

## Avaliação *in situ* da genotoxicidade de triazinas utilizando o bioensaio Trad-SHM de *Tradescantia* clone 4430

In situ genotoxicity evaluation of triazines using *Tradescantia* clone 4430 Trad-SHM bioassay

Carina Patussi<sup>1</sup>  
Márcia Bündchen<sup>2</sup>

**Abstract** *Tradescantia* 4430 clone stamen hair mutation (Trad-SHM) bioassay was used to evaluate the genotoxicity of a herbicide composed of triazines (atrazine and simazine) after in situ exposure. Thirty plant pots were exposed during the herbicide application (test group) and a control group was maintained in a greenhouse (control group). Genotoxicity was expressed in terms of pink mutation events (EMPs) and the data analysis was performed by Student's *t* test comparing the control and contaminated group after eight-days (C8D = 8-day control; T8D = 8-day test) and peak day (CPD = peak day control; TPD = peak day test). Exposure to the herbicide caused a significantly higher number of EMPs in the test group (T8D = 2.27; TPD = 4.69) than in the control group (C8D = 0.71; CPD = 0.62). This demonstrates that the Trad-SHM bioassay is sensitive and efficient and can be used as tool to assess the genotoxic potential of environmental contaminants like triazines associated with adverse effects on human health.

**Key words** Pesticides, Genotoxicity, Pink mutations, Environment, Human health

**Resumo** O bioensaio da mutação do pelo estaminal de *Tradescantia* clone 4430 (Trad-SHM) foi utilizado para avaliar a genotoxicidade de um herbicida composto por triazinas (atrazina e simazina) após exposição *in situ*. Trinta vasos da planta foram expostos durante a aplicação do herbicida (grupo teste) mantendo-se um grupo controle em casa de vegetação. A genotoxicidade foi expressa em termos de eventos mutantes pink (EMP) e a análise dos dados foi realizada por meio do teste *t* de Student em oito dias de avaliação (C8D = controle 8 dias; T8D = teste 8 dias) e no dia de pico (CPD = controle dia de pico; TPD = teste dia de pico). A exposição ao herbicida causou um número significativamente maior de EMP no grupo teste (T8D = 2,27; TPD = 4,69) do que no controle (C8D = 0,71; CPD = 0,62), demonstrando a existência de risco genotóxico associado ao uso das triazinas, sendo o bioensaio Trad-SHM uma eficiente ferramenta para avaliar o potencial genotóxico destes contaminantes ambientais causadores de efeitos adversos à saúde humana.

**Palavras-chave** Pesticidas, Genotoxicidade, Mutações Pink, Meio ambiente, Saúde humana

<sup>1</sup> Universidade do Oeste de Santa Catarina (UNOESC). Av. Getúlio Vargas 2125. Joaçaba 89600-000 SC. caripatussi@yahoo.com.br

<sup>2</sup> Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Rio Grande do Sul (IFRS), Campus Porto Alegre.

## Introdução

Existem mais de 600 tipos de agrotóxicos empregados na agricultura mundial<sup>1,2</sup> e, destes, os herbicidas são os mais utilizados<sup>3,4</sup>. O uso extensivo destas substâncias submete os trabalhadores rurais aos efeitos de agentes tóxicos, conforme indicado por diversos estudos que estabeleceram relação entre a exposição aos pesticidas e maiores índices de câncer, incidência de defeitos congênitos, problemas respiratórios entre outros danos à saúde humana<sup>1,5-7</sup>. Um estudo sobre o perfil das intoxicações por agrotóxicos revelou que, no Brasil, a região Sul é a que apresenta maior incidência de intoxicações pelos de uso agrícola, por produtos veterinários e por agrotóxicos de modo geral<sup>8</sup>.

As triazinas constituem uma classe de herbicidas utilizada em larga escala no controle pré-emergente de ervas daninhas; são tóxicas, persistentes no ambiente e potencialmente carcinogênicas para o homem, sendo também importantes contaminadora dos corpos d'água e detectadas inclusive na água de abastecimento público<sup>9,10</sup>. A ampla utilização desses produtos, o desconhecimento dos riscos associados a sua utilização e o desrespeito às normas básicas de segurança são as principais causas que levam ao agravamento dos quadros de contaminação humana e ambiental observados no Brasil e no mundo<sup>8,11-15</sup>.

A determinação das concentrações ambientais destes compostos e de seus efeitos em humanos apresentam limitações metodológicas e éticas<sup>16,17</sup>, de modo que, o emprego de bioindicadores representa um método eficaz para a detecção dos impactos e avaliação das respostas dos organismos frente a uma ampla gama de poluentes e produtos químicos, mesmo em baixas concentrações<sup>5,18,19</sup>, fornecendo informações que permitem inferir os riscos aos quais os seres vivos estão expostos<sup>20-22</sup>.

Os bioensaios de mutagênese ambiental com plantas contribuem nesse sentido em razão da facilidade de cultivo, da padronização dos métodos e da aplicação em diferentes condições *in situ* e *ex situ*<sup>20</sup>. O bioensaio da mutação do pelo estaminal de *Tradescantia* (Trad-SHM - *Tradescantia* Stamen Hair Mutation) é um teste de mutagênese que tem fornecido informações importantes sobre os efeitos genéticos de diferentes formas de contaminação e cujas respostas demonstram ser consistentes, confiáveis e precisas mesmo nos baixos níveis aos quais a população humana pode estar exposta<sup>19,20,23-31</sup>.

Considerando que o uso abusivo de agrotóxicos constitui um grave problema ambiental e de saúde pública<sup>8,11,13-15</sup>, no presente estudo, o bioensaio Trad-SHM foi utilizado visando caracterizar a influência das triazinas sobre a frequência de mutações ocorridas em pelos estaminais de *Tradescantia* clone 4430 após a exposição *in situ* em uma área rural no estado de Santa Catarina, Brasil.

## Materiais e métodos

Sessenta plantas de *Tradescantia* clone 4430 foram cultivadas em vasos de polietileno contendo substrato comercial e vermiculita, mantidas sob condições naturais de temperatura, com luminosidade reduzida a 75% (sombrite) e regadas três vezes por semana.

A exposição *in situ* foi realizada em uma propriedade rural no Meio-Oeste do estado de Santa Catarina, na qual se utilizam triazinas para controle pré-emergente de ervas daninhas na cultura do milho. O herbicida utilizado é composto por atrazina (6-cloro-N2-etil-N4-isopropil-1,3,5-triazina-2,4-diamina) e simazina (6-cloro-N2,N4-dietil-1,3,5-triazina-2,4-diamina), de classe II, considerado muito perigoso e altamente persistente no meio ambiente<sup>32</sup>. A atrazina está incluída em um programa internacional para a reavaliação de seu potencial genotóxico sobre os humanos e dos riscos ecológicos associados ao seu uso<sup>33,34</sup>.

Para proceder o bioensaio, trinta vasos do clone 4430, contendo inflorescências jovens foram expostos a um metro de distância da plantação de milho no momento da aplicação do herbicida (na dosagem de 6,5 L/ha de acordo com a recomendação do fabricante) e permaneceram na área por um período de 8 horas, que corresponde a uma jornada diária de trabalho. Após a exposição, os vasos foram transportados para a casa de vegetação onde foram mantidos em recuperação por sete dias, tempo necessário para que os botões florescessem, expondo os pelos estaminais desenvolvidos<sup>20-26</sup>. O controle, composto por trinta vasos de *Tradescantia* clone 4430, sem qualquer contato com agrotóxicos, foi mantido em casa de vegetação.

A partir do sétimo dia após a exposição, a análise dos dados teve início, utilizando-se o protocolo padrão para a contagem dos eventos mutantes *pink* (EMP)<sup>26,27</sup>. O número de pelos por estame para cada dia de avaliação foi estimado contando-os em um estame ante-sépala e

um ante-pétala de cada flor avaliada<sup>35</sup>. Diariamente, dez flores de cada grupo foram avaliadas, contabilizando-se o número de EMP de todos os estames, totalizando oito dias de avaliação<sup>20-28</sup>. O número de EMP por flor foi convertido em eventos/1000 pelos e os EMP foram classificados quanto a localização no pelo estaminal<sup>28</sup>.

A frequência média de mutação de cada tratamento foi comparada através do teste t de Student com nível de significância de 0,05% para todos os dias em conjunto (C8D = controle 8 dias; T8D = teste 8 dias) e para o dia que apresentou maior frequência total de eventos mutagênicos, ou seja, o pico de mutações (CPD = controle dia de pico; TPD = teste dia de pico).

### Resultados e discussão

Ao final dos oito dias de avaliação, os estames do grupo controle apresentaram em média 401,9 pelos e o grupo teste 366,95 pelos, uma redução de 9,52%. Resultado semelhante foi observado após a exposição de *Tradescantia* clone 4430 a doses crescentes do inseticida dimetoato, apresentando redução de 8,4% a 25,2% no número de pelos estaminais<sup>5</sup>.

Foram observados 67 EMP, sendo 17 mutações no grupo controle e 50 no grupo teste (Tabe-

la 1). Eventos mutantes *pink* intersticiais predominaram comparativamente aos demais tipos de EMP e foram mais abundantes no grupo teste. Cada filamento (pelo estaminal) da flor de *Tradescantia* é composto por 30 a 35 células aproximadamente, sendo produto das divisões celulares das extremidades, até que o filamento esteja completamente desenvolvido<sup>24,36,37</sup>. O monitoramento *in situ* de poluentes atmosféricos utilizando o bioensaio dos pelos estaminais revelou diferenças na posição onde os EMP ocorriam, sendo que, no grupo controle, a maioria ocorreu na região terminal ou subterminal, enquanto no grupo exposto, foram amplamente localizados próximo à base ou mais dispersos ao longo deles<sup>38</sup>.

A frequência de EMP foi maior no grupo teste do que no controle considerando os oito dias de avaliação (Tabela 2). O dia de pico correspondeu ao 10º dia após o tratamento, em concordância com análises similares que relatam que o pico de mutações aparece entre 10 - 13 dias após tratamento<sup>24</sup> e entre 7 - 11 dias após o tratamento<sup>26</sup>. No dia de pico, houve um significativo aumento nos EMP do grupo teste submetido ao tratamento com atrazina e simazina, comparativamente ao controle (Tabela 2).

Os efeitos de pesticidas nas mutações somáticas de pelos estaminais de *Tradescantia* foram verificados sob forma líquida, em emissões ga-

**Tabela 1.** Classificação dos eventos mutantes *pink* (EMP) nas células estaminais das plantas de *Tradescantia* clone 4430, controle e teste.

	EMP terminal	EMP intersticial	EMP em todo pelo	Múltiplos setores separados por:		
				1 célula azul	2 ou mais células azuis	EMP basal
Controle	6	7	1	3	0	0
Teste	9	34	1	1	5	2
Total	15	41	2	4	5	2

**Tabela 2.** Resultados do bioensaio Trad-SHM entre o controle e o teste em 8 dias de avaliação (C8D = controle 8 dias; T8D = teste 8 dias) e para o quarto dia de avaliação (dia de pico) (CPD = controle dia de pico; TPD = teste dia de pico). Os resultados são expressos em termos de eventos mutantes *pink* (EMPs) / 1000 pelos  $\pm$  desvio padrão.

Grupo amostral	EMPs/1000 pelos $\pm$ DP	Valor de "t" (p < 0,05)	Significância (Teste t de Student)
C8D	0,71 $\pm$ 0,37	2,94	+
T8D	2,27 $\pm$ 1,36		
CPD	0,62 $\pm$ 1,24	2,69	+
TPD	4,69 $\pm$ 4,59		

sosas<sup>5</sup> e em amostras de solo agrícola contaminado por agrotóxicos, incluindo atrazina e extrazina<sup>39</sup>. Outros estudos que evidenciam a sensibilidade do bioensaio Trad-SHM em detectar os efeitos genotóxicos de poluição envolvem análise de resíduos de mineração<sup>40</sup>, poluição aérea urbana<sup>31</sup> e poluição aérea industrial<sup>38</sup>.

No Brasil, os estudos conduzidos até o momento utilizando o bioensaio Trad-SHM avaliaram os riscos mutagênicos associados às áreas afetadas por poluição aérea<sup>29-31</sup>, radiação natural<sup>41</sup>, uso de fungicidas<sup>42</sup> e queima de incensos<sup>22</sup>. Em nosso estudo, realizado *in situ*, a exposição às triazinas induziu um aumento da frequência de mutações no clone 4430 de *Tradescantia* comprovando a eficiência deste sistema vegetal na detecção de agentes mutagênicos e corroborando estudos anteriores desenvolvidos em laboratório<sup>5,43-46</sup>, que geraram resultados positivos, mas de difícil correlação com o verificado para o ambiente natural.

Efeitos genotóxicos da atrazina foram anteriormente descritos em bioensaios com plantas<sup>33</sup>, peixes<sup>47,48</sup> e mamíferos (células ovarianas de hamsters)<sup>49-51</sup> confirmando que os resultados obtidos por meio do bioensaio Trad-SHM são indicadores de mutagênese aplicáveis a outros gru-

pos de organismos podendo servir de alerta sobre possíveis riscos à saúde humana e ao meio ambiente<sup>18,52</sup>. Cabe salientar que a exposição das plantas se deu por apenas oito horas, correspondendo a uma jornada diária de trabalho, período suficiente para evidenciar os efeitos mutagênicos passíveis de afetar a biota e os seres humanos do entorno.

Nossos resultados assumem ainda maior importância considerando que o Brasil é um dos maiores consumidores mundiais de agrotóxicos<sup>53</sup>. Estas substâncias têm conhecidas implicações no contexto da saúde pública<sup>8,11,13-15</sup>, afetando diretamente os trabalhadores agrícolas e também a população em geral por meio do consumo da água e dos alimentos contaminados<sup>10,50</sup>.

O bioensaio Trad-SHM com o clone 4430 demonstrou ser um sensível e eficiente indicador da presença de mutagênicos químicos *in situ*, mesmo em um curto período de exposição<sup>17,54</sup>. Este fato, aliado à praticidade metodológica, torna-o indicado na avaliação dos impactos por contaminantes ambientais permitindo inferir que aumentos da frequência de mutações somáticas na *Tradescantia* são indicadores do risco de mutações em outros organismos.

## Colaboradores

C Patussi e M Bündchen participaram igualmente de todas as etapas de elaboração do artigo.

## Referências

- Baird C. *Química Ambiental*. 2ª Edição. Porto Alegre: Bookman; 2002.
- Rocha JC, Rosa AH, Cardoso AA. *Introdução à química ambiental*. Porto Alegre: Bookman; 2004.
- Velasco LOM, Capanema LXL. O setor de agroquímicos. *BNDES Setorial* 2006; 24:69-96.
- Spadotto CA, Gomes MFG. Impactos ambientais de agrotóxicos: Monitoramento e avaliação. In: Romeiro AR, organizador. *Avaliação e contabilização de impactos ambientais*. Campinas: Unicamp Imprensa Oficial; 2004. p. 112-122.
- Mohammed KB, Ma TH. Tradescantia-micronucleus and stamen hair mutation assays on genotoxicity of the gaseous and liquid forms of pesticides. *Mutat Res* 1999; 426(2):193-199.
- Oliveira-Silva JJ, Alves SR, Meyer A, Perez F, Sarcinelli PN, Mattos RCOC, Moreira JC. Influência de fatores socioeconômicos na contaminação por agrotóxicos, Brasil. *Rev Saude Publica* 2001; 35(2):130-135.
- Faria NMX, Facchini LA, Fassab AG, Tomasi E. Pesticides and respiratory symptoms among farmers. *Rev Saude Publica* 2005; 39(6):973-981.
- Boschner R. Sistema Nacional de Informações Tóxico-Farmacológicas – SINITOX e as intoxicações humanas por agrotóxicos no Brasil. *Cien Saude Colet* 2007; 12(1):73-89.
- Besplug J, Filkowski J, Burke P, Kovalchuk I, Kovalchuk O. Atrazine Induces Homologous Recombination But Not Point Mutation in the Transgenic Plant-Based Biomonitoring Assay. *Arch Environ Contam Toxicol* 2004; 46(3):296-300.
- Kleinschmitt ARB. *Transporte e retenção de triazinas em compartimentos ambientais terrestres e aquáticos em área de milho no sistema de plantio direto [tese]*. Porto Alegre (RS): Doutorado em Ciências do Solo, Universidade Federal do Rio Grande do Sul; 2007.
- Moreira JC, Jacob SC, Peres F, Lima JS, Meyer A, Oliveira-Silva JJ, Sarcinelli PN, Batista DF, Egler M, Faria MVC, Araújo AJ, Kubota AH, Soares MO, Alves SR, Moura CM, Curi R. Avaliação integrada do impacto do uso de agrotóxicos sobre a saúde humana em uma comunidade agrícola de Nova Friburgo, RJ. *Cien Saude Colet* 2002; 7(2):299-311.
- Sobreira AEG, Adissi PJ. Agrotóxicos: falsas premissas e debates. *Cien Saude Colet* 2003; 8(4):985-990.
- Soares WL, Freitas EAV, Coutinho JAG. Trabalho rural e saúde: intoxicações por agrotóxicos no município de Teresópolis – RJ. *Econ Soc Rural* 2005; 43(4):685-701.
- Alves SMF, Fernandes PM, Marin JOB. Condições de trabalho associadas ao uso de agrotóxicos na cultura de tomate de mesa em Goiás. *Cienc Agrotec* 2008; 32(6):1737-1742.
- Silva DRO, Ávila LA, Agostinetti D, Dal Magro T, Oliveira E, Zanella R, Noldin JA. Monitoramento de agrotóxicos em águas superficiais de regiões orizícolas no sul do Brasil. *Cienc Rural* 2009; 39(9):2383-2389.
- Bull S, Fletcher K, Boobis AR, Battershil JM. Evidence for genotoxicity of pesticides in pesticide applicators: a review. *Mutagenesis* 2006; 21(2):93-103.
- Carvalho HAA. *Tradescantia* como bioindicador vegetal na monitoração dos efeitos clastogênicos das radiações ionizantes. *Rev Bras Radiol* 2005; 38(6):459-462.
- Carneiro RMA. *Bioindicadores vegetais de poluição atmosférica: uma contribuição para a saúde da comunidade* [dissertação] Ribeirão Preto (SP): Escola de Enfermagem de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo; 2004.
- Savóia EJM, Domingos M, Guimarães ET, Brumati F, Saldiva PHN. Biomonitoring genotoxic risks under the urban weather conditions and polluted atmosphere in Santo André, SP, Brazil, through Trad-MCN bioassay. *Ecotoxicol Environ Saf* 2009; 72(1):255-260.
- Rodrigues GS. *Bioensaios de toxicidade genética com Plantas superiores: Tradescantia* (MCN e SHM), milho e soja. Jaguariúna: Embrapa Meio Ambiente; 1999.
- Klumpp A, Ansel W, Klumpp G, Fomin A. Um novo conceito de monitoramento e comunicação ambiental: a rede européia para a avaliação da qualidade do ar usando plantas bioindicadoras (Euro-Bionet). *Rev Bras Bot* 2001; 24(4):511-518.
- Oliveira DS, Crnkovic PM, Viana VGF, Saldiva PHN, Domingos M, Pagliuso JD. Biomonitoramento indoor do potencial mutagênico dos gases provenientes da queima de incenso por meio da avaliação de pêlos estaminais da *Tradescantia*. *J Braz Soc Ecotox* 2007; 2:173-178.
- Ma TH, Grant WF. The *Tradescantia* – adventurous plants. *The Herbarist* 1982; 48:36-44.
- Ichikawa S. *Tradescantia* stamen-hair system as an excellent botanical tester of mutagenicity: its responses to ionizing radiations and chemical mutagens, and some synergistic effects found. *Mutat Res* 1992; 270(1):3-22.
- Grant WF. The present status of higher plant bioassays for the detection of environmental mutagens. *Mutat Res* 1994; 310(2):175-185.
- Ma TH, Xu C, Liao S, McConnell H, Jeong BS, Won CD. *In situ* monitoring with the *Tradescantia* bioassays on the genotoxicity of gaseous emissions from a closed landfill site and an incinerator. *Mutat Res* 1996; 359(1-2):39-52.
- Rodrigues GS. *Bioensaios de toxicidade genética com Tradescantia*. Jaguariúna: Embrapa Meio Ambiente; 1999.
- Ichikawa S, Wushur S. Analyses of spontaneous pink mutant events in the stamen hairs of *Tradescantia* clone BNL 4430 cultivated in a nutrient solution circulating growth chamber. *Mutat Res* 2000; 472(1-2):37-49.
- Ferreira MI, Rodrigues GS, Domingos M, Saldiva PHN. *In situ* monitoring of mutagenicity of air pollutants in São Paulo City using *Tradescantia*-SHM bioassay. *Braz Arch Biol Techn* 2003; 46(2):253-258.
- Minouflet M, Ayrault S, Badot PM, Cotelle S, Ferard JE. Assessment of the genotoxicity of <sup>137</sup>Cs radiation using Vicia-micronucleus, *Tradescantia*-micronucleus and *Tradescantia*-stamen-hair mutation bioassays. *J Environ Radioact* 2005; 81(2-3):143-153.

31. Ferreira MI, Domingos M, Gomes HA, Saldiva PHN, Assunção JV. Evaluation of mutagenic potential of contaminated atmosphere at Ibirapuera Park, São Paulo - SP, Brazil, using the *Tradescantia* stamen-hair assay. *Environ Pollut* 2007; 145(1):219-224.
32. Syngenta Crop Protection. Bula Primatop® SC; 2004.
33. Bolle P, Mastrangelo S, Tucci P, Evandri MG. Clastogenicity of atrazine assessed with the *Allium cepa* test. *Environ Mol Mutagen* 2004; 43(2):137-141.
34. Mastrangelo S. Quercetin reduces chromosome aberrations induced by atrazine in the *Allium cepa* test. *Environ Mol Mutagen* 2006; 47(4):254-259.
35. Ichikawa S, Ishii C. Somatic mutation frequencies in the stamen hairs of *Tradescantia* grown in soil samples from the Bikini Island. *Jpn J Genet* 1991; 66(1):27-40.
36. Ichikawa S. Sectoring patterns of spontaneous and radiation-induced somatic pink mutations in the stamen hairs of a temperature-sensitive mutable clone of *Tradescantia*. *Jpn J Genet* 1994; 69:577-591.
37. Sanda-kamiguawara MS, Tomiyama M, Ichikawa S. Sectoring patterns of spontaneous and induced somatic pink mutations in the stamen hairs and petals of mutable and stable clones of *Tradescantia*. *Jpn J Genet* 1995; 70:339-353.
38. Arutyunyan RM, Pogosyan VS, Simonyan VH, Atoyants AL, Djigardjian EM. *In situ* monitoring of the ambient air around the chloroprene rubber industrial plant using the *Tradescantia* stamen hair mutation assay. *Mutat Res* 1999; 426(2):117-120.
39. Kong MS, Ma TH. Genotoxicity of contaminated soil and shallow well water detected by plant bioassays. *Mutat Res* 1999; 426(2):221-228.
40. Fomin A, Paschke A, Arndt U. Assessment of the genotoxicity of mine-dump material using the *Tradescantia*-stamen hair -Trad-SHM/ and the *Tradescantia*-micronucleus - Trad-MCN/ bioassays. *Mutat Res* 1999; 426(2):173-181.
41. Gomes H de A, Nouailhetas Y, da Silva NC, Mezrahi A, de Almeida CEB, Rodrigues GS. Biological Response of *Tradescantia* Stamen-hairs to High Levels of Natural Radiation in the Poços de Caldas Plateau. *Braz Arch Biol Techn* 2002; 45(3):301-307.
42. Sakamoto ET, Takahashi CS. Action of benlate fungicide on *Tradescantia* stamen hairs and *Allium cepa* root-tip cells. *Rev Bras Genet* 1981; 4(3):367-381.
43. Gichner T, Velemínský J. Monitoring the genotoxicity of soil extracts from two heavily polluted sites in Prague using the *Tradescantia* stamen hair and micronucleus MNC/assays. *Mutat Res* 1999; 426(2): 163-166.
44. Jiang YG, Yu ZD, Liu GZ, Chen RZ, Peng GY. Genotoxicity of water samples from the scenic Lijiang river in the Guilin area, China, evaluated by *Tradescantia* bioassays. *Mutat Res* 1999; 426(2):137-141.
45. Steinkellner H, Kassie F, Knasmuller S. *Tradescantia*-micronucleus assay for the assessment of the clastogenicity of Austrian water. *Mutat Res* 1999; 426(2):113-116.
46. Yang G. *Tradescantia*-micronucleus assay on the water quality of lake Hongzhe in Jiangsu Province, China. *Mutat Res* 1999; 426(2):155-157.
47. Moron SE, Polez VLP, Artoni RF, Ribas JLC, Takahashi HK. Estudo de alterações na concentração dos íons plasmáticos e da indução de micronúcleos em *Piaractus mesopotamicus* exposto ao herbicida atrazina. *J Braz Soc Ecotox* 2006; 1(1):27-30.
48. Cavas T. In vivo genotoxicity evaluation of atrazine and atrazine-based herbicide on fish *Carassius auratus* using the micronucleus test and the comet assay. *Environ Health Persp* 2011; 49(6):1431-1435.
49. Biradar DP, Rayburn AL. Flow cytogenetic analysis of whole cell clastogenicity of herbicides found in groundwater. *Arch Environ Contam Toxicol* 1995; 28(1):13-17.
50. Taets C, Aref S, Rayburn AL. The Clastogenic Potential of Triazine Herbicide Combinations Found in Potable Water Supplies. *Environ Health Persp* 1998; 106(4):197-201.
51. Rayburn AL, Bouma J, Northcott CA. Comparing the clastogenic potential of atrazine with caffeine using Chinese hamster ovary (CHO) cells. *Toxicol Lett* 2001(1); 121:69-78.
52. Ma TH. The international program on plant bioassays and the report of the follow-up study after the hands-on workshop in China. *Mutat Res* 1999; 426(2):103-106.
53. Instituto Nacional de Processamento de Embalagens Vazias (inpEV). *Relatório Anual*. São Paulo: inpEV; 2007.
54. Ma TH, Cabrera GL, Cebulska-Wasilewska A, Chen R, Loarca L, Vandenberg AL, Salamone MF. *Tradescantia* stamen hair mutation bioassay. *Mutat Res* 1994; 310(2):211-220.

---

Artigo apresentado em 10/11/2011

Aprovado em 15/02/2012

Versão final apresentada em 11/03/2012