

## Toxicidade e genotoxicidade do inseticida ciromazina em bioensaio com *Allium cepa*

Toxicity and genotoxicity of the insecticide cyromazine in a bioassay with *Allium cepa*

Toxicidad y genotoxicidad del insecticida ciromazina en un bioensayo con *Allium cepa*

Recebido: 12/12/2022 | Revisado: 29/12/2022 | Aceitado: 31/12/2022 | Publicado: 03/01/2023

### **Eliane Alves Lustosa**

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-8264-2204>  
Universidade Federal de Campina Grande, Brasil  
E-mail: [elianelustosa18@hotmail.com](mailto:elianelustosa18@hotmail.com)

### **Marcos Antonio Nobrega de Sousa**

ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-6550-6609>  
Universidade Federal de Campina Grande, Brasil  
E-mail: [marcosandesousa@gmail.com](mailto:marcosandesousa@gmail.com)

### **Thaís Lucena de Oliveira**

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-6484-6713>  
Universidade Federal de Campina Grande, Brasil  
E-mail: [lucenaoliv@gmail.com](mailto:lucenaoliv@gmail.com)

### **Jeniffer Gabrielly de Sousa Pereira**

ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-2696-3027>  
Universidade Federal de Campina Grande, Brasil  
E-mail: [gabriellyjeniffer283@gmail.com](mailto:gabriellyjeniffer283@gmail.com)

### **Jair Moisés de Sousa**

ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-3848-498X>  
Universidade Federal de Campina Grande, Brasil  
E-mail: [jair.moises@professor.ufcg.edu.br](mailto:jair.moises@professor.ufcg.edu.br)

### **Francisca Vitória Amaral Nóbrega**

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-6480-1240>  
Centro Universitário de Patos, Brasil  
E-mail: [vitoriaamaral123@gmail.com](mailto:vitoriaamaral123@gmail.com)

### **Resumo**

Os agrotóxicos são produtos químicos sintéticos amplamente utilizados no âmbito agrícola para controlar pragas e doenças. O modelo de agricultura predominante no Brasil baseia-se no uso demasiado desses produtos e atualmente o país ocupa o primeiro lugar no ranking mundial de consumo. Apesar de possibilitar o crescimento da produção agrícola, a utilização excessiva de agrotóxicos causa consequências à saúde humana e ao meio ambiente. O objetivo deste estudo foi avaliar os possíveis efeitos tóxicos, citotóxicos e genotóxicos do inseticida ciromazina utilizando o bioensaio com *Allium cepa*. Os bulbos saudáveis de cebola foram expostos a diferentes dosagens do inseticida, além dos controles positivo e negativo por um período de cinco dias. Após o qual, foi realizada a análise macroscópica para a avaliação da toxicidade, sendo contabilizado o número de raízes germinadas e o comprimento das três maiores raízes de cada bulbo. Para a avaliação da citotoxicidade e genotoxicidade, foram confeccionadas lâminas para análise das células em diferentes fases do ciclo celular. O inseticida testado foi tóxico para *A. cepa*, inibindo a germinação e o crescimento radicular em diferentes concentrações averiguadas. Além disso, foram observados efeitos citotóxicos nas duas maiores concentrações analisadas. O composto foi considerado genotóxico, pois induziu aberrações cromossômicas e micronúcleos nas células, especialmente nas maiores dosagens. O estudo contribuiu com informações relevantes acerca da toxicidade e genotoxicidade do inseticida ciromazina em *A. cepa*, mas também indica a necessidade de pesquisas adicionais em outros organismos teste.

**Palavras-chave:** Agrotóxicos; Micronúcleos; Alterações cromossômicas.

### **Abstract**

Pesticides are synthetic chemicals widely used in agriculture to control pests and diseases. The predominant model of agriculture in Brazil is based on the excessive use of these products and currently the country occupies the first place in the world ranking of consumption. Despite enabling the growth of agricultural production, the excessive use of pesticides has consequences for human health and the environment. The objective of this study was to evaluate the possible toxic, cytotoxic and genotoxic effects of the insecticide cyromazine using the *Allium cepa* bioassay. Healthy onion bulbs were exposed to different insecticide dosages, in addition to positive and negative controls, for a period of five days. After which, a macroscopic analysis was performed to assess toxicity, counting the number of germinated roots and the length of the three largest roots of each bulb. For the evaluation of cytotoxicity and genotoxicity, slides were made for analysis of cells in different phases of the cell cycle. The tested insecticide was toxic to *A. cepa*, inhibiting germination and root growth at different verified concentrations. Furthermore, cytotoxic effects were

observed at the two highest concentrations analyzed. The compound was considered genotoxic, as it induced chromosomal aberrations and micronuclei in cells, especially at higher dosages. The study contributed with relevant information about the toxicity and genotoxicity of the insecticide cyromazine in *A. cepa*, but also indicates the need for additional research in other test organisms.

**Keywords:** Pesticides; Micronuclei; Chromosomal changes.

### Resumen

Los plaguicidas son productos químicos sintéticos ampliamente utilizados en la agricultura para el control de plagas y enfermedades. El modelo de agricultura predominante en Brasil se basa en el uso excesivo de estos productos y actualmente el país ocupa el primer lugar en el ranking mundial de consumo. A pesar de permitir el crecimiento de la producción agrícola, el uso excesivo de plaguicidas tiene consecuencias para la salud humana y el medio ambiente. El objetivo de este estudio fue evaluar los posibles efectos tóxicos, citotóxicos y genotóxicos del insecticida ciromazina mediante el bioensayo *Allium cepa*. Se expusieron bulbos de cebolla sanos a diferentes dosis de insecticida, además de controles positivos y negativos, por un período de cinco días. Posteriormente se realizó un análisis macroscópico para evaluar la toxicidad, contando el número de raíces germinadas y la longitud de las tres raíces más grandes de cada bulbo. Para la evaluación de citotoxicidad y genotoxicidad se realizaron láminas para análisis de células en diferentes fases del ciclo celular. El insecticida probado fue tóxico para *A. cepa*, inhibiendo la germinación y el crecimiento de raíces a diferentes concentraciones verificadas. Además, se observaron efectos citotóxicos en las dos concentraciones más altas analizadas. El compuesto se consideró genotóxico, ya que inducía aberraciones cromosómicas y micronúcleos en las células, especialmente en dosis más altas. El estudio aportó información relevante sobre la toxicidad y genotoxicidad del insecticida ciromazina en *A. cepa*, pero también indica la necesidad de investigación adicional en otros organismos de prueba.

**Palabras clave:** Plaguicidas; Micronúcleos; Cambios cromosómicos.

## 1. Introdução

O agronegócio é o modelo agrícola hegemônico no Brasil (Aguiar & Rigotto, 2021) e tem recebido grande influência econômica e política devido o país ser destaque na exportação de produtos agropecuários. Entre as tecnologias adotadas pelo agronegócio, destaca-se o uso de insumos químicos como fertilizantes e agrotóxicos (Gaboardi, et al., 2019). Devido ao uso exacerbado de agrotóxicos, desde 2008 o Brasil ocupa o primeiro lugar no ranking mundial de consumo desses produtos (Dutra & Souza, 2017; Gaboardi, et al., 2019), o que tem contribuído para o aumento da exposição da população e do meio ambiente aos efeitos nocivos dessas substâncias (Friedrich, et al., 2018).

Os agrotóxicos são definidos como compostos químicos sintéticos utilizados para controlar pragas e doenças em plantas e animais, visando aumentar a produtividade agrícola (Mattei & Michellon, 2021). No entanto, o uso demasiado dessas substâncias pode causar impactos ambientais e efeitos tóxicos a saúde dos agricultores e da população em geral (Corcino, et al., 2019). A exposição humana aos agrotóxicos pode ocorrer por meio dos alimentos, ar ou água contaminados, ou durante as atividades laborais, (Rodio, et al., 2021) e representa um grave problema de saúde pública, sobretudo nos países em desenvolvimento (Melo, et al., 2018).

O agrotóxico ciromazina (N-cyclopropyl-1,3,5-triazine-2,4,6-triamine) é um inseticida triazínico utilizado para o controlar insetos em culturas alimentares, ração animal e plantas ornamentais (Fu, et al., 2020). O composto atua como inibidor dos processos de muda, especialmente em insetos da ordem díptera (Wouw, et al, 2006; Liu, et al., 2010). É um inseticida de aplicação foliar, usado no Brasil para as culturas de batata, crisântemo, feijão, feijão-vagem, melancia, melão, pepino e tomate (Anvisa, 2020). Ciromazina, que teve seu primeiro registro em 1986 no estado de Nova Iorque, é atualmente vendido no comércio na forma de um pó molhável, que dissolvido em água pode ser facilmente pulverizado e disperso no meio (Cabral, 2014).

Apesar de ser um dos agrotóxicos mais utilizados na agricultura brasileira, poucos estudos têm sido realizados com esse composto pelo fato de pertencer à classe toxicológica IV, classificado como pouco tóxico ao homem. O que pode formar a ideia de que ofereça poucos riscos à saúde (Cabral, 2014). No entanto, Carneiro et al. (2012) ressaltam que mesmo que alguns agrotóxicos sejam classificados como pouco tóxicos, no que concerne aos efeitos agudos, não se pode desconsiderar os efeitos

crônicos que podem surgir até vários anos após a exposição, manifestando-se na forma de diversas doenças como câncer, má formação congênita e problemas endócrinos, neurológicos e mentais.

Para a avaliação da toxicidade de produtos químicos como os agrotóxicos, vários organismos bioindicadores podem ser utilizados, incluindo plantas superiores como a espécie *Allium cepa* (Souza, et al., 2016). Esta é bastante empregada em estudos devido algumas vantagens que exibe como a facilidade de armazenamento e manipulação (Sheikh, et al., 2020). Por possuir poucos cromossomos, possibilita a identificação de diferentes alterações celulares, sendo considerada eficaz para a avaliação inicial da toxicidade genética (Lima, et al., 2018). Além disso, este sistema teste é aceito por agências internacionais de pesquisa como instrumento de análise dos efeitos citotóxicos e genotóxicos de diversas substâncias, apresentando resultados similares aqueles obtidos em sistema teste animal e em culturas celulares (Lima, et al., 2018).

Bonciu et al. (2018) destacam a importância de examinar os efeitos genotóxicos de inseticidas em plantas e em outros sistemas teste para considerar suas aplicações agrícolas. O número de trabalhos que avaliaram a genotoxicidade de ciromazina ainda é exíguo, especialmente em relação a estudos com as formulações comerciais (Cabral, 2014).

Diante do exposto, este estudo objetivou avaliar os possíveis efeitos tóxicos, citotóxicos e genotóxicos do inseticida ciromazina utilizando bioensaio com a espécie vegetal *Allium cepa*.

## 2. Metodologia

Este estudo caracteriza-se como uma pesquisa de natureza experimental com abordagem quantitativa. A pesquisa experimental tem o objeto como fonte, o qual é observado e manipulado em laboratório, onde são elaboradas as condições propícias para seu tratamento (Severino, 2017). Na metodologia quantitativa são gerados conjuntos de dados que podem ser analisados por meio de métodos matemáticos, como, por exemplo, a estatística (Pereira, et al., 2018).

A pesquisa foi realizada no primeiro semestre de 2022, no Laboratório de Genética e Toxicologia da Universidade Federal de Campina Grande, Centro de Saúde e Tecnologia Rural (UFCG/CSTR).

### 2.1 Material biológico

Foram utilizados 32 exemplares de cebolas (*Allium cepa* L), saudáveis, não enraizadas, com tamanhos e pesos semelhantes (peso médio 117,6 g), adquiridos no comércio local da cidade Patos – PB.

### 2.2 Substância teste

O agrotóxico utilizado foi o inseticida ciromazina (N-cyclopropyl-1,3,5-triazine-2,4,6-triamine) 750 g/kg (75% m/m), princípio ativo do produto comercial TRIGARD® 750 WP, adquirido de uma loja especializada em produtos para a agricultura localizada na cidade de Teixeira-PB.

Para a preparação das concentrações-teste, o inseticida foi diluído em água filtrada. As dosagens testadas foram baseadas na dose recomendada para uso estabelecida na bula (0,15 g/l), sendo testadas também, tanto dosagens maiores, quanto menores que a recomendada. Assim, foram avaliadas as seguintes concentrações: 0,018 g/l, 0,037 g/l, 0,075 g/l, 0,15 g/l, 0,30g/l, e 0,60 g/l, identificadas, respectivamente, como T1, T2, T3, T4, T5 e T6.

As concentrações T5 e T6 são uma extrapolação da dosagem recomendada para uso e foram testadas porque muitos agricultores tentam potencializar a ação dos agrotóxicos, utilizando concentrações maiores que o indicado na bula (Rosculete, et al., 2019). Além disso, Cajaíba et al. (2015) ressaltam que muitas vezes os agricultores utilizam os agrotóxicos sem orientação técnica e sem ter conhecimento sobre a quantidade adequada para aplicação, podendo chegar a utilizar altas concentrações dessas substâncias.

O controle negativo foi composto apenas de água filtrada e o controle positivo constituiu-se de 800 mg do fármaco

Paracetamol (acetaminofeno, N-acetil-p-aminofenol, C<sub>8</sub>H<sub>9</sub>NO<sub>2</sub>, Pharmapele©) diluído em 1l de água filtrada.

### 2.3 Preparação do material vegetal

Inicialmente, com o auxílio de um estilete, retirou-se cuidadosamente as escamas externas soltas e as raízes velhas dos bulbos. Em seguida, os bulbos foram lavados em água corrente e permaneceram em contato com a água por cerca de duas horas para diminuir o efeito de impurezas e inibidores de germinação. Os bulbos foram colocados em recipientes de vidro previamente identificados, sendo suspensos por palitos de dente de forma que apenas a parte basal do bulbo tivesse contato com as soluções de cada tratamento (Oliveira, et al., 2022).

O experimento foi realizado em quadruplicata, sendo utilizados 24 bulbos para a substância teste, 4 para o controle negativo e 4 para o positivo, totalizando 32 bulbos no experimento. Os bulbos foram expostos às soluções por um período de cinco dias, em temperatura média de 25 °C e iluminação com lâmpada fluorescente.

### 2.4 Análise macroscópica

Após o período de exposição, foi contabilizado o número total de raízes de todos os bulbos e medido o comprimento das três maiores raízes de cada bulbo com o auxílio de um paquímetro digital. Para avaliação da toxicidade, o tamanho das raízes expostas à substância-teste foi comparado aos grupos controle (positivo e negativo), considerando também a presença de deformidades nas raízes (Parvan, et al., 2020) e o número de raízes germinadas.

### 2.5 Análise microscópica

Para confecção das lâminas, as duas maiores raízes de cada bulbo foram retiradas com uma tesoura esterilizada. Com o auxílio de um bisturi, as raízes foram seccionadas, obtendo-se a região do meristema apical que possui ampla atividade celular e desprezando-se o restante do material (Silva, et al., 2022). Com o auxílio de uma pinça, o material de análise foi transferido para um tubo de ensaio contendo o corante carmim acético 1%. O tubo contendo as raízes e o corante passou por um processo de aquecimento, num processo repetido por três vezes. Posteriormente, as raízes foram retiradas do tubo e dispostas sobre as lâminas para serem maceradas (Fiskesjo, 2008). Por último, foi adicionada mais uma gota do corante e inserida a lamínula que foi então fixada com verniz incolor.

A análise das lâminas ocorreu com o auxílio de microscopia óptica (NIKON e100) com aumento de 400X. Foram analisadas 1.000 células por réplica, totalizando 4.000 células por tratamento. Para a análise dos efeitos citotóxicos, foi calculado o índice mitótico, obtido pela razão entre a quantidade de células em divisão e o número de células analisadas (1000), multiplicando-se por 100 (Palsikowski, et al., 2018). Para a análise dos efeitos genotóxicos, foram avaliadas anormalidades celulares como: micronúcleos, pontes cromossômicas, cromossomos retardatários, quebra cromossômica e alterações nucleares (Parvan, et al., 2020).

### 2.6 Análise estatística

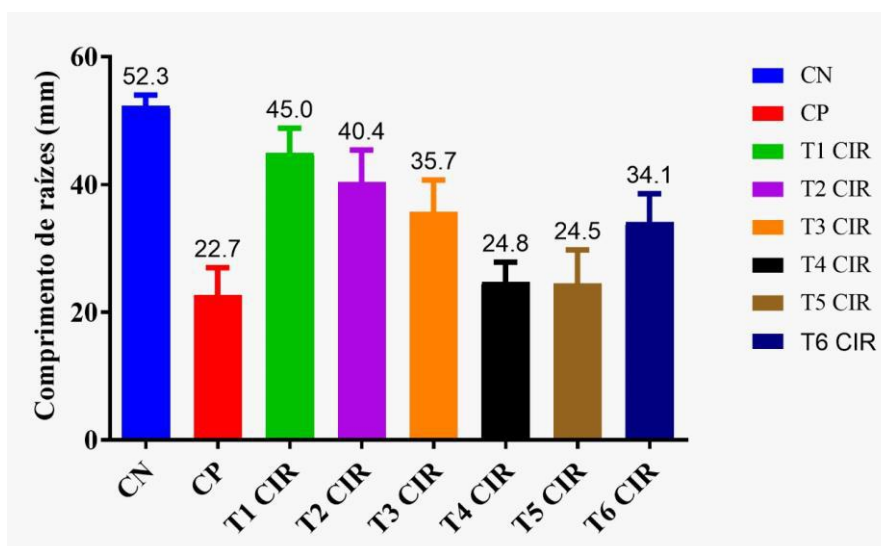
Os dados obtidos no experimento pela análise macroscópica e microscópica foram tabulados em planilhas do programa Microsoft Excel 2019. As avaliações estatísticas foram realizadas no programa Graphpad Prism® v9.00 por meio da análise de variância ANOVA, seguida do teste de Dunnet, considerando o nível de significância de  $p < 0,05$ . O teste de Shapiro-Wilk foi utilizado para verificar a normalidade dos dados (Silva, et al., 2021).

### 3. Resultados e Discussão

#### 3.1 Avaliação da toxicidade

O inseticida ciromazina causou diminuição no crescimento das raízes de *Allium cepa* (figura 1). Por meio da análise de variância ANOVA de uma via, foi observado que os efeitos tóxicos dos tratamentos, no geral, foram estatisticamente significantes ( $p < 0,0001$ ). No teste de Dunnet, comparando-se os tratamentos com o controle negativo, apenas a concentração T1 (0,018 g/l), menor concentração testada, não apresentou diferença estatística significativa. Já por meio da análise de variância ANOVA de duas vias, verificou-se diferença em todas as concentrações testadas em comparação com o controle negativo. Também foi observado que os tratamentos foram os responsáveis pela significância estatística ( $p < 0,0001$ ) e que as réplicas não interferiram no experimento.

**Figura 1** - Comprimento médio das raízes de *Allium cepa* expostas a diferentes concentrações do inseticida ciromazina e aos controles negativo e positivo.



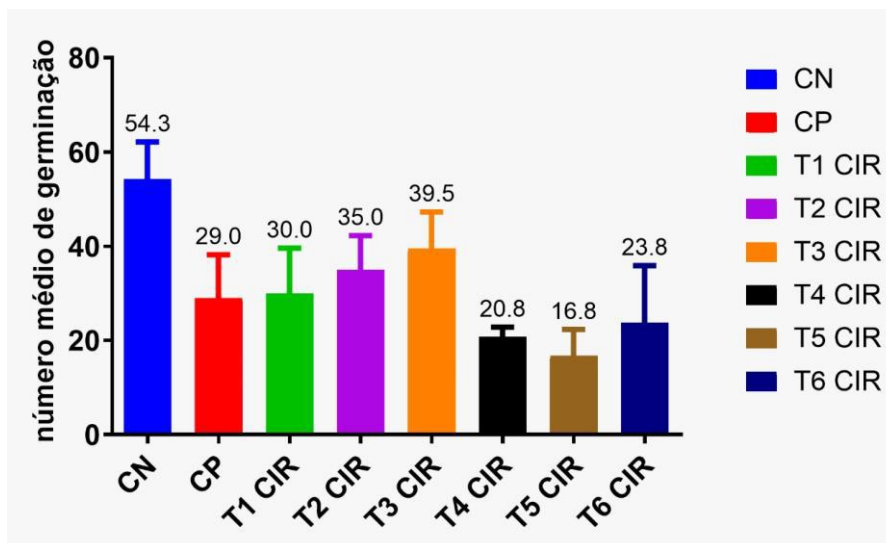
Fonte: Autores, com teste ANOVA de uma via e teste de múltiplas comparações de Dunnet. Graphpad Prism 9.

Foi observado diminuição do comprimento médio das raízes com o aumento da concentração do inseticida (figura 1), exibindo um possível padrão dose-resposta ( $R^2 = 0,89$ ). Exceção a esse padrão foi observada apenas na concentração T6 (0,60 g/l) que apresentou média de crescimento maior que a T4 (0,15 g/l) e T5 (0,30 g/l), que são dosagens menores. Em trabalho de Sheikh et al. (2020), realizado com os inseticidas malathion e cipermetrina, os autores também observaram diminuição do crescimento das raízes com o aumento das concentrações de ambos os agrotóxicos.

O comprimento das raízes de *Allium cepa* é considerado um importante parâmetro que revela a toxicidade do composto testado, pois a área de crescimento pode indicar possíveis eventos celulares internos. As raízes das plantas interagem com os diversos fatores físicos do ambiente e essa interação pode ocasionar alterações nas raízes. Ademais, a inibição do crescimento pode ocorrer devido uma diminuição das atividades mitóticas e pela presença de aberrações cromossômicas (Adeyemo & Farinmade, 2013).

O inseticida ciromazina também causou diminuição no número de raízes germinadas (figura 2). Foi observado diferença estatística significativa entre o número de raízes germinadas nas concentrações teste e no controle negativo, com exceção da concentração T3 (0,075 g/l). As menores médias de germinação foram observadas especialmente nas maiores concentrações T4 (0,15 g/l), T5 (0,30 g/l) e T6 (0,60 g/l).

**Figura 2** - Número médio de germinação de raízes de *Allium cepa* expostas a diferentes concentrações do inseticida ciromazina e aos controles negativo e positivo.



Fonte: Autores, com teste de ANOVA de uma via e teste de múltiplas comparações de Dunnet. Graphpad Prism 9.

Também foi possível observar a presença de raízes retorcidas (figura 3) na maior concentração do produto (T6 = 0,60 g/l). Este fato também é considerado um indicador de toxicidade.

**Figura 3** - Raíz retorcida (seta) de bulbo exposto a maior concentração testada do inseticida ciromazina.



Fonte: Autores (2022).

Nesse contexto, o inseticida ciromazina apresentou efeitos tóxicos sobre as raízes de *Allium cepa*, inibindo a germinação e o comprimento radicular em diferentes concentrações testadas, além de causar deformidades como raízes retorcidas na maior concentração avaliada.

Em teste de toxicidade com o modelo animal *Daphnia Magna*, o inseticida ciromazina também foi considerado tóxico a um nível < 25 ppm (Fernández-Alba, et al., 2001). Além disso, esse composto produz o metabólito melamina que em altas concentrações é tóxico para humanos e animais (Su, et al., 2012). Em 2007, nos Estados Unidos, ração contaminada com melamina causou milhares de doenças e mortes de animais de estimação. O consumo contínuo de leite em pó infantil contaminado com melamina causou cálculos renais em milhares de crianças na China (Liu, et al., 2010). Pode-se observar que, além da ciromazina, outros inseticidas agrícolas já foram reportados na literatura como sendo agentes tóxicos em teste

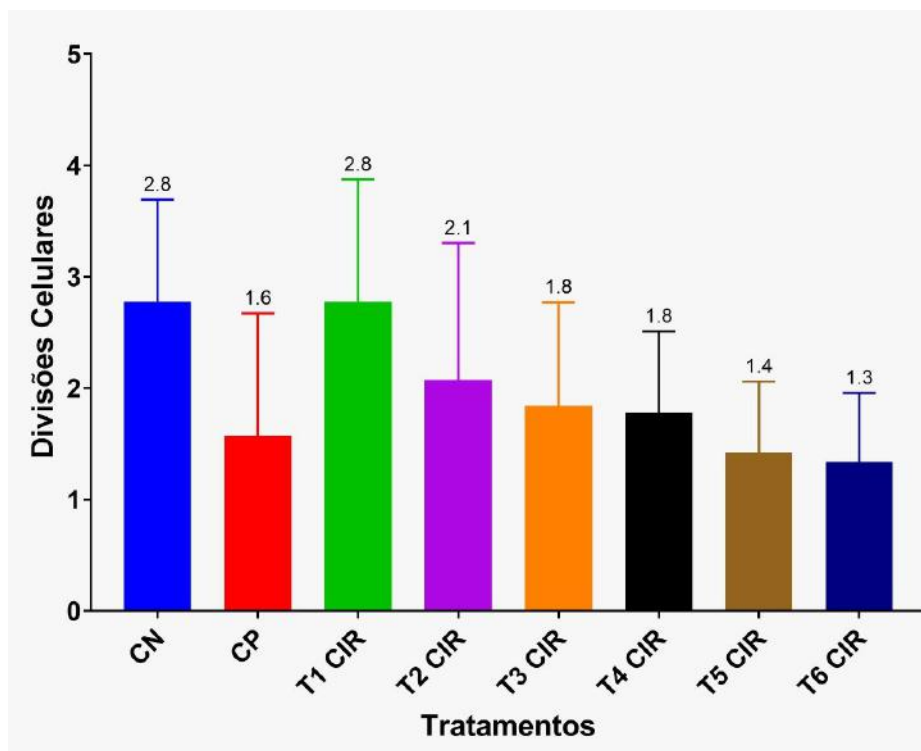
com *Allium cepa*, a exemplo dos inseticidas diazinon (Pandir, 2018), malathion e cipermetrina (Sheikh, et al., 2020).

### 3.2 Avaliação da citotoxicidade

Por meio da análise das células em divisão celular, foi avaliado o efeito citotóxico do inseticida ciromazina pelo cálculo do índice mitótico. Apenas as duas maiores concentrações testadas do produto T5 (0,30 g/l) e T6 (0,60 g/l) apresentaram redução estatística significativa do índice mitótico quando comparado ao controle negativo. Contudo, foi observado uma possível relação dose-resposta, pois com o aumento da concentração da substância houve diminuição do índice mitótico (figura 4). Em estudo de Karaismailoglu (2017) que avaliou os efeitos do inseticida fipronil sobre *Allium cepa*, o índice mitótico também diminuiu com o aumento das soluções do agrotóxico.

A citotoxicidade pode ser determinada pelo aumento ou diminuição do índice mitótico em relação controle negativo. A diminuição do índice mitótico ocorre devido à inibição da divisão celular, ou seja, a substância à qual as células foram expostas afeta o crescimento e desenvolvimento do organismo teste. Quando o índice mitótico é maior, há um aumento da divisão e proliferação celular, podendo levar à indução de tumores (Shabbir, et al., 2021). Nesse contexto, pode-se dizer que as duas maiores concentrações testadas do agrotóxico causaram redução no número de células em divisão celular, sendo então consideradas citotóxicas.

**Figura 4** - Índice mitótico de células de *Allium cepa* expostas a diferentes concentrações do inseticida ciromazina e aos controles positivo e negativo.



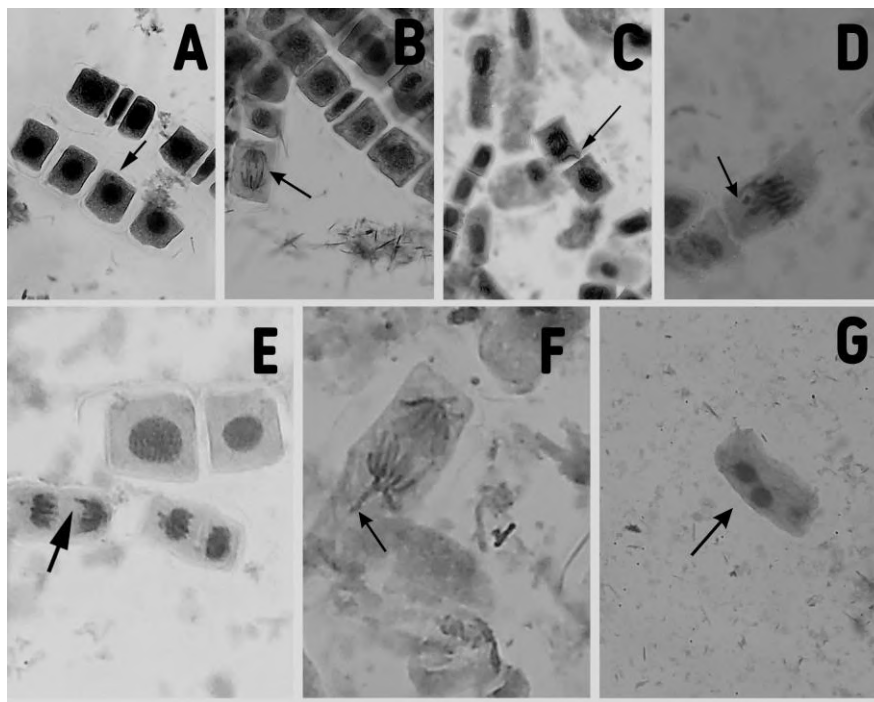
Fonte: Autores, com teste ANOVA de uma via e com teste de múltiplas comparações de Dunnet. Graphpad Prism 9.

### 3.3 Avaliação da genotoxicidade

Os ensaios de aberrações cromossômicas (AC) são profusamente utilizados para avaliar a genotoxicidade de compostos químicos e também seu modo de ação sobre o material genético dos organismos expostos. Dentre os organismos usados no teste de AC, *Allium cepa* destaca-se por sua sensibilidade e por apresentar características cromossômicas adequadas que possibilitam a avaliação de danos cromossômicos ou alterações no ciclo celular (Leme, et al., 2008).

Neste estudo, foram encontradas várias aberrações cromossômicas em células de *Allium cepa* expostas às concentrações do inseticida ciromazina como micronúcleo, ponte anafásica, cromossomo perdido, cromossomo retardatário, anáfase com cromossomo isolado, célula binucleada e metáfase com quebra cromossômica (figura 5). Estas alterações foram observadas especialmente nas maiores dosagens avaliadas.

**Figura 5** - Aberrações cromossômicas em células de *Allium cepa* expostas ao inseticida ciromazina.



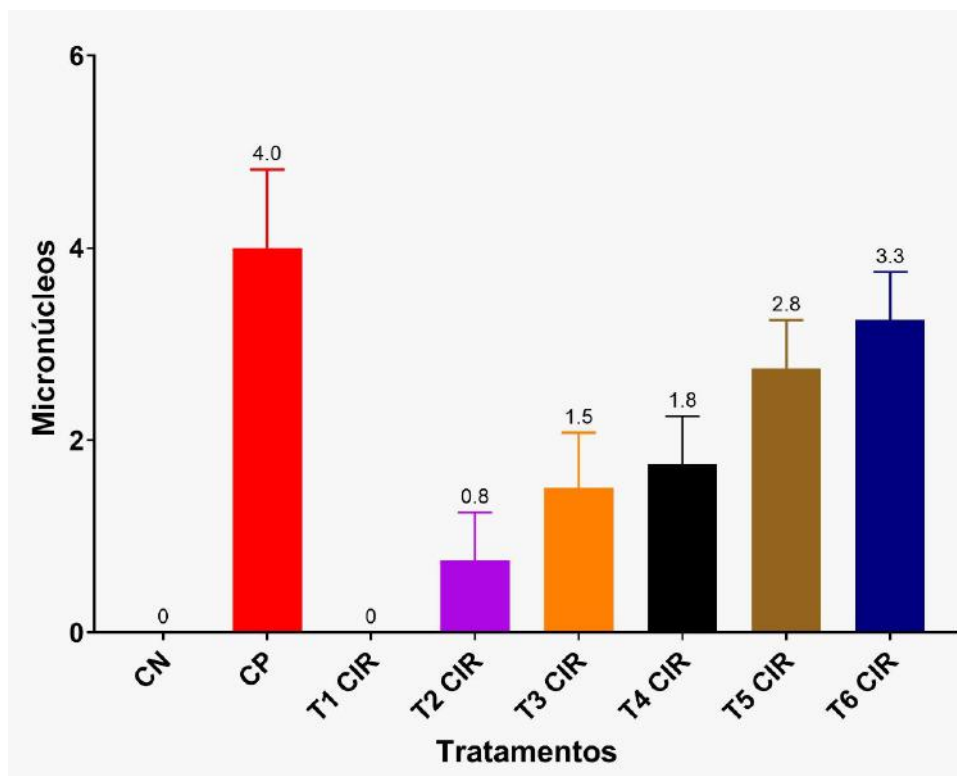
A = Micronúcleo, B = Ponte anafásica, C = Anáfase com cromossomo perdido, D = Metáfase com quebra cromossômica, E = Telófase com cromossomo retardatário, F = Anáfase com cromossomo isolado e G = Célula binucleada. Fonte: Autores (2022).

Os micronúcleos são originados de fragmentos ou cromossomos inteiros que não se direcionam para o núcleo das células filhas e ficam perdidos no citoplasma (Cabral, 2014). Estas estruturas são semelhantes ao núcleo principal da célula, mas possuem menor tamanho (Leme & Marin-Moralis, 2009) e podem causar perda genômica ao organismo, afetando tanto sua morfologia quanto diversos parâmetros bioquímicos (Shabbir, et al., 2021). As pontes cromossômicas resultam de quebras nos cromossomos ou cromátides (Ghisi, et al., 2021). Os cromossomos retardatários podem ser formados devido à inibição da polimerização da tubulina ou de proteínas do citoesqueleto. As células binucleadas podem ser originadas de uma divisão anormal do fuso no início da anáfase ou devido à inibição da citocinese após a telófase (Bonciu, et al. 2018).

A indução de micronúcleos é frequentemente utilizada na detecção de danos genotóxicos e mutagênicos decorrentes da exposição a compostos tóxicos (Parvan, et al., 2020). Neste estudo, observou-se diferença estatística significativa na média de micronúcleos das células expostas ao inseticida em comparação com o controle negativo, exceto para as concentrações T1 (0,018 g/l) e T2 (0,037). Foi constatado também uma tendência de aumento na média de micronúcleos com o aumento da dose do produto. A maior média foi encontrada na concentração T6 (0,60 g/l), a maior das dosagens testadas (figura 6), aproximando-se da média encontrada no controle positivo (paracetamol). Resultado semelhante foi encontrado em estudo de Karaismailoglu (2017) que investigou os efeitos genotóxicos do inseticida fipronil em células de *Allium cepa*, no qual foi observado que a taxa de micronúcleos também aumentou de acordo com as concentrações do composto, sendo maior na dose mais alta de fipronil.



**Figura 6** - Média de micronúcleos encontrados em células de *Allium cepa* expostas ao inseticida ciromazina e aos controles positivo e negativo.



Fonte: Autores, com teste ANOVA de uma via e com teste de múltiplas comparações de Dunnet. Graphpad Prism 9.

Com base nos resultados supracitados, o inseticida ciromazina foi capaz de induzir danos genotóxicos em células de *Allium cepa*, principalmente nas maiores concentrações do composto. Tais resultados corroboram com trabalho de Cabral (2014) que avaliou efeito genotóxico do inseticida ciromazina em camundongos *Mus musculus*. A autora observou que este inseticida apresentou grande potencial genotóxico mesmo em doses mais baixas do que o Índice de Dieta Aceitável (IDA) sugerido pela ANVISA. O inseticida ciromazina também foi considerado um produto potencialmente cancerígeno pela Agência de Proteção Ambiental dos Estados Unidos por induzir tumores mamários em camundongos (Zhao, et al., 2018).

O efeito genotóxico de compostos químicos pode causar vários impactos a saúde e afetar também as próximas gerações (Valencia-Quintana, et al., 2013). Algumas substâncias químicas presentes nos agrotóxicos possuem a capacidade de interagir com o material genético, podendo causar modificações nos cromossomos e genes (Bianchi, 2008). Testes de monitoramento que avaliem a genotoxicidade dos agrotóxicos são essenciais para analisar as implicações desses compostos a saúde humana (Parvan, et al., 2020) e ao meio ambiente.

Devido às vantagens que a espécie *Allium cepa* apresenta, ela vem sendo profusamente empregada para analisar os impactos causados por xenobióticos, considerada importante ferramenta para estudos de monitoramento ambiental, tendo sido obtidos resultados satisfatórios (Leme & Marin Morales, 2009). Resultados positivos em bioensaios com este organismo modelo podem ser considerados um sinal de alerta de que o agrotóxico testado apresenta risco potencial à saúde (Fatma, et al., 2018).

#### 4. Conclusão

O inseticida ciromazina foi considerado tóxico no bioensaio realizado com *Allium cepa*, inibindo o número de raízes germinadas e o crescimento radicular. A citotoxicidade foi observada apenas nas duas maiores concentrações testadas do

produto. O inseticida também foi considerado um possível agente genotóxico, pois induziu várias aberrações cromossômicas e micronúcleos nas células de *Allium cepa*, especialmente nas maiores dosagens avaliadas.

O estudo trouxe contribuições relevantes acerca dos efeitos do inseticida ciromazina, sugerindo-se a realização de pesquisas com outros organismos modelo como, por exemplo, mamíferos, para o levantamento de mais informações sobre os riscos potenciais que esse agrotóxico pode causar em outros organismos vivos.

## Referências

- Adeyemo, O. A., & Farinmade, A. E. (2013). Genotoxic and cytotoxic effects of food flavor enhancer, monosodium glutamate (MSG) using *Allium cepa* assay. *African Journal of Biotechnology*, 12(13), 1459-1466. <https://doi.org/10.5897/AJB12.2927>
- Agência Nacional De Vigilância Sanitária (ANVISA) (2020). *Monografias de agrotóxicos*. <https://www.gov.br/anvisa/pt-br/setorregulado/regularizacao/agrototoxicos/monografias/monografias-autorizadas/c/4236jjson-file-1>. Acesso em: 25 de fevereiro de 2022.
- Aguiar, A. C. P., & Rigotto, R. M. (2021). Quando o neoeextrativismo chega aos corpos e territórios: agronegócio, processos de vulnerabilização e colonialidade. *Desenvolvimento e Meio Ambiente*, 57, 55-78. <https://doi.org/10.5380/dma.v56i0.76686>
- Bianchi, J. (2008). *Análise dos efeitos citotóxicos, genotóxicos e mutagênicos do inseticida malation, utilizando os sistemas teste de allium cepa e células de mamíferos*. 165f. Dissertação (Mestrado em Ciências Biológicas- Biologia Celular e Molecular). Universidade Estadual Paulista, Rio Claro-São Paulo, 2008.
- Bonciu, E., Firbas, P., Fontanetti, C. S., Wusheng, j., Karaismailoğlu, M. C., Liu, D., ... & Papini, A. (2018). An evaluation for the standardization of the *Allium cepa* test as cytotoxicity and genotoxicity assay. *Caryologia*, 71(3), 191-209. <https://doi.org/10.1080/00087114.2018.1503496>
- Cabral, W. B. M. (2014). *Análise da Genotoxicidade in vivo dos agrotóxicos ciromazina e mancozeb em baixas doses*. 99f. Dissertação (Mestrado em Saúde Humana e Meio Ambiente). Universidade Federal de Pernambuco, Vitória de Santo Antão- PE, 2014. Disponível em: <https://attena.ufpe.br/handle/123456789/13026>. Acesso em: 30/09/2022.
- Cajaíba, R. L., Santos, E. M., Fistarol, R., Souza Filho, J. A., & Silva, W. B. (2015). Perfil dos agricultores do município de Uruará - PA quanto ao uso de agrotóxicos. *Enciclopédia Biosfera*, 11(21), 1479-1472. <https://conhecer.org.br/ojs/index.php/biosfera/article/view/1876>
- Carneiro, F. F. Pignati, W.; Rigotto, R. M.; Friedrich, K.; Faria, N. M. X.; Búrigo, A. C., & Guiducci Filho, E. (2015). *Dossiê ABRASCO: um alerta sobre os impactos dos agrotóxicos na saúde*. EPSJV/Expressão Popular.
- Corcino, C. O., Teles, R. B. de A., Almeida, J. R. G. da S., Lirani, L. da S., Araújo, C. R. M., Gonsalves, A. de A., & Maia, G. L. de A. (2019). Avaliação do efeito do uso de agrotóxicos sobre a saúde de trabalhadores rurais da fruticultura irrigada. *Ciência & Saúde Coletiva*, 24, 3117-3128. <https://doi.org/10.1590/1413-81232018248.14422017>
- Dutra, R. M. S., & Souza, M. M. O. (2017). Impactos negativos do uso de agrotóxicos à saúde humana. *Hygeia*, 13, (24), 127-140. <https://seer.ufu.br/index.php/hygeia/article/view/34540>
- Fatma, F., Verma, S., Kamal, A., & Srivastava, A. (2018). Monitoring of morphotoxic, cytotoxic and genotoxic potential of mancozeb using *Allium* assay. *Chemosphere*, 195, 64e870. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2017.12.052>
- Fernández-Alba, A. R., Guil L. H., López, G. D., & Chistic, Y. (2001). Toxicity of pesticides in wastewater: a comparative assessment of rapid bioassays. *Analytica Chimica Acta*, 426(2). [https://doi.org/10.1016/S0003-2670\(00\)00874-6](https://doi.org/10.1016/S0003-2670(00)00874-6)
- Fiskesjö, G. (2008). The *Allium* test as a standard in environmental monitoring. *Hereditas*, 102(1), 99-112. <https://doi.org/10.1111/j.1601-5223.1985.tb00471.x>
- Friedrich, K., de Almeida, V. E. S., Augusto, L. G. da S., Gurgel, A. do M., De Souza, M. M. O., Alexandre, V. P., & Carneiro, F. F. (2018). Agrotóxicos: mais venenos em tempos de retrocessos de direitos. *Revista OKARA: Geografia em debate*, 12(2), 326-347. <https://doi.org/10.22478/ufpb.1982-3878.2018v12n2.41320>
- Fu, D., Zhang, S., Wang, M., Liang, X., Xie, Y., Zhang, Y., & Zhang, C. (2020). Dissipation behavior, residue distribution and dietary risk assessment of cyromazine, acetamiprid and their mixture in cowpea and cowpea field soil. *J Sci Food Agric*, 100, 4540-4548. <https://doi.org/10.1002/jsfa.10495>
- Gaboardi, S. C., Candioto, L. Z. P., & Ramos, L. M. (2019). Perfil do Uso de Agrotóxicos no Sudoeste do Paraná (2011-2016). *Revista NERA*, 22 (46), 13-40. <https://doi.org/10.47946/rnera.v0i46.5566>
- Ghisi, N. C., Silva, V. B., Roque, A. A., & Oliveira, E. C. (2021). Integrative analysis in toxicological assessment of the insecticide Malathion in *Allium cepa* L. system. *Brazilian Journal of Biology*, 83, e240118. <https://doi.org/10.1590/1519-6984.240118>
- Karaismailoglu, M. C. (2017). Assessments on the potential genotoxic effects of fipronil insecticide on *Allium cepa* somatic cells. *Caryologia*, 70(4), 378-384, 2017. <https://doi.org/10.1080/00087114.2017.1371992>
- Leme, D. M., de Angelis, D. de F., & Marin-Morales, M. A. (2008). Action mechanisms of petroleum hydrocarbons present in waters impacted by an oil spill on the genetic material of *Allium cepa* root cells. *Aquatic Toxicology*, 88, 214-219. <https://doi.org/10.1016/j.aquatox.2008.04.012>
- Leme, D. M., & Marin-Morales, A. (2009). *Allium cepa* test in environmental monitoring: A review on its application. *Mutation Research*, 682, 71-81. <https://doi.org/10.1016/j.mrrev.2009.06.002>

- Lima, M. V da S., Guedes, C. de M., de Abreu, M. C., & Peron, A. P. (2018). Análise da citotoxicidade e genotoxicidade de *Hibiscus sabdariffa* L. in natura e industrializado, e comparação da toxicidade entre as formas analisadas da planta. *Multitemas*, 23(55), 121-132. <https://doi.org/10.20435/multi.v23i55.1838>
- Liu, J., Zhong, Y., Liu, J., Zhang, H., Xi, J., & Wang, J. (2010). An enzyme linked immunosorbent assay for the determination of cyromazine and melamine residues in animal muscle tissues. *Food Control*, 21 (11), 1482-1487. <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2010.04.018>
- Mattei, T. F., & Michellon, E. (2021). Panorama da agricultura orgânica e dos agrotóxicos no Brasil: uma análise a partir dos censos 2006 e 2017. *Revista de Economia e Sociologia Rural*, 59(4), e222254. <https://doi.org/10.1590/1806-9479.2021.222254>
- Mello, F. A., Fagiani, M. D. A. B., Rossi, R. C., & Nai, G. A. (2019). Agrotóxicos: impactos ao meio ambiente e à saúde humana. *Colloquium Vitae*, 11(2), 37-44. 10.5747/cv.2019.v11.n2.v262. <https://revistas.unoeste.br/index.php/cv/article/view/2285>
- Oliveira, T. L., de Sousa, M. A. N., Lustosa, E. A., De Sousa, J. M., De Oliveira Filho, A. A., Dos Anjos, R. M., & Nóbrega, F. V. A. (2022). Toxicidade e genotoxicidade de medicamentos utilizados na pandemia da Covid-19 através do bioensaio *Allium cepa*. *Research, Society and Development*, 11 (13), e244111333940. <https://doi.org/10.33448/rsd-v11i13.33940>
- Palsikowski, A. L., Roberto, M. M., Sommaggio, L. R. D., Souza, P. M. S., Morales, A. R., & Marin-Morales, M. A. (2018). Ecotoxicity evaluation of the biodegradable polymers PLA, PBAT and its blends using *Allium cepa* as test organism. *J Polym Environ*, 26, 938-945. <https://doi.org/10.1007/s10924-017-0990-9>
- Pandir, D. (2018). Assesment of the genotoxic effect of the diazinon on root cells of *Allium cepa* (L.). *Brazilian Archives of Biology and Technology*, 61, e18160390. <http://dx.doi.org/10.1590/1678-4324-2018160390>
- Parvan, L. G., Leite, T. G., Freitas, T. B., Pedrosa, P. A. A., Calixto, J. S., & Agostinho, L. D. A. (2020). Bioensaio com *Allium cepa* revela genotoxicidade de herbicida com flumioxazina. *Revista Pan-Amazônica de Saúde*, 11. <https://doi.org/10.5123/s2176-6223202000544>
- Pereira, A. S., Shitsuka, D. M., Pereira, F. J., Shitsuka, r. (2018). *Metodologia da pesquisa científica*. 1. ed. Santa Maria, RS: UFSM, NTE.
- Rodio, G. R., Rosset, I. G., & Brandalize, A. P. C. (2021). Exposição a agrotóxicos e suas consequências para a saúde humana. *Research, Society and Development*, 10(8), e43010817526. <https://doi.org/10.33448/rsd-v10i8.17526>
- Rosculete, C. A., Bonciu, E., Rosculete, E., & Olaru, L. A. (2019). Determination of the environmental pollution potential of some herbicides by the assessment of cytotoxic and genotoxic effects on *Allium cepa*. *Environmental Research and Public Health*, 16(75). <https://doi.org/10.3390/ijerph16010075>
- Shabbir, M. D., Singh, M., Maiti, S., & Saha, S. K. (2021). Organophosphate pesticide (Chlorpyrifos): environmental menace; study reveals genotoxicity on plant and animal cells. *Environmental Challenges*, 5, 100313. <https://doi.org/10.1016/j.envc.2021.100313>
- Severino, A. J. (2017). *Metodologia do trabalho científico*. 2. ed. São Paulo: Cortez.
- Sheikh, N., Patowary, H., & Laskar, R. A. (2020). Screening of cytotoxic and genotoxic potency of two pesticides (malathion and cypermethrin) on *Allium cepa* L. *Molecular & Cellular Toxicology*, 16, 291-299. <https://doi.org/10.1007/s13273-020-00077-7>
- Silva, C. R. F. d., Melo, N. J. d. A., Menezes, E. d. L. C., Filho, E. F. d. S., Pereira, J. C. d. S., Nunes, M. M., Nóbrega, F. V. A., & Sousa, M. A. N. d. (2021). Estudo do potencial citotóxico, genotóxico e mutagênico do extrato aquoso de *Tabebuia aurea* em células de *Allium cepa*. In *Ciências Biológicas: Desenvolvimento em pesquisas aplicadas*, 1, 277-296. Editora e-Publicar. <https://doi.org/10.47402/ed.ep.c202173219585>
- Silva, L. M., Cimino, F. F., Borgo, A. L., Dutra, V. S. V., & Oliveira, J. E. Z. (2022). Avaliação da toxicidade, citotoxicidade e genotoxicidade do infuso dos rizomas de *Curcuma longa* L. (Zingiberaceae). *Revista Fitos*. <https://revistafitos.far.fiocruz.br/index.php/revista-fitos/article/view/1447>
- Souza, C. P., Guedes, T. D. A., & Fontanetti, C. S. (2016). Evaluation of herbicides action on plant bioindicators by genetic biomarkers: a review. *Environmental monitoring and assessment*, 188(12), 1-12. <https://doi.org/10.1007/s10661-016-5702-8>
- Su, H., Chen, L., Sun, B., & Ai, S. (2012). Fluorescence detection of cyromazine using gallic acid-reduced gold nanoparticles. *Sensors and Actuators B*, 174, 458- 464. <https://doi.org/10.1016/j.snb.2012.08.080>
- Valencia-Quintana, R., Alarcón, J. S., Gómez-Arroyo, S., Eslava, J. C., Waliszewski, S. M., Fernández, S., & Villalobos-Pietrini, R. (2013). Genotoxicidad de plaguicidas en sistemas vegetales. *Revista Internacional de Contaminación Ambiental*, 29, 133-157. <https://www.redalyc.org/articulo.oa?id=37028958008>
- Van de Wouw, A. P., Batterham, P., & Daborn, P. J. (2006). The insect growth regulator insecticide cyromazine causes earlier emergence in *Drosophila melanogaster*. *Archives of insect biochemistry and physiology*, 63(3), 101-109. <https://doi.org/10.1002/arch.20146>
- Zhao, Z., Chen, L., Bai, B., Yang, X., Tan, Y., Wang, J., ... & Zhou, C. (2018). Liquid chromatography-mass spectrometry method for evaluating the dissipation dynamics of cyromazine and its metabolite in *Agaricus bisporus* and dietary risk assessment. *Environmental Science and Pollution Research*, 25(3), 2285-2292. <https://doi.org/10.1007/s11356-017-0658-y>