicidas pertencem.

Com base no exposto, o presente trabalho investiga a colaboração científica e a tendência global acerca de estudos de genotoxicidade e citotoxicidade de fungicidas.

1.3- Referências bibliográficas

ABREU, C. L. C. **Avaliação da citotoxicidade induzida por produtos cosméticos pelo método de Quantificação de Proteínas Totais em células 3T3**. 2008. 104 f. Dissertação (Mestrado em Vigilância Sanitária) apresentada a Fundação Oswaldo Cruz, Instituto Nacional de Controle de Qualidade em Saúde, Rio de Janeiro, 2008.

AKYIL, D; OZKARA, A; ERDOGMUS, S.F.; EREN, Y; KONUK, M; SAGLAM, E. Evaluation of cytotoxic and genotoxic effects of Benodanil by using *Allium* and Micronucleus assays. **Drug and Chemical Toxicology**, v. 39, n. 1, p. 35-40, 2016.

ANDRIGHETTI-FRÖHNER, C. R. **Avaliação da citotoxicidade, da genotoxicidade e da potencial atividade antiviral da violaceína, produzida pela *Chromobacterium violaceum***. 2003. 135 f. Dissertação (Mestrado em Farmácia) apresentada a Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2003.

BAYRAM, S. GENC, A; BUYUKLEYLA, M; RENCUZOGULLARI, E. Genotoxicity and cytotoxicity of copper oxychloride in cultured human lymphocytes using cytogenetic and molecular tests. **Cytotechnology**, v. 68, p. 2027–2036, 2016.

BONILLA, J. J. A.; GUERRERO, D. J. P.; SÁEZ, R. G. T.; ISHIDA, K; FONSECA, B.B.; ROZENTAL, S.; LÓPEZ, C.C.O. Green Synthesis of Silver Nanoparticles Using Maltose and Cysteine and Their Effect on Cell Wall Envelope Shapes and Microbial Growth of *Candida* spp. **Journal of Nanoscience and Nanotechnology**, v. 17, p.1729 – 1739, 2017.

CARVALHO, N. L., PIVOTO, T. S. Ecotoxicologia: conceitos, abrangência e importância agrônômica. **Revista Eletrônica do PPGEAmb-CCR/UFSM**, v. 2, n. 2, p.176 –192, 2011.

CAYIR, A;COSKUN, M; COSKUN, M. Genotoxicity of commercial fungicide Cabrio Plus on human cell. **Cytotechnology**, v. 68, p. 1697–1704, 2016.

CENSO AGRO 2017. **Resultados preliminares**. Disponível em: <<https://censoagro2017.ibge.gov.br>>. Acesso em: 18 out. 2019.

CHAUHAN, N; DILBAGHI, N; GOPAL, M; KUMAR; R, KIM, K; KUMAR, S. Development of chitosan nanocapsules for the controlled release of hexaconazole. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 97, p. 616–624, 2017.

ERDTMANN, João Antonio Pêgas Henriques. Org. Juliana da Silva, Bernardo. **Genética Toxicológica**. Porto Alegre: Alcance, 424p, 2003.

FAO. Food And Agriculture Organization Of The United Nations. **71 Tabela 16. Listado de plaguicidas usados para el control de enfermedades en tomate**. Disponível em: <<http://www.fao.org/3/a1374s/a1374s06.pdf>>. Acesso em: 12 mar. 2020.

GARCIA, A. **Fungicidas I: utilização no controle químico de doenças e sua ação contra o fitopatógenos**. Porto Velho: EMBRAPA-CPAF, Rondônia, 32 p, 1999.

GUINI, R., KIMATI, I. **Resistência de fungos a fungicidas**. Jaguariúna, SP: Embrapa Meio Ambiente, 78p, 2002.

HOFFMAN, D. J; RATTNER, B. A; BURTON, G. A.; CAIRNS, J. **Handbook of ecotoxicology**, Estados Unidos, 2 ed, Lewis Publishers, p. 1315, 2003.

JANKE, Helena. **Influência dos antimicrobianos oxitetraciclina e imazalil sobre a decomposição da macrófita aquática Egeria najas Planch.** 2015. 102 f. Tese (Doutorado em Ciências) apresentada a Universidade Federal de São Carlos, São Carlos, 2015.

JUAREZ, Z.N.; BACH, H; SANCHEZ-ARREOLA, E.; BACH, H.; HERNANDEZ, L.R. Protective antifungal activity of essential oils extracted from Buddleja perfoliata and Pelargonium graveolens against fungi isolated from stored grains. **Journal of Applied Microbiology**, v. 120, p. 1264-1270, 2016.

KANEMOTO-KATAOKA, Y; OYAMA, T. M; ISHIBASHI, H.; OYAMA, Y. Zinc is a determinant of the cytotoxicity of Ziram, a dithiocarbamate fungicide, in rat thymic lymphocytes: possible environmental risks. **Toxicology Research**, v. 6, n. 4, p. 499-504, 2017.

LONE, M. I, NABI, A.; DAR, N. J.; HUSSAIN, A.; NAZAM, N.; HAMID, A.; AHMAD, W. Toxicogenetic evaluation of dichlorophene in peripheral blood and in the cells of the immune system using molecular and flow cytometric approaches. **Chemosphere**, v. 167, p. 520-529, 2017.

LOPES, C.V.A; ALBUQUERQUE, G.S.C. Agrotóxicos e seus impactos na saúde humana e ambiental: uma revisão sistemática. **Saúde Debate**, v.42, n.117, p. 518-534, 2018.

MARTINEZ, R. S.; DI MARZIO, W.D.; SAENZ, M. Genotoxic effects of commercial formulations of Chlorpyrifos and Tebuconazole on green algae. **Ecotoxicology**, v. 24, n. 1, p. 45-54, 2015.

MCGRATH, M.T. **What are Fungicides**, The Plant Health Instructor, Trans. Piérrri Spolti, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, 2012. Disponível em: <<https://www.apsnet.org/edcenter/intropp/topics/Pages/fungicidesPort.aspx>>. Acesso em: 24 mar. 2018.

MORAIS, C.B.; SCOPEL, M.; PEDRAZZA, G.P.R.; SILVA, F.K.; DALLA LANA, D.F.; TONELLO, M.L.; MIOTTO, S.T.S.; MACHADO, M.M.; OLIVEIRA, L.F.S.; FUENTEFRIA, A.M.; ZUANAZZI, J.A.S. Anti-dermatophyte activity of Leguminosae plants from Southern Brazil with emphasis on *Mimosa pigra* (Leguminosae). **Journal de Mycologie Médicale**, v. 27, p. 530-538, 2017.

OLIVEIRA, Milton Paulo de. **Análise in vitro da citotoxicidade e proliferação celular em equivalentes de pele humana**. 2009. 71 f. Dissertação (Mestrado em Medicina e Ciências da Saúde) apresentada a Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2009.

PATRIOTA, L.L.S.; PROCOPIO, T.F.; DE SOUZA, M.D.; DE OLIVEIRA, A.P.S.; CARVALHO, L.V.N.; PITTA, M.G.R.; REGO, M.J.B.M; PAIVA, P.M.G.; PONTUAL, E.V.; NAPOLEAO, T.H. A Trypsin Inhibitor from *Tecoma stans* Leaves Inhibits Growth and Promotes ATP Depletion and Lipid Peroxidation in *Candida albicans* and *Candida krusei*. **Frontier in Microbiology**, v. 7, n. 611, 2016.

PEREIRA, Wellington da Silva. **Estudo da aplicação de ferro no tratamento de efluente têxtil**. 2004. 67f. Dissertação (Mestrado em Química) apresentada a Universidade de São Paulo, São Paulo, 2004.

PIERRARD, M.A.; KESTEMONT, P.; DELAIVE, E.; DIEU, M.; RAES, M.; SILVESTRE, F. Malachite green toxicity assessed on Asian catfish primary cultures of peripheral blood mononuclear cells by a proteomic analysis. **Aquatic Toxicology**, v. 114, n. 142-152, 2012.

RADKOA, L; CYBULSKIA, W; RZESKIB, W. The protective effects of silybin on the cytotoxicity of thiram in human, rat and chicken cell cultures. **Pesticide Biochemistry and Physiology**, v. 143, p.154-160, 2017.

SANTANA, V. S; MOURA, M. C. P; NOGUEIRA, F. F. Mortalidade por intoxicação ocupacional relacionada a agrotóxicos, 2000-2009, Brasil. **Revista de Saúde Pública**, v. 47, n.3, p. 598-606, 2013.

SCHWARZBACHEROVÁ, V; WNUK, M; LEWINSKA, A; POTOCKI, L; ZEBROWSKI, J; KOZIOROWSKI, M; HOLECKOVÁ, B; SIVIKOVÁ, K; DIANOVSKÝ, J. Evaluation of cytotoxic and genotoxic activity of fungicide formulation Tango® Super in bovine lymphocytes. **Environmental Pollution**, v. 220, p.255-263, 2017.

SILVA, Rosselei Caiél da. **Comparação entre métodos cromatográficos, empregando GC-ECD, GC-FPD e GC-MS, e espectrofotométrico para determinação de ditiocarbamatos em alface**. 2005. 118 f. Dissertação (Mestrado em Química) apresentada a Universidade Federal de Santa Maria, Rio Grande do Sul, 2009.

SOUZA, C.P; GUEDES, T.A.; FONTANETTI, C. S. Evaluation of herbicides action on plant bioindicators by genetic biomarkers: a review. **Environmental Monitoring and Assessment**, v. 188, p. 694, 2016.

VALENTE, D; COSTA-AMARAL, I; CARVALHO, L; SANTOS, M; CASTRO, V; RODRIGUES, D; FALCO, A; SILVA, C; NOGUEIRA, S; GONÇALVES, E; MOREIRA, J; ANDRÉ, L; TEIXEIRA, L; SARCINELLI, P; SISENANDO, H; OLIVEIRA, M; PERINI, J; MATTOS, R; LARENTIS, A. Utilização de biomarcadores de genotoxicidade e expressão gênica na avaliação de trabalhadores de postos de combustíveis expostos a vapores de gasolina. **Revista Brasileira de Saúde Ocupacional**, v. 42, p.1-21, 2017.

VASCONCELOS, Y. Pesticides in the balance. **Revista Pesquisa FAPESP**. ed. 271, 2018. Disponível em: <<https://revistapesquisa.fapesp.br/en/2019/02/25/pesticides-in-the-balance/>>. Acesso em: 24 out.2019.

WANDSCHEER, A C.D.; MARCHESAN, E; TEDESCO, S B.; FRESCURA, V.; SOARES, C. F; LONDERO, G. P.; TELÓ, G. M.; HANSEL, D.S.S. Cytogenotoxicity of rice crop water after application of the tricyclazole fungicide. **Anais da Academia Brasileira de Ciências**, v. 89, n. 2, p. 1251-1258, 2017.

2. OBJETIVOS

2.1- *Objetivo Geral:*

Descrever e discutir a tendência temporal da produção científica global acerca dos estudos de genotoxicidade e citotoxicidade de fungicidas, a fim de conhecer os principais efeitos associados ao uso desses compostos em organismos alvos e não-alvos, bem como o conjunto de técnicas utilizadas nos estudos ecotoxicológicos para essas substâncias.

2.2- *Objetivos Específicos:*

- Conhecer os grupos químicos de fungicidas que mais estão causando danos aos modelos.
- Classificar os tipos de danos: celular, fisiológico e anatômico/morfológico oriundo dos fungicidas.
- Identificar a natureza das pesquisas científicas sobre genotoxicidade e citotoxicidade quanto aos trabalhos laboratoriais e investigações em campo.
- Conhecer a colaboração científica de diferentes países acerca dos estudos sobre genotoxicidade e citotoxicidade de fungicidas.

3. CAPÍTULO I

DANO GENOTÓXICO E CITOTÓXICO ATRIBUÍDO A FUNGICIDAS: O CENÁRIO GLOBAL

DANO GENOTÓXICO E CITOTÓXICO ATRIBUÍDO A FUNGICIDAS: O CENÁRIO GLOBAL

RESUMO

A maior demanda por rendimentos e pela redução das perdas em sistemas agrícolas tem levado a um crescente uso de pesticidas. Porém, pesticidas podem causar danos ambientais, afetar organismos não-alvos e causar efeitos negativos que influenciam a sobrevivência, fertilidade e composição genética. Dentre esses efeitos destacam-se os genotóxicos e citotóxicos, que podem perturbar a vida ou induzir a morte tanto em nível de célula como de organismo. Assim, esse trabalho foi conduzido com objetivo de relatar as principais tendências da literatura científica sobre estudos dos efeitos citotóxicos e genotóxicos de fungicidas, bem como conhecer os principais fungicidas e suas ações em organismos não alvo; os tipos de danos causados, a natureza das pesquisas científicas e os principais países que colaboraram com a produção científica. A análise permitiu identificar que o número de estudos sobre citotoxicidade e genotoxicidade de fungicidas vem aumentando nos últimos anos, sendo o Mancozeb e Carbendazim os fungicidas mais citados. As pesquisas utilizando mamíferos como modelo apresentaram um crescimento significativo ao longo dos anos. A maioria dos danos relatados são os celulares. Esses resultados somam aos esforços de conservação da biodiversidade por meio do direcionamento de pesquisas futuras para identificação e aspectos da utilização de produtos menos danosos ao ambiente.

Palavras-chave: Pesticida; Citotoxicidade; Genotoxicidade; Bioindicadores.

GENOTOXIC AND CYTOTOXIC DAMAGE CAUSED BY FUNGICIDES: THE GLOBAL SCENARIO

ABSTRACT

The increasing demand for crop yielding and decrease in losses in agricultural systems has led to increasing pesticides overuse. However, pesticides can lead to environmental damage and this may affect non-target organisms leading to negative effects that influence survival, fertility and genetic makeup. Among these effects, come up the genotoxicity and cytotoxicity, which can disrupt life or induce death at both cell and organism levels. Thus, this has been carried out to report the main trends in scientific literature to seek for studies of cytotoxic and genotoxic effects of fungicides, as well as to identify the main fungicides and their effects in non-target organisms; the types of damage caused, the nature of scientific research and the main countries that collaborate with scientific production. The analysis carried out showed that the number of studies about cytotoxicity and genotoxicity of fungicides has been increasing in recent years, and mancozeb and carbendazim are the most cited fungicides. The researches using mammals as models of study has been increasing and the cellular damages are most reported. These results can add efforts to biodiversity conservation by guiding future research to identify less environmentally harmful products.

Key-Words: Pesticide; Cytotoxicity; Genotoxicity; Bioindicators.

3.1. INTRODUÇÃO

Uma das principais preocupações dos produtores agrícolas é aumentar a produção de culturas, buscando maiores rendimentos e reduzindo as perdas pós-colheita. Sendo assim, pesticidas são utilizados extensivamente, pois, combatem as pragas de forma eficiente quando comparado a outros métodos. Dentre os pesticidas mais amplamente utilizados, encontram-se os fungicidas, os herbicidas e os inseticidas (Cayir et al., 2016; Chauhan et al., 2017). Nesse estudo enfatizaremos nos fungicidas, uma vez que os fungos são os principais causadores de danos às culturas em todo o mundo. No entanto, o uso incessante de fungicidas no combate a pragas pode causar danos ambientais quando esses produtos atingem organismos não alvos (Schwarzbacherova et al., 2017).

Pesticidas podem contaminar o solo, a água, água subterrânea, humanos e animais. Estima-se que cerca de 200.000 pessoas em todo o mundo morrem a cada ano por intoxicação aguda por pesticidas - principalmente trabalhadores rurais e comunidades. No Brasil, 84.200 pessoas já foram envenenadas pela exposição a pesticidas entre 2007 e 2015, uma média de 25 pessoas por dia. A exposição dos trabalhadores agrícolas a pesticidas aumenta o risco de várias formas de câncer, além de distúrbios hormonais e defeitos congênitos (Vasconcelos, 2018). Sua toxicidade pode resultar em efeitos negativos aos organismos, como danos genotóxicos e citotóxicos (Wandscheer et al., 2017).

Os danos genotóxicos podem ser definidos como alterações no DNA (ácido desoxirribonucleico). Os indicadores de genotoxicidade permitem avaliar os efeitos de exposições ao material genético por meio da avaliação de mutação gênica, dano cromossômico ou lesão no DNA. Com isso, pode-se inferir o quão nocivo é uma substância para as células, podendo culminar ou não em morte celular (Erdtmann, 2003). Já os danos citotóxicos causam efeito tóxico no nível celular. Entre os efeitos

tóxicos, pode ser citada a morte celular, alterações na permeabilidade da membrana, ou a inibição enzimática. Os testes de citotoxicidade são valiosos para a compreensão do comportamento biológico dos materiais avaliados (Oliveira 2009).

Diferentes tipos de bioensaios têm sido propostos para o monitoramento de genotoxicidade ambiental em uma série de organismos. Geralmente, as plantas são utilizadas como organismos modelos para avaliação da citotoxicidade e genotoxicidade de pesticidas, uma vez que são reconhecidas como excelentes modelos de detecção de agentes mutagênicos ambientais (Wandscheer et al., 2017). Outros organismos também têm sido investigados como, bactérias (Martinez et al., 2015), algas (Morais et al., 2017), insetos (Radko et al., 2017), moluscos (Kanemoto-Kataoka et al., 2017), peixes (Bonilla et al., 2017), aves (Lone et al., 2017) e mamíferos (Bayram 2016). Para mamíferos, peixes e aves, geralmente utilizam culturas de células, dentre elas, células sanguíneas (linfócitos, leucócitos, macrófagos), células mononucleares de sangue periférico, timócitos, células hepáticas, fibroblastos e células intestinais (Juárez et al., 2016; Patriota et al., 2016; Akyil et al., 2016; Pierrard et al., 2012).

Com base no exposto, aqui, investigamos a produção científica acerca de danos genotóxicos e citotóxicos causados por fungicidas. Buscamos conhecer os principais fungicidas estudados e suas ações em organismos não-alvo, bem como os tipos de danos causados e os principais países que colaboraram com a produção científica. Dessa forma, foi possível descrever a tendência científica sobre estudos que abordaram os danos genotóxicos e citotóxicos causados por fungicidas, de forma a direcionar pesquisas futuras.

3.2. METODOLOGIA DA PESQUISA

O estudo foi realizado por meio das bases de dados da Web of Science (<www.isiknowledge.com>), Scopus (<www.scopus.com/>) e Scielo (<www.scielo.org/>). A plataforma Web of Science é umas das bases de dados mais recomendadas do mundo, abrangendo as áreas das ciências, ciências sociais, artes e humanidades; a Scopus consiste em uma base de dados de resumos e de citações da literatura científica e de fontes de informação de nível acadêmico na Internet, indexa mais de 23 mil periódicos, cerca de 265 milhões páginas da Internet, 18 milhões de patentes, além de outros documentos; e a Scielo é um modelo para a publicação

eletrônica cooperativa de periódicos científicos na Internet que foi especialmente desenvolvido para responder às necessidades da comunicação científica nos países em desenvolvimento e, particularmente, na América Latina e Caribe, proporcionando uma solução eficiente para assegurar a visibilidade e o acesso universal a sua literatura científica (Lourenzani, 2018).

A investigação da tendência científica com tema fungicida foi realizada de forma independente para os temas citotoxicidade e genotoxicidade. Assim, duas combinações de palavras-chave, cytotoxicity, fungicide e genotoxicity, fungicide, foram utilizadas para seleção dos trabalhos. As buscas foram realizadas desde o período mais remoto estabelecido nas bases de dados, até dezembro de 2018.

Para cada artigo foram examinadas as seguintes variáveis: nome do fungicida, grupo químico do fungicida, organismos alvo e não alvo, tipo de estudo (se é experimental ou campo), origem do composto químico (sintético ou natural), grupo taxonômico utilizado (organismos testes), tipo de dano (fisiológico, anatômico/morfológico e celular), organismo alvo (patógeno), técnicas utilizadas (biomarcador, entre outros), efeito do fungicida (genotoxicidade e citotoxicidade), país e ano de publicação.

Uma análise de correlação de Pearson ($P < 0,05$) foi utilizada entre um número de artigos em relação ao ano de publicação, para descrever a tendência temporal de cada temática (genotoxicidade e citotoxicidade). Os principais países, tipos de estudos e grupos taxonômicos são apresentados por meio de dados descritivos. A nacionalidade dos autores foi feita olhando a filiação do primeiro autor e do autor para correspondência.

3.3. RESULTADOS

Aqui rastreamos a produção científica relativa a estudos acerca dos danos citotóxicos e genotóxicos causados por fungicidas em artigos indexados nas três bases de dados (Web of Science, Scopus e Scielo), considerando o período mais remoto até o final de 2018. A investigação resultou em um total de 570 artigos sobre fungicidas de ação citotóxica e 428 artigos com enfoque em genotoxicidade. Os artigos que se repetiam nas bases de dados foram retirados, para que não houvesse sobreposição de dados, e assim, 187 artigos sobre citotoxicidade de fungicidas e 117 que abordavam os

aspectos genotóxicos foram selecionados para prosseguir as análises. Uma avaliação temporal do número de artigos (Fig. 3) mostra um aumento nas publicações sobre ação citotóxica de fungicidas nos últimos 44 anos ($r = 0,83$, $p < 0,0001$; publicações de 1974-2018), bem como evidencia um número crescente de artigos investigando genotoxicidade ao longo dos últimos 30 anos ($r = 0,76$; $p < 0,0001$; publicações de 1988-2018).

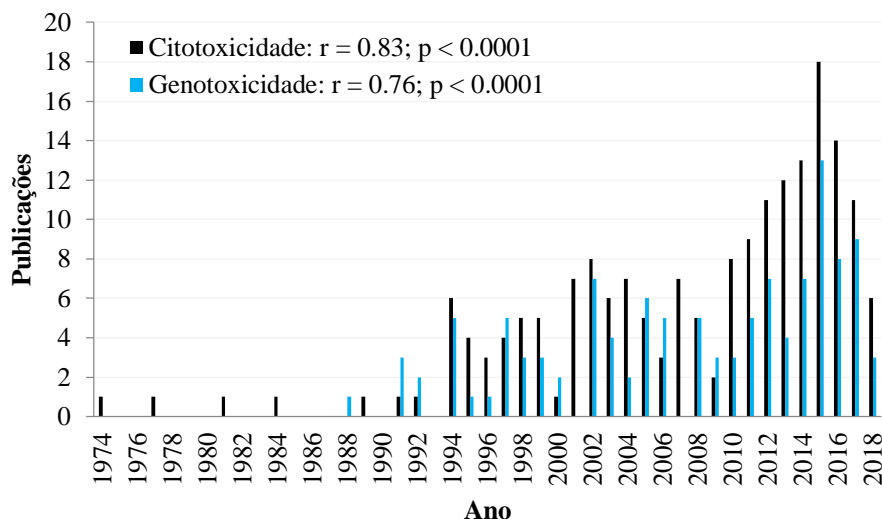


Fig. 3 - Variação do número de publicações sobre citotoxicidade e genotoxicidade de fungicidas, entre 1974 e 2018.

A produção científica foi desenvolvida por autores de aproximadamente 36 nacionalidades em trabalhos sobre citotoxicidade e 44 sobre genotoxicidade (Fig.4). Em geral, países mais desenvolvidos lideraram o ranking em colaboração científica para danos citotóxicos, como, Estados Unidos (17,68% dos trabalhos, $n = 32$), Itália (11,05%; $n = 20$), Turquia (8,84%; $n = 16$), França (6,63%; $n = 16$) e China (5,52%; $n = 10$). Já os estudos envolvendo danos genotóxicos, as pesquisas foram conduzidas principalmente pela Turquia (14,91%; $n = 17$), Itália (13,16%; $n = 15$), Índia (8,77%; $n = 10$) e França (7,89%; $n = 9$).

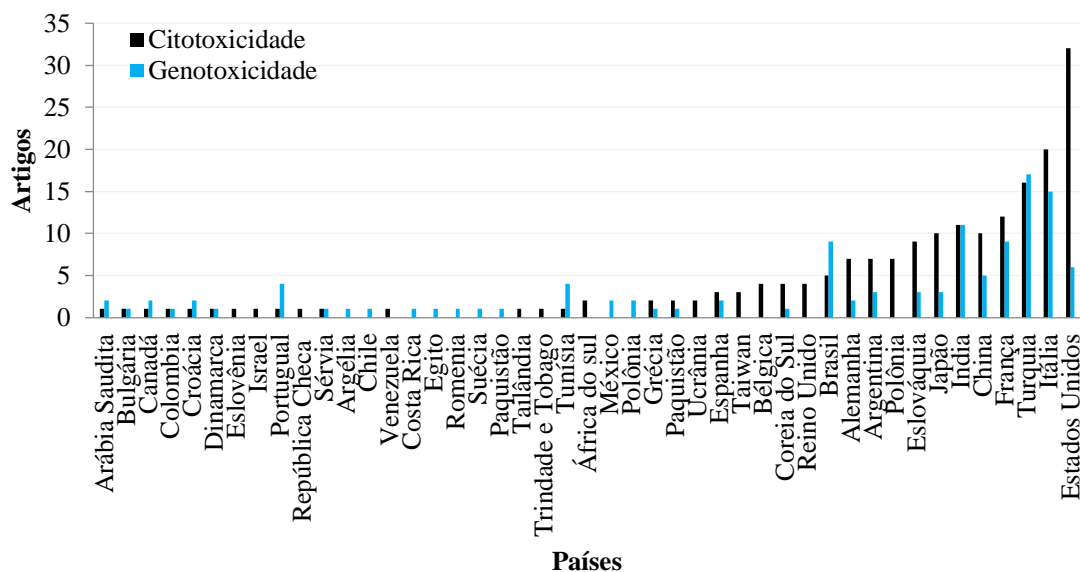


Fig. 4 - Produção científica para efeito citotóxico e genotóxico de fungicidas publicados entre 1974 e 2018 em diferentes países.

Uma série de fungicidas foram testados para ações citotóxica (total de 113) e genotóxicas (total de 111). Esses contaminantes foram classificados para duas origens (de produção), sintéticos (88% de ação citotóxica e 99% genotóxica) e naturais (12% citotóxica e 1% de ação genotóxica; Fig. 5). Selecionamos 9 dos fungicidas sintéticos mais estudados para ação citotóxica e genotóxica (Tabela 1), pois os demais fungicidas tiveram uma frequência menor no número de citações, Mancozeb[®] foi o líder nas pesquisas (16%).

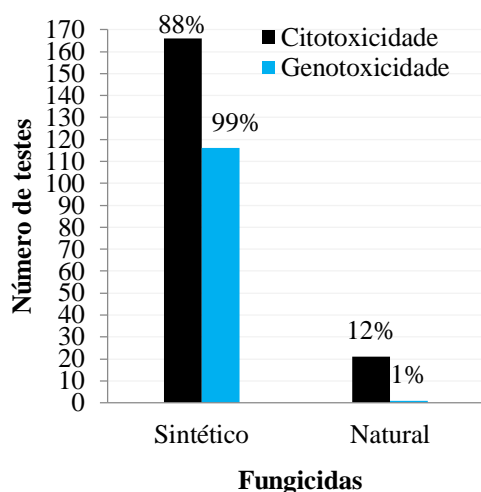


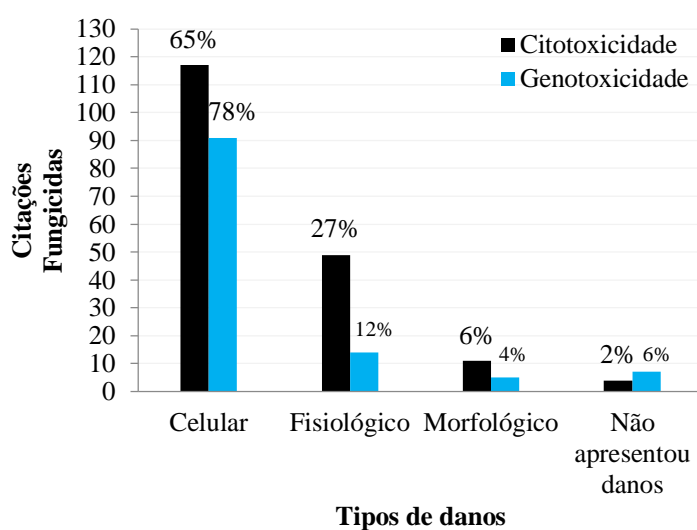
Fig. 5 - Origem (natural ou sintética) dos ingredientes ativos de fungicidas citados como causadores de danos genotóxico e citotóxico.

Tabela 1. Fungicidas sintéticos mais estudados.

Citotóxico		Genotóxico	
Fungicida	N (%)	Fungicida	N (%)
Mancozeb [®]	14 (16)	Carbendazim [®]	13 (18)
Benomyl [®]	10 (11)	Thiram [®]	11 (15)
Captan [®]	11 (13)	Mancozeb [®]	9 (13)
Carbendazim [®]	10 (11)	Captan [®]	8 (10)
Thiram [®]	10 (11)	Benomyl [®]	7 (10)
Zineb [®]	11 (13)	Fenarimol [®]	7 (10)
Maneb [®]	8 (9)	Maneb [®]	6 (8)
Tebuconazol [®]	7 (8)	Clorotalonil [®]	5 (7)
Folpet [®]	6 (7)	Imazalil [®]	5 (7)

N= número de citações; % = porcentagem

Diferentes tipos de danos foram observados para uso de fungicida (Fig. 6), grande partes são danos celulares (65% de ação citotóxica e 78% genotóxica), os demais são danos fisiológicos (27% citotóxica e 12% de ação genotóxica) e morfológicos (6% de ação citotóxica e 4% genotóxica), e uma pequena quantidade não apresentou danos (2% citotóxica e 6% de ação genotóxica).

**Fig. 6** - Variação nos tipos de danos para ação citotóxica e genotóxica de fungicidas.

Vários foram os grupos de organismos utilizados para observação dos efeitos genotóxicos e citotóxicos de fungicidas (Tabela 2). Dentre os grupos estudados, os humanos e mamíferos foram os mais utilizados tanto para estudos de genotoxicidade (58,4%) quanto para citotoxicidade (71%).

Tabela 2. Grupos de organismos utilizados para observação da ação genotóxico e citotóxico de fungicidas.

Grupos taxonômicos	Genotoxicidade	Grupos taxonômicos	Citotoxicidade
	Citações (%)		Citações (%)
Humanos e outros mamíferos	74 (58,40)	Humanos e outros mamíferos	155 (71,09)
Plantas	19 (14,40)	Plantas	20 (9,00)
Peixes	9 (6,40)	Fungos	16 (7,58)
Insetos	6 (4,80)	Bactérias	10 (4,74)
Moluscos	5 (4,00)	Peixes	4 (1,90)
Bactérias	4 (3,20)	Aves	3 (1,42)
Fungos	3 (2,40)	Insetos	3 (1,42)
Crustáceo	2 (1,60)	Moluscos	2 (0,95)
Anelídeo	2 (1,60)	Algas	2 (0,95)
Algas	1 (0,80)	Protozoários	2 (0,95)
Répteis	1 (0,80)		
Anfíbios	1 (0,80)		
Vermes marinhos	1 (0,80)		

% Frequência de citações

O segundo grupo de organismo mais observado foram as plantas (14%) para genotoxicidade e (9%) para citotoxicidade. Um outro grupo que vem sendo muito estudado são os peixes, principalmente nos estudos de genotoxicidade (6,4 %),

3.4. DISCUSSÃO

O aumento nas publicações sobre ação citotóxica de fungicidas nos últimos 44 anos e sobre a ação genotóxica de fungicidas ao longo dos últimos 30 anos (Fig. 3) pode ser atribuído ao crescente consumo de pesticidas sintéticos na agricultura, visto que nos últimos 50 anos, a população humana mais do que dobrou de tamanho e com isso a produção agrícola global também aumentou (Köhler; Triebkom, 2013). Nesse sentido, paralelamente ao aumento da produção agrícola, surgiram os trabalhos científicos tanto no sentido de ampliar o desenvolvimento de novos fungicidas, quanto para gerar indicadores de impactos dos produtos existentes. Assim, pode-se inferir que há uma preocupação quanto aos danos ambientais e à saúde humana, decorrente do uso de fungicidas sintéticos nas culturas, de forma a disponibilizar novos produtos eficientes para o controle dos patógenos que sejam menos impactantes a organismos não alvos.

Avanço et al. (2017) afirmam que apesar da eficácia dos produtos sintéticos para o controle de alimentos que sofrem deterioração por fungos, um número significativo destes compostos tem alta toxicidade ambiental e levam ao desenvolvimento de resistência microbiana, aumentando a necessidade de formulações mais seguras com atividade antifúngica.

Poucos são os estudos publicados com fungicidas naturais, sendo que os maiores números de estudos são com pesticidas sintéticos (Fig. 5), e parte dos danos citotóxicos e genotóxicos são atribuídos a este tipo de fungicida. Alguns estudos demonstraram a eficácia de fungicidas naturais como o extrato aquoso de *Lespedeza bicolor* (Ullah, 2017), *Coptis chinensis* (Hou et al., 2010) e própolis (Quiroga et al., 2006), além de óleos essenciais como os de *Buddleja perfoliata* e *Pelargonium graveolens* (Juarez et al., 2016), *Protium colombianum* (Carvajal et al., 2016), *Melaleuca quinquenervia* e *Eucalyptus platyphylla* (Camara, 2010). No entanto, em função do pequeno número de estudos sobre os fungicidas naturais, o mercado de fungicidas sintéticos é amplo, limitando o desenvolvimento de produtos que possuem potencial para ser mais sustentáveis.

Embora os fungicidas tenham como objetivo principal o controle de fungos fitopatogênicos, vários efeitos podem ser observados após sua aplicação, sobre outros organismos, além de alterações, tanto no metabolismo quanto na fisiologia das plantas (Ghini, 1993). Vários foram os grupos de organismos utilizados para observação dos

efeitos genotóxicos e citotóxicos de fungicidas (Tabela 2). Dentre os grupos estudados, os humanos e outros mamíferos foram os mais utilizados tanto para estudos de genotoxicidade (58,4%) quanto para citotoxicidade (71%). Nessa categoria estão os resultados de pesquisas realizadas junto aos trabalhadores rurais que fazem a aplicação do fungicida nas plantações e ficam, portanto, expostos ao agrotóxico, a exposição prolongada a esse tipo de químico pode causar alterações cromossômicas (Rapisarda et al., 2017), danos no DNA e aberrações cromossômicas e formação de micronúcleo (Srivastava et al., 2016). Também foram observados danos no DNA e morte em células bucais de trabalhadores agrícolas expostos ao fungicida Carbendazim®, aplicado em uma plantação de soja (Benedetti, 2013)

O segundo grupo de organismos mais citado em estudos para genotoxicidade (14%) e para citotoxicidade (9%) foram as plantas. Dentre os resultados encontrados, destacam-se estudos em que raízes de *Allium cepa* tratadas com o fungicida Carbendazim® apresentaram anomalias cromossômicas (Verma; Srivastava, 2018). Já estudos relativos à espécie *Hordeum vulgare* L., exposta ao fungicida Propiconazol®, apresentaram redução significativa na porcentagem de germinação, altura das plântulas, índice mitótico alterado e aumento de aberrações cromossômicas (Dubey et al., 2015). Singh et al. (2008) constataram que o uso de Carbendazim® diminuiu o índice mitótico e induziu a aberrações cromossômicas, demonstrando efeitos mitodepressores, citotóxicos e genotóxicos desse fungicida em células da raiz de *Hordeum vulgare* L.

Um outro grupo que vem sendo muito estudado são os peixes, principalmente nos estudos de genotoxicidade (6,4 %). A exposição desses organismos ao fungicida Tebuconazol® provocou danos no DNA, induzindo a genotoxicidade e mutagenicidade bem como alterações nas funções neurológicas, que estão relacionadas à mudança no comportamento de peixes adultos peixe-zebra (Castro et al, 2018). Outros estudos demonstraram risco para peixes que habitam em sistemas aquáticos contaminados pelo fungicida Mancozan® e recomendam enfaticamente o desenvolvimento de políticas de biomonitoramento e regulamentação quanto à utilização deste agroquímico, pois o mesmo provocou danos cromossômicos significativos e alterações na integridade do DNA em peixes (Marques et al., 2016).

Alguns fungicidas favorecem danos que vão além dos efeitos genotóxicos e citotóxicos. Reduções significativas na porcentagem de germinação, e altura de plântulas em plantas tratadas com fungicidas (Dubey et al., 2015); aumento na

concentração de zinco e redução do volume celular em células vivas tratadas com o fungicida Ziram® (Kanemoto-Kataoka et al., 2017); redução da viabilidade celular, diminuição da proliferação celular e morte celular apoptótica também são exemplos de alterações causadas por fungicidas (Schwarzbacherova et al, 2017).

Também há relatos de que fungicidas promovem alterações nas funções neurológicas, que ocasionaram a mudança de comportamento em peixes (Castro et al., 2018). Esses tipos de danos são do tipo celular, fisiológico ou morfológico. Assim como apresentado na figura 6, um maior número de danos celulares foi observado, como o estudo tem por objetivo analisar a ação citotóxica e genotóxica de fungicidas é esperado que os artigos avaliados apresentem mais danos celulares como alterações no DNA e toxicidade a nível celular, do que danos do tipo fisiológico ou morfológico (Oliveira, 2009).

Um quantitativo de 13 artigos incluiu tanto a ação citotóxica quanto a ação genotóxica dos fungicidas analisados, avaliaram células de humanos e outros mamíferos (Drazovska et al., 2016; Sivikova et al., 2011; Celik et al., 2005; Poli et al., 2003; Özkara et al., 2015; Çayirv et al., 2014; Yüzbaşıoğlu et al., 2006; Aydemir; Bilaloğlu 2004; Vigreux 1998; Vijayaraghavan; Nagarajan 1994) e plantas (Andrioli et al, 2012; Poli et al., 2003; Özkara et al., 2015).

Os dados mostrados na Tabela 1 indicam que Mancozeb® foi um dos fungicidas mais citados para estudo de citotoxicidade. Esse químico pertence ao grupo dos Etileno-bis-ditiocarbamatos (EBDC), amplamente utilizado desde 1967 para proteger as culturas de campo, frutas, hortaliças, plantas ornamentais e vegetais contra diferentes doenças fúngicas (Pavlovic et al., 2015; Georgieva et al, 2011). Esse fungicida esteve entre os mais vendidos no Brasil no ano de 2016, juntamente com o Carbendazim® (Vasconcelos, 2018). Esse fungicida também foi o terceiro mais reportado para estudos com dano genotóxico (13%).

Devido a sua baixa toxicidade aguda em humanos e persistência ambiental curta, este fungicida é utilizado globalmente. No entanto, os EBDCs são muito instáveis e rapidamente degradados em etileno-tiourea (ETU), que possui longa persistência no solo ou pode ser decomposto em água, formando produtos com alto potencial toxicológico; afetando humanos e a população em geral por meio de resíduos presentes nos alimentos (Pavlovic et al., 2015).

A exposição ao Mancozeb® pode ter atividade citotóxica e apoptótica em células humanas (Turnaturiet al., 2015) e células epiteliais alveolares (Chenet al, 2010). Bioensaios utilizando células tratadas com Mancozeb® mostram um aumento de células hipodiplóides (não-disjunção e o atraso anafásico durante as divisões celulares mitóticas), e produção de oxigênio reativo intracelular seguido por uma diminuição das células e dos níveis de potencial de membrana mitocondrial e ATP, aumentando as taxas de apoptose (Pavlovicet al, 2015). Também demonstram diminuição na viabilidade celular (Hoffman; Hardej, 2012) e efeito carcinogênico (Safi, 2002).

Para estudos da genotoxicidade, Carbendazim® ou carbamato de metil-2-benzimidazole foi o fungicida mais citado (Tabela 1). Ele é amplamente utilizado em práticas agrícolas como produto fitofarmacêutico e em determinadas concentrações pode atingir águas superficiais. O Carbendazim® apesar de ter uso permitido no Brasil, não é autorizado nos Estados Unidos e enfrenta restrições na Europa. Esse fungicida é aplicado em muitas culturas diferentes e em momentos diferentes da estação do ano sendo persistente a coluna de água. Portanto, no ambiente aquático, organismos não-alvo podem ser expostos a longo prazo a este pesticida. Estudos demonstraram que este fungicida afeta negativamente as espécies de zooplâncton de água doce, reduzindo sua atividade alimentar, sua mobilidade e desenvolvimento embrionário durante o processo de divisão celular (Silva et al., 2017). Em outro caso, o referido fungicida causou danos no DNA de minhocas presente em solo contaminado por esse pesticida (Huanet al., 2016).

Entre os países que fazem uso dos fungicidas os Estados Unidos lideram o ranking de pesquisas científicas para danos citotóxicos de fungicidas (Fig. 4), é um dos maiores consumidores de pesticidas do mundo, provavelmente por ser um grande consumidor de pesticidas esse país se preocupa em estudos acerca dos efeitos toxicológicos desses pesticidas. Os Estados Unidos iniciaram, na década de 1950, a utilização em massa de agrotóxicos na agricultura, chamada 'Revolução Verde', que teria o intuito de modernizar a agricultura e aumentar sua produtividade, e até hoje vem tendo sucesso no número de produção (Lopes; Albuquerque 2018).

A Turquia, segundo país mais representativo como protagonista das publicações científicas, lidera a agricultura na Europa e ocupa posição de quarto produtor do mundo de legumes e frutas (Turnky, 2019). A Itália ocupa a terceira posição no ranking de publicações acerca dos danos causados por fungicidas, 40% da

economia do país vem da agricultura (ITA, 2019). E analisando a América Latina; o Brasil tem sua agricultura avançada a cada ano e atualmente é um dos principais produtores agrícolas do mundo; na última década, o país expandiu o mercado de agrotóxicos, o que o colocou em primeiro lugar no ranking mundial de consumo desde 2008 (Lopes; Albuquerque 2018).

Dados acerca dos efeitos citotóxicos e genotóxicos foram observados principalmente para os países mais desenvolvidos, talvez em razão dos aspectos mais avançados em ciência e tecnologias que o país possui quando comparado aos países menos desenvolvidos. (Sulaj et al., 2015). Em contrapartida, países menos desenvolvidos ainda são carentes em pesquisas com essas abordagens, o que aumenta o risco para a saúde humana e ambiental, considerando que 99% dos casos de intoxicações humanas a pesticidas ocorrem em países em desenvolvimento (Sulaj et al., 2015).

No Brasil os estudos sobre ecotoxicologia de fungicidas ainda são insipientes quando comparados aos estudos desenvolvidos em outros países, foram encontrados cinco pesquisas para citotoxicidade de fungidas sendo duas no estado do Rio Grande do Sul (Morais et al., 2017; Wandscheer et al, 2017), duas no estado de São Paulo (Campos et al., 2015; Rodrigues & D'Angelo, 1994) e uma no estado do Recife (Patriota et al., 2016) e oito para genotoxicidade sendo três no estado do Rio Grande do Sul (Goldoni et al, 2014), (Benedetti et al, 2013), (Goldoni & Silva, 2012), dois no estado de Brasília (Grisolia, 2002; Grisolia & Bicalho-Valadares, 1997), um no estado do Espírito Santo (Bernardes, et al. 2015) e dois no estado de São Paulo (Castro et al., 2005; Colombo-Corbi et al, 2017). O Brasil necessita de mais estudos na área de ecotoxicologia de fungicidas e também de mais investimento financeiros por parte do governo, visto que, o país tem grande potencial agrícola e faz uso de vários pesticidas.

Tendo em vista os impactos principalmente a nível celular, em organismos não-alvo atribuído aos fungicidas sintéticos, estudos voltados para aqueles naturais são fortemente encorajados como alternativas sustentáveis e segurança alimentar. E por meio de nossos resultados somam-se aos esforços de conservação da biodiversidade através do direcionamento de pesquisas futuras para identificação e aspectos da utilização de produtos menos danosos ao ambiente.

3.5. CONSIDERAÇÕES FINAIS

Observou-se um aumento nas pesquisas que englobam os efeitos citotóxicos e genotóxicos de fungicidas em diversos organismos ao longo dos últimos 44 anos. Esse crescimento pode ser atribuído ao aumento da produção agrícola e também à preocupação quanto aos danos ambientais. Tendo em vista os impactos principalmente a nível celular, morfológico e fisiológicos em organismos não-alvo atribuído aos produtos sintéticos, estudos voltados para aqueles naturais são fortemente encorajados como alternativas sustentáveis e segurança alimentar. Os mamíferos ainda continuam sendo os principais organismos testes em estudos toxicológicos, no sentido de ampliar o dano para o ser humano e outros organismos. Todavia, o uso de organismos selvagem, pode ser preditivo para expandir o conhecimento da realidade desses produtos na natureza. Finalmente, nossos resultados somam-se aos esforços de conservação da biodiversidade por meio do direcionamento de pesquisas futuras para identificação e aspectos da utilização de produtos menos danosos ao ambiente.

3.6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AKYIL, D; OZKARA, A; ERDOGMUS, S.F.; EREN, Y; KONUK, M; SAGLAM, E. Evaluation of cytotoxic and genotoxic effects of Benodanil by using *Allium* and Micronucleus assays. **Drug and Chemical Toxicology**, v. 39, n. 1, p. 35-40, 2016.

ANDRIOLI, NB; SOLONESKI, S; LARRAMENDY, ML; MUDRY, MD. Cytogenetic and microtubule array effects of the zineb-containing commercial fungicide formulation Azzurro (R) on meristematic root cells of *Allium cepa* L. **Mutation Research-Genetic Toxicology and Environmental Mutagenesis**, v. 742, p. 48-53, 2012.

AVANÇO, G. B. et al. Curcuma longa L. essential oil composition, antioxidant effect, and effect on *Fusarium verticillioides* and fumonisin production. **Food Control**, v.73, p. 806-813, 2017.

AYDEMIR, N., BILALOĞLU, R. The investigation of the genotoxic effects of fenarimol and propamocarb in mouse bone marrow in vivo. **Toxicology Letters**, v. 147, p. 73-8, 2004.

BAYRAM, S. GENÇ, A.; BUYUKLEYLA, M.; RENCUZOGULLARI, E. Genotoxicity and cytotoxicity of copper oxochloride in cultured human lymphocytes using cytogenetic and molecular tests. **Cytotechnology**, v. 68, p. 2027–2036, 2016.

BENEDETTI, D.; NUNES, E.; SARMENTO, M.; PORTO, C.; DOS SANTOS, CEI; DIAS, JF; DA SILVA, J. Genetic damage in soybean workers exposed to pesticides: Evaluation with the comet and buccal micronucleus cytome assays. **Mutation Research-Genetic Toxicology and Environmental Mutagenesis**, v. 752, p. 28-33, 2013.

BERNARDES, P. M.; ANDRADE-VIEIRA, L. F.; ARAGÃO, F. B.; FERREIRA, A.; FERREIRA, M. F. S. Toxicity of Difenconazole and Tebuconazole in *Allium cepa*. **Water, Air, & Soil Pollution**, v. 207, p. 226, 2015.

BONILLA, J. J. A.; GUERRERO, D. J. P.; SÁEZ, R. G. T.; ISHIDA, K.; FONSECA, B.B.; ROZENTAL, S.; LÓPEZ, C.C.O. Green synthesis of silver nanoparticles using maltose and cysteine and their effect on cell wall envelope shapes and microbial growth of *Candida* spp. **Journal of Nanoscience and Nanotechnology**, v. 17, p.1729–1739, 2017.

CAMARA, B.; DICK, E., SAKO, A, KONE, D., KANKO, C., BOYE, M.-A.-D., AKE, S., ANNO, A. Biological fight against *Deightoniella torulosa* (Syd.) Ellis, a fungus of banana leaves by application of *Eucalyptus platyphylla* F. Muell. and *Melaleuca quinquenervia* L. essential oils. **Phytotherapie**, v. 8, p. 240- 244, 2010.

CAMPOS, E.V.R., OLIVEIRA, J. L., SILVA, C. M. G., PASCOLI, M., PASQUOTO, T., LIMA, R., ABHILASH, P. C., FRACETO L. F. Polymeric and solid lipid nanoparticles for sustained release of carbendazim and tebuconazole in agricultural applications. **Scientific Reports**, v. 5, p.1-14, 2015.

ÇAYIR, A., COSKUN, M., COSKUN, M. Micronuclei, nucleoplasmic bridges, and nuclear buds induced in human lymphocytes by the fungicide signum and its active ingredients (Boscalid and Pyraclostrobin). **Environmental Toxicology**, v. 29, p. 723-32, 2014.

CAYIR, A; COSKUN, M; COSKUN, M. Genotoxicity of commercial fungicide Cabrio Plus on human cell. **Cytotechnology**, v. 68, p. 1697–1704, 2016.

CARVAJAL, D; ALVAREZ, R; OSORIO, E. Chemical variability of essential oils of *Protium colombianum* from two tropical life zones and their in vitro activity against isolates of *Fusarium*. **Journal of Pest Science**, ,v. 89, p. 241 -248, 2016.

CASTRO, T.F.D; SOUZA, J. G. D; DE CARVALHO, A. F. S; ASSIS, I. D; PALMIERI, M. J; VIEIRA, L. F. A; MARCUSSI, S; MACHADO, M. R. F; MURGAS, L. D. S. Anxiety-associated behavior and genotoxicity found in adult Danio rerio exposed to tebuconazole-based commercial product. **Environmental Toxicology and Pharmacology**, v. 62, p. 140 -146, 2018.

CASTRO, V. L.S.S, MELLO, M. A. , POLI, P., ZUCCHI, T. M.A.D. Prenatal and perinatal fenarimol-induced genotoxicity in leukocytes of in vivo treated rats. **Mutation Research/Genetic Toxicology and Environmental Mutagenesis**, v. 583, p. 95-104, 2005.

CELIK, M; UNAL, F; YUZBASIOGLU, D; ERGUN, MA; ARSLAN, O; KASAP, R. In vitro effect of Karathane LC (Dinocap) on human lymphocytes. **Mutagenesis**, v. 20, p. 101-4, 2005.

CHAUHAN, N; DILBAGHI, N; GOPAL, M; KUMAR; R, KIM, K; KUMAR, S. Development of chitosan nanocapsules for the controlled release of hexaconazole. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 97, p. 616–624, 2017.

CHEN, Y.W.; CHEN, K.L.; CHEN, C.H.; WU, H.C.; SU, C.C.; WU, C.C.; WAY, T.D.; HUNG, D.Z.; YEN, C.C.; YANG, Y.T.; LU, T.H. Pyrrolidine dithiocarbamate

(PDTC)/Cu complex induces lung epithelial cell apoptosis through mitochondria and ER-stress pathways. **Toxicology Letters**, v. 199, p. 333-40, 2010.

COLOMBO-CORBI, V.; GORNI, G.R.; SANZOVO-FALCOSKI, T.; COSTA, P.I.; CORBI, J.J. Genetic Diversity Loss in *Chironomus sancticarloi* (Diptera: Chironomidae) Exposed to Pyrimethanil Fungicide: an Analysis Using RAPD Technique. **Water, Air and Soil Pollution**, p.228-399, 2017.

GRISOLIA CK. A comparison between mouse and fish micronucleus test using cyclophosphamide, mitomycin C and various pesticides. **Mutation Research**, v. 518, p. 145-50, 2002.

GRISOLIA CK., BICALHO-VALADARES, ME. Toxicity and genotoxicity of the fungicide triphenyltin hydroxide. **Brazilian Journal of Genetics**, v. 20, n.2, p.243-246, 1997.

DAMALAS C. A, ELEFTHEROHORINOS I.G. Pesticide exposure, safety issues, and risk assessment indicators. **International Journal of Environmental Research and Public Health**. v. 8, p. 1402-1419, 2011.

DRAŽOVSKÁ, M; ŠIVIKOVÁ, K; HOLEČKOVÁ, B; DIANOVSKÝ, J; GALDÍKOVÁ, M; SCHWARZBACHEROVÁ, V. Evaluation of potential genotoxic/cytotoxic effects induced by epoxiconazole and fenpropimorph-based fungicide in bovine lymphocytes in vitro. **Journal of Environmental Science and Health**, v. 51, p. 769-776, 2016.

DUBEY, P; MISHRA, A. K; SHUKLA, P; SINGH, A.K. Differential sensitivity of barley (*Hordeum vulgare* L.) to chlorpyrifos and propiconazole: Morphology, cytogenetic assay and photosynthetic pigments. **Pesticide Biochemistry and Physiology**, v.124 p.29-36, 2015.

ERDTMANN, João Antonio Pêgas Henriques. Org. Juliana da Silva, Bernardo. **Genética Toxicológica**. Porto Alegre: Alcance, 424p, 2003.

GEORGIEVA, A.; KRIL, A.; IVANOV, I. Cytotoxicity of the Fungicide Mancozeb in Vitro. **Medecine: Pharmacologie et Toxicologie**, v. 64, n. 7, p.1067-1072, 2011.

GHINI, RAQUEL. Efeito de fungicidas sobre microrganismos não alvo. **Sununa Phylopalhologica**, v. 19, p. 62 -63, 1993.

GOLDONI, A.; KLAUCK, C. R.; DA SILVA, S. T.; DA SILVA, M. D.; ARDENGHI, P. G.; DA SILVA, L. B. DNA damage in Wistar rats exposed to dithiocarbamate pesticide mancozeb. **Folia Biologica (Praha)**, v. 60, n. 4, p.202-4, 2014.

GOLDONI A, SILVA, L. B. Mutagenic potential of the fungicide Mancozeb in *Astyanax Jacuhiensis* (Teleostei: Characidae). **Bioscience Journal. (Online)**, v. 28, n. 2, p.297-301, 2012.

HOFFMAN, L; HARDEJ, D. Ethylene bisdithiocarbamate pesticides cause cytotoxicity in transformed and normal human colon cells, **Environmental Toxicology and Pharmacology**, v. 34, p. 556-573, 2012.

HOU, D. Y; YAN, C. Q; LIU, H. X; GE, X. Z; XU, W. J; TIAN, P. F. Berberine as a natural compound inhibits the development of brown rot fungus *Monilinia fructicola*. **Crop Protection**, v.29, p. 979- 984, 2010.

HUAN, Z., LUO, J., XU, Z., XIE, D. Acute Toxicity and Genotoxicity of Carbendazim, Main Impurities and Metabolite to Earthworms (*Eisenia foetida*). **Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology**, v. 96, p. 62-9, 2016.

ITA. **Itália no contexto europeu**. Italian Trade Agency. Disponível em:<www.ice-sanpaolo.com.br>. Acesso em: 27 jul. 2019.

JUAREZ, Z.N.; BACH, H; SANCHEZ-ARREOLA, E.; BACH, H.; HERNANDEZ, L.R. Protective antifungal activity of essential oils extracted from *Buddleja perfoliata* and *Pelargonium graveolens* against fungi isolated from stored grains. **Journal of Applied Microbiology**, v. 120, p. 1264-1270, 2016.

KANEMOTO-KATAOKA, Y; OYAMA, T. M; ISHIBASHI, H.; OYAMA, Y. Zinc is a determinant of the cytotoxicity of Ziram, a dithiocarbamate fungicide, in rat thymic lymphocytes: possible environmental risks. **Toxicology Research**, v. 6, n. 4, p. 499-504, 2017.

KÖHLER, H. R.; TRIEBSKORN R. Wildlife ecotoxicology of pesticides: can we track effects to the population level and beyond? **Science**, v. 341, p. 759-65, 2013.

LONE, M. I, NABI, A.; DAR, N. J.; HUSSAIN, A.; NAZAM, N.; HAMID, A.; AHMAD, W. Toxicogenetic evaluation of dichlorophene in peripheral blood and in the cells of the immune system using molecular and flow cytometric approaches. **Chemosphere**, v. 167, p. 520-529, 2017.

LOPES, C.V.A; ALBUQUERQUE, G. S. C. Agrotóxicos e seus impactos na saúde humana e ambiental: uma revisão sistemática. **Saúde Debate**. v. 42, n. 117, p.518 – 534, 2018.

LOURENZANI, W. L. **Base de dados**. Disponível em: <<http://www.tupa.unesp.br/Home/Biblioteca/base-de-dados-prof.-wagner.pdf>>. Acesso em: 24 mar. 2018.

MARTINEZ, R. S.; DI MARZIO, W.D.; SAENZ, M. Genotoxic effects of commercial formulations of Chlorpyrifos and Tebuconazole on green algae. **Ecotoxicology**, v. 24, n. 1, p. 45-54, 2015.

MARQUES, A; REGO, A; GUILHERME, S; GAIVAO, I; SANTOS, M. A; PACHECO, M. Evidences of DNA and chromosomal damage induced by the mancozeb-based fungicide Mancozan (R) in fish (*Anguilla anguilla* L.). **Pesticide Biochemistry and Physiology**, v. 133, p. 52 -58, 2016.

MCGRATH, M.T. **What are Fungicides**, The Plant Health Instructor, Trans. Piérri Spolti, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, 2012. Disponível em: <<https://www.apsnet.org/edcenter/intropp/topics/Pages/fungicidesPort.aspx>>. Acesso em: 24 mar. 2018.

MORAIS, C.B.; SCOPEL, M.; PEDRAZZA, G.P.R.; SILVA, F.K.; DALLA LANA, D.F.; TONELLO, M.L.; MIOTTO, S.T.S.; MACHADO, M.M.; OLIVEIRA, L.F.S.; FUENTEFRIA, A.M.; ZUANAZZI, J.A.S. Anti-dermatophyte activity of Leguminosae plants from Southern Brazil with emphasis on *Mimosa pigra* (Leguminosae). **Journal de Mycologie Médicale**, v. 27, p. 530-538, 2017.

OLIVEIRA, Milton Paulo de. **Análise in vitro da citotoxicidade e proliferação celular em equivalentes de pele humana**. 2009. 71 f. Dissertação (Mestrado em Medicina e Ciências da Saúde) apresentada a Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2009.

ÖZKARA, A., AKYIL, D., EREN, Y., ERDOTMUŞ, S.F., KONUK, M., SATLAM, E. Assessment of cytotoxic and genotoxic potential of pyracarbolid by Allium test and micronucleus assay. **Drug and Chemical Toxicology**, v. 38, p. 337-41, 2015.

PATRIOTA, L.L.S.; PROCOPIO, T.F.; DE SOUZA, M.D.; DE OLIVEIRA, A.P.S.; CARVALHO, L.V.N.; PITTA, M.G.R.; REGO, M.J.B.M.; PAIVA, P.M.G.; PONTUAL, E.V.; NAPOLEAO, T.H.A Trypsin Inhibitor from *Tecoma stans* Leaves Inhibits Growth and Promotes ATP Depletion and Lipid Peroxidation in *Candida albicans* and *Candida krusei*. **Frontier in Microbiology**, v. 7, n. 611, 2016.

PAVLOVIC, A. V.; CEKIC, A. S., CIRIC, A. M.; KRTINIC, B. D.; JOVANOVIC, J. Curcumin attenuates Mancozeb-induced toxicity in rat thymocytes through mitochondrial survival pathway. **Food and Chemical Toxicology**, v. 88, p. 105 – 111, 2016.

PAVLOVIC, V; CEKIC, S.; KAMENOV, B.; CIRIC, M.; KRTINIC., D. The Effect of Ascorbic Acid on Mancozeb-Induced Toxicity in Rat Thymocytes. **Folia Biologica (Praha)**, v. 61, p. 116-123, 2015.

PIERRARD, M.A.; KESTEMONT, P.; DELAIVE, E.; DIEU, M.; RAES, M.; SILVESTRE, F. Malachite green toxicity assessed on Asian catfish primary cultures of

peripheral blood mononuclear cells by a proteomic analysis. **Aquatic Toxicology**, v. 114, p. 142-152, 2012.

POLI, P; DE MELLO, MA; BUSCHINI, A; DE CASTRO, VLSS; RESTIVO, FM; ROSSI, C; ZUCCHI, TMAD. Evaluation of the genotoxicity induced by the fungicide fenarimol in mammalian and plant cells by use of the single-cell gel electrophoresis assay. **Mutation Research-Genetic Toxicology and Environmental Mutagenesis**, v. 540, p. 57-66, 2003.

QUIROGA, E.N.; SAMPIETRO, D. A.; SOBERÓN, J. R.; SGARIGLIA, M. A.; VATTUONE, M. A. Propolis from the northwest of Argentina as a source of antifungal principles. **Journal of Applied Microbiology.**, v. 1, p. 103 – 110, 2006.

RADKO, L; CYBULSKIA, W; RZESKIB, W. The protective effects of silybin on the cytotoxicity of thiram in human, rat and chicken cell cultures. **Pesticide Biochemistry and Physiology**, v. 143, p.154-160, 2017.

RAPISARDA, V.; LEDDA, C.; MATERA, S.; FAGO, L.; ARRABITO, G.; FALZONE, L.; MARCONI, A.; LIBRA, M.; LORETO, C. Absence of t(14;18) chromosome translocation in agricultural workers after short-term exposure to pesticides. **Molecular Medicine Reports**, v. 15, p. 3379-3382, 2017.

RODRIGUES M. A., D'ANGELO M. Cytotoxicity of captafol in mammalian cells. **Biomedical and Environmental Sciences**, v. 7, p. 278-83, 1994.

SAFI, JM. Association between chronic exposure to pesticides and recorded cases of human malignancy in Gaza Governorates (1990-1999). **Science of the Total Environment**, v. 284, p. 75-84, 2002.

SANTANA, V. S; MOURA, M. C. P; NOGUEIRA, F. F. Mortalidade por intoxicação ocupacional relacionada a agrotóxicos, 2000-2009, Brasil. **Revista de Saúde Pública (online)**, v. 47, n.3, p. 598-606, 2013.

SILVA, A. N.; CARDOSO, D. N.; CRUZ, A.; PESTANA, J.L. T.; MENDO, S.; SOARES, A. M. V. M.; LOUREIRO, S. Multigenerational effects of Carbendazim in *Daphnia magna*. **Environmental Toxicology and Chemistry**, v. 36, p. 383-394, 2017.

SINGH, P.; SRIVASTAVA, A.K.; SINGH, A.K. Cell cycle stage specific application of cypermethrin and carbendazim to assess the genotoxicity in somatic cells of *Hordeum vulgare* L. **Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology**, v. 81, p. 258-61, 2008.

SIVIKOVÁ, K; DIANOVSKY, J; HOLECKOVÁ, B. Induction of SCEs and DNA fragmentation in bovine peripheral lymphocytes by in vitro exposure to tolylfluand-based fungicide. **Genetics and Molecular Biology**, v. 34, p. 110-5, 2011.

SONMEZ, S; KAPLAN, M; SONMEZ, N.K; KAYA, H; UZ, I. High level of copper application to soil and leaves reduce the growth and yield of tomato plants. **Scientia Agricola**, v.63, n.3, p.213-218, 2006.

SULAJ Z, DRISHTI A, ÇEKO I, GASHI A, VYSHKA G. Fatal aluminum phosphide poisonings in Tirana (Albania), 2009–2013. **DARU Journal of Pharmaceutical Sciences**, v.23, p.1-8, 2015.

SCHWARZBACHEROVÁ, V; WNUK, M; LEWINSKA, A; POTOCKI, L; ZEBROWSKI, J; KOZIOROWSKI, M; HOLECKOVÁ, B; SIVIKOVÁ, K; DIANOVSKÝ; J. Evaluation of cytotoxic and genotoxic activity of fungicide formulation Tango® Super in bovine lymphocytes. **Environmental Pollution**, v. 220, p.255-263, 2017.

SRIVASTAVA, A. K; MISHRA, S; ALI, W; SHUKLA, Y. Protective effects of lupeol against mancozeb-induced genotoxicity in cultured human lymphocytes. **Phytomedicine**, v. 23, n. 7, p. 714- 24, 2016.

TURNATURI, R.; OLIVERI, V.; VIALE, M.; MONTICONE, M.; VECCHIO, G. Antiproliferative and Antioxidant Activity of Glycoconjugates of Dithiocarbamates and

Their Copper(II) and Zinc(II) Complexes. **ChemPlusChem**, v. 80, n. 12, p. 1786-1792, 2015.

TURNKY. **Turnkey 15 years**. Disponível em: <turnkey.com>. Acesso em: 27 ago. 2019.

ULLAH, SAMI. Methanolic extract from Lespedeza bicolor: potential candidates for natural antioxidant and anticancer agente. **Journal of Traditional Chinese Medicine**, v.37, p. 444 – 451, 2017.

VASCONCELOS, Y. Pesticides in the balance. **Revista Pesquisa FAPESP**. ed. 271, 2018. Disponível em: <<https://revistapesquisa.fapesp.br/en/2019/02/25/pesticides-in-the-balance/>>. Acesso em: 24 out.2019.

VERMA, S; SRIVASTAVA, A. Cyto-genotoxic consequences of carbendazim treatment monitored by cytogenetical analysis using Allium root tip bioassay. **Environmental Monitoring and Assessment**, v.190, n. 4, p. 238, 2018.

VIGREUX, C., POUL, J.M., DESLANDES, E., LEBAILLY, P., GODARD, T., SICHEL, F., HENRY-AMAR, M., GAUDUCHON, P. DNA damaging effects of pesticides measured by the single cell gel electrophoresis assay (comet assay) and the chromosomal aberration test, in CHOK1 cells. **Mutation Research - Genetic Toxicology and Environmental Mutagenesis**, v. 419, p. 79-90, 1998.

VIJAYARAGHAVAN, M., NAGARAJAN, B. Mutagenic potential of acute exposure to organophosphorus and organohlorine compounds. **Mutation Research/Genetic Toxicology**, v. 321, p. 10-11, 1994.

WANDSCHEER, A C.D.; MARCHESAN, E; TEDESCO, S B.; FRESCURA, V.; SOARES, C. F; LONDERO, G. P.; TELÓ, G. M.; HANSEL, D.S.S. Cytogenotoxicity of rice crop water after application of the tricyclazole fungicide. **Anais da Academia Brasileira de Ciências**, v. 89, n. 2, p. 1251-1258, 2017.

YÜZBAŞIOĞLU, D., ÇELİK, M., YILMAZ, S., ÜNAL, F., AKSOY, H. Clastogenicity of the fungicide afugan in cultured human lymphocytes. **Mutation Research - Genetic Toxicology and Environmental Mutagenesis**, v. 604, p. 53-9, 2006.