

## **Análise genotóxica em trabalhadores rurais em Goiás, Brasil: exposição direta e indireta a pesticidas**

O uso de pesticidas tem crescido, principalmente, em países em desenvolvimento, levando à susceptibilidade genotóxica dos agricultores. O presente estudo teve por objetivo detectar lesão ao DNA de trabalhadores rurais do Sudoeste de Goiás, Brasil, por meio da utilização do ensaio cometa. A população-alvo do exame genotóxico foi composta de 28 indivíduos com histórico de exposição a pesticidas e 25 expostos indiretamente. A média do tempo de exposição a pesticidas era de aproximadamente 10 anos. O diagnóstico não indicou diferença significativa em dano ao DNA entre as populações. O consumo de cigarro não influenciou para o aumento de dano genotóxico entre os trabalhadores. Entretanto, o consumo de álcool por parte dos trabalhadores, expostos diretamente às misturas complexas de pesticidas, mostrou ter relação ao aumento de dano ao DNA. De modo geral, o ensaio cometa é um importante biomarcador para detecção de lesão ao DNA de trabalhadores expostos diretamente e indiretamente a pesticidas.

**Palavras-chave:** Trabalhadores rurais; Cultura de soja; Pesticidas; Dano ao DNA; Ensaio cometa.

## **Genotoxic analysis in rural workers in Goiás, Brazil: direct and indirect exposure to pesticides**

The use of pesticides has grown, mainly in developing countries, leading to the genotoxic susceptibility of farmers. The present study aimed to detect DNA damage in rural workers in the Southwest of Goiás, Brazil, using the comet assay. The target population of the genotoxic test consisted of 28 individuals with a history of exposure to pesticides and 25 indirectly exposed. The average time of exposure to pesticides was approximately 10 years. Diagnosis did not indicate a significant difference in DNA damage between populations. Cigarette consumption did not influence the increase in genotoxic damage among workers. However, alcohol consumption by workers, directly exposed to complex mixtures of pesticides, was shown to be related to increased DNA damage. In general, the comet assay is an important biomarker for detecting DNA damage in workers directly and indirectly exposed to pesticides.


**Keywords:** Farm workers; Soybean crop; Pesticides; DNA damage; Comet assay.


Topic: **Desenvolvimento, Sustentabilidade e Meio Ambiente**


Received: **15/08/2021**


Approved: **16/09/2021**

Reviewed anonymously in the process of blind peer.

**Frankione Borges de Almeida**   
Universidade Federal de Goiás, Brasil  
<http://lattes.cnpq.br/9736599884667481>  
<http://orcid.org/0000-0002-5597-8116>  
[frankione.almeida@gmail.com](mailto:frankione.almeida@gmail.com)

**Lia Raquel de Souza Santos**   
Instituto Federal Goiano, Brasil  
<http://lattes.cnpq.br/5031301781513709>  
<http://orcid.org/0000-0003-3700-813X>  
[lia.santos@ifgoiano.edu.br](mailto:lia.santos@ifgoiano.edu.br)

**Francis Lee Ribeiro**   
Universidade Federal de Goiás, Brasil  
<http://lattes.cnpq.br/1763392088652134>  
<http://orcid.org/0000-0001-9329-2505>  
[francisleerib@gmail.com](mailto:francisleerib@gmail.com)

**Marcelino Benvindo de Souza**   
Universidade Federal de Goiás Brasil  
<http://lattes.cnpq.br/4364084973977142>  
<http://orcid.org/0000-0001-9008-6087>  
[marcelinobenvindo@gmail.com](mailto:marcelinobenvindo@gmail.com)



DOI: 10.6008/CBPC2179-6858.2021.009.0026

### **Referencing this:**

ALMEIDA, F. B.; SANTOS, L. R. S.; RIBEIRO, F. L.; SOUZA, M. B.. Análise genotóxica em trabalhadores rurais em Goiás, Brasil: exposição direta e indireta a pesticidas. **Revista Ibero Americana de Ciências Ambientais**, v.12, n.9, p.341-348, 2021. DOI: <http://doi.org/10.6008/CBPC2179-6858.2021.009.0026>

## INTRODUÇÃO

O uso de pesticidas no controle de pragas agrícolas tem sido uma das alternativas para o aumento da produtividade. O Brasil destaca-se como o quarto maior produtor de grãos do mundo, e devido à extensa área plantada este país torna-se um dos maiores consumidores de agrotóxicos do mundo (PIGNATI et al., 2017). Um estudo elaborado e publicado em junho de 2021, pela Secretaria de Inteligência e Relações Estratégicas (SIRE) da Embrapa, sobre as exportações do Brasil nas últimas duas décadas, demonstra que o país fica atrás apenas da China, dos Estados Unidos e da Índia, sendo responsável por 7,8% da produção mundial. Em 2020, produziu 239 milhões e exportou 123 milhões de toneladas de grãos e alcançou o primeiro lugar como produtor e exportador de soja, com 126 milhões de toneladas produzidas e 84 milhões exportadas, sendo responsável por 50% do comércio mundial de soja (EMBRAPA, 2021).

Para Benedetti et al. (2018), o significativo aumento na produção de soja envolve o uso de vários pesticidas para proteção de cultivos e controle de pragas, de acordo com variedades de plantas, mecanismos de ação, patógenos e condições ambientais. E, neste cenário, aplicações repetidas podem se tornar necessárias até que a doença das plantas seja erradicada. Esses pesticidas constituem um amplo grupo de produtos químicos usados no controle de pragas e/ou ervas daninhas, mas também no controle de vetores de doenças (CUENCA et al., 2019).

Além de combater a praga-alvo, os pesticidas químicos afetam indiretamente uma ampla gama de organismos não alvos, gerando alterações genéticas, bioquímicas, morfológicas e fisiológicas subletais (KÖHLER et al., 2013; IGLESIAS et al., 2019; BORGES et al., 2019), incluindo, nesses casos, os seres humanos, promovendo danos à saúde (MARCELINO et al., 2019). A intoxicação, nesse sentido, tornou-se um problema de saúde pública, gerando complicações agudas e crônicas que podem levar a lesões ou até a morte (GODOY et al., 2019). Como ferramenta de investigações para lesões em células isoladas do DNA, o ensaio do cometa tornou-se um eficiente biomarcador para avaliar a exposição recente a xenobióticos (BENEDETTI et al., 2013; PEREIRA et al., 2018; GAJSKI et al., 2019). Nesse contexto, além de ser considerado um teste simples e de baixo custo, o ensaio é adequado para uso no biomonitoramento de agricultores expostos a riscos genotóxicos (KAUR et al., 2011). Os indivíduos expostos ocupacionalmente a pesticidas têm um grande risco de desenvolver alterações genotóxicas e a avaliação desse risco pode ser usada como biomarcador confiável de alterações biológicas precoces (VRHOVAC et al., 2001).

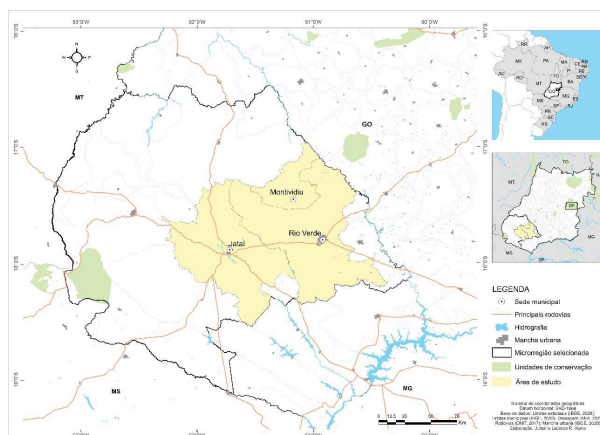
Diante da preocupação em relação ao crescente uso de agrotóxicos, pesquisadores têm usado o ensaio cometa e chamado a atenção para os impactos em níveis genotóxicos em espécies selvagens (JIA et al., 2015; GONÇALVES et al., 2015; CASTRO et al., 2018) e na população de trabalhadores agrícolas expostos diretamente (KHAYAT et al., 2013; KAHL et al., 2018) ou indiretamente aos agentes químicos (GODOY et al., 2019). Apesar do número de estudos que mostram o efeito genotóxico de pesticidas, poucos deles avaliaram relações entre populações de exposição direta e indireta. Nesse sentido, o objetivo deste estudo foi detectar lesão ao DNA de trabalhadores agrícolas no Sudoeste de Goiás, Brasil, e hipotetizamos que indivíduos expostos diretamente aos agrotóxicos apresentam maiores danos genotóxicos comparados

àqueles expostos indiretamente a estes agentes xenobióticos. Além disso, objetivou-se, também, verificar se há relação na frequência de lesão ao DNA de acordo com o estilo de vida como consumo de cigarro e álcool.

## METODOLOGIA

### Área de estudo

Definiu-se o recorte espacial que compreendeu três municípios do Sudoeste de Goiás (Figura 1), com forte perfil de produtividade agrícola. A mesorregião do Sul Goiano compreende um total de 18 municípios e detém uma área total equivalente a 2,47 milhões de hectares, representando 16% da área total do estado.



**Figura 1:** Municípios avaliados no estudo, e que estão inseridos na microrregião do Sudoeste de Goiás.

### Obtenção das amostras

Foram aleatorizados 53 trabalhadores rurais em propriedades destinadas ao cultivo da soja. Foram definidos dois grupos de participantes: i) grupo de exposição direta, composto por 28 indivíduos com histórico de exposição ocupacional a agrotóxicos agrícolas; ii) grupo de exposição indireta, composto de 25 indivíduos que não tiveram contato direto com os agrotóxicos. Ressalta-se que, embora os trabalhadores desse último grupo não tenham exposição direta, apresentaram relação com proximidades das áreas de aplicações, entre eles as cozinheiras, auxiliares de cozinha, auxiliar geral, técnicos administrativos e proprietários.

Para a seleção dos indivíduos participantes, foram considerados critérios de inclusão e exclusão. Os critérios de inclusão para o grupo caso foram: a) idade igual e superior a 18 anos e igual e/ou inferior a 60 anos; b) trabalhadores rurais com histórico de exposição ocupacional a agrotóxicos. Já os critérios de exclusão para o grupo de exposição direta foram: a) história prévia ou atual de neoplasias e uso de quimioterapia; b) uso de medicamentos genotóxicos e imunossupressores; c) exposição à radiação terapêutica ou ocupacional, bem como da não concordância com o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE).

Todos os indivíduos que participaram do estudo responderam a um questionário que foi utilizado como instrumento para obter informações referentes aos (1) dados pessoais, (2) características e hábitos

individuais e (3) dados ocupacionais. Após responder ao questionário, os indivíduos que possuíam os critérios de elegibilidade foram selecionados para integrar o grupo de exposição direta e indireta, que consistia na coleta de sangue periférico para avaliação de possíveis danos ao DNA através do método do ensaio cometa.

Por fim, ressalta-se que foram apresentados aos participantes esclarecimentos a respeito da pesquisa. O projeto de pesquisa foi submetido ao Comitê de Ética em Pesquisa (CEP) da Universidade Federal de Goiás (UFG) e Comitê de Ética em Pesquisa Leide das Neves Ferreira, vinculado à Superintendência da Escola de Saúde de Goiás (SESG). Foi aprovado conforme pareceres de números: 2.472.697, 4.741.549 e 4.875.282. Todas as etapas da pesquisa respeitaram a Resolução de nº 466/12 do Conselho Nacional de Saúde.

### **Ensaio cometa**

O ensaio do cometa foi realizado pelo método alcalino conforme descrito por Singh et al. (1988) com algumas modificações (GODOY et al., 2019). Duas lâminas foram preparadas com uma pré-cobertura de agarose "*Normal Melting*" a 1,5%. Essas lâminas foram confeccionadas com 10 µL de sangue embebidos em 120µL de agarose "*Low Melting Point*" a 0,5% (40°C) e coberta com uma lamínula. Após a solidificação do material, as lamínulas foram retiradas e as lâminas foram imersas em tampão de lise por 24 horas. Após esse período, as lâminas foram retiradas da solução de lise e colocadas em uma cuba horizontal de eletroforese, incubadas em tampão alcalino, deixando descansar por 30 minutos. A corrida eletroforética foi realizada por 30 minutos, a 30 volts e 250 amperes. A neutralização foi feita com uma solução Tampão Tris a 0,4 M (pH 7,5) por três vezes, durante 5 minutos e fixadas com etanol absoluto por 10 minutos. O DNA foi corado com 100 µL da solução de SYBR Green. Por fim, as lâminas foram analisadas sob microscopia de epifluorescência, utilizando um conjunto de filtros de excitação 515-560 nm, para fluorescência verde. Foram analisadas 100 células por indivíduo, as quais foram avaliadas com o auxílio do programa "*Comet Imager*" versão 2.2. Um total de três parâmetros relacionados a danos genômicos foram selecionados: comprimento da cauda (TL), porcentagem de DNA na cauda (% DNA) e momento da cauda de Olive (OTM).

### **Análise de dados**

A normalidade e a homocedasticidade dos dados foram verificadas por meio do teste de Shapiro-Wilk e Levene. Foi aplicado o teste t de Student entre grupo diretamente exposto versus aqueles indiretamente expostos, considerando os parâmetros do ensaio cometa. Além disso, o mesmo teste foi usado para o hábito de fumar e consumo de álcool. Em seguida um Teste Qui-quadrado ( $\chi^2$ ) com agrupamento foi realizado para essas variáveis de estilo de vida. Uma análise de correlação de Pearson entre a idade do indivíduo e a %DNA foi aplicada, considerando-se um  $p < 0.05$  estatisticamente significativo.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

### Trabalhadores expostos diretamente e indiretamente a pesticidas

Os 53 trabalhadores rurais expostos diretamente e indiretamente a pesticidas foram avaliados para detecção de danos no DNA. Para os três parâmetros do ensaio cometa investigados, o comprimento da cauda, momento da cauda de Olive e porcentagem de DNA na cauda não indicaram diferença de dano ao DNA entre o grupo exposto, comparados àqueles indivíduos expostos indiretamente ( $p > 0,05$ ; Tabela 1). Esses dados indicam que populações expostas indiretamente não diferem em relação à frequência de dano ao DNA quando comparadas a indivíduos que têm contato direto com pesticidas. Por outro lado, Godoy et al. (2019), que também investigaram populações de trabalhadores rurais expostos direta e indiretamente a agrotóxicos no estado de Goiás, observaram frequência significativa de dano nos indivíduos expostos. Estudo mais recente também indicaram efeitos genotóxicos de mistura complexa de pesticidas em agricultores no sudoeste goiano (RAMOS et al., 2021).

Embora não tenham sido comprovados nos dois grupos avaliados danos ao DNA, essa população está suscetível a intoxicações agudas e a lesões ao DNA ao longo do tempo. Verificou-se que o uso de equipamentos de Proteção Individual (EPIS), a implantação de programas de vigilância à saúde e as constantes campanhas de conscientização por parte da gestão das propriedades rurais onde esses trabalhadores estão empregados têm sido fundamentais para mitigação dos riscos e danos à saúde.

**Tabela 1:** Frequência de dano no DNA de acordo com os parâmetros do ensaio cometa. Teste t de Student.

Parâmetros do ensaio cometa	Média ± desvio padrão das exposições		Valor	
	Direta (n 28)	Indireta (n 25)	Teste t	p
Tail Length	22.09±14.71	16.12±13.56	t = 1.529	p = 0.132
Tail Moment Olive	2.82±1.98	1.82±1.18	t = 1.555	p = 0.126
%DNA	12.69±6.30	10.32±3.41	t = 1.673	p = 0.100

Diversos outros relatórios avaliando dano genotóxico em trabalhadores agrícolas brasileiros têm apontado um aumento significativo em lesões ao DNA (PEREIRA et al., 2018; MARCELINO et al., 2019). Essa genotoxicidade é considerada um fator de risco primário que desencadeará efeitos ao longo dos anos, como processos carcinogênicos, neurológicos e reprodutivos, devido a exposições frequentes. Desse modo, estudos dessa natureza são importantes no monitoramento de populações de risco como os trabalhadores rurais expostos ocupacionalmente. Os trabalhadores em cultura de soja estão cada vez mais expostos a uma grande combinação de agentes químicos presentes em formulações de fungicidas, herbicidas e inseticidas (BENEDETTI et al., 2013). Dessa forma, com base em nossos resultados, ainda são necessários novos trabalhos para discutir os impactos genotóxicos em trabalhadores agrícolas, principalmente, diante da crescente liberação de agrotóxicos agrícolas no Brasil.

### Estilo de vida dos participantes

Outras variáveis foram investigadas, tais como, o consumo de cigarro e consumo de álcool. Contudo, uma diferença na frequência de dano no DNA foi observada apenas entre o hábito do uso de álcool ( $p = 0.04$ ). Em outros estudos, o consumo de álcool também influenciou os níveis de dano

genotóxico (CUENCA et al., 2019). Quanto ao hábito de fumar, embora não tenha sido observada diferença entre os grupos, estudos já indicaram que fumantes apresentaram dano ao DNA significativamente maior que os não fumantes (BHALLI et al., 2009). Entretanto, considerando uma análise de agrupamento das variáveis de estilo de vida por meio do teste qui-quadrado, não foi observado diferença.

Para o uso de EPIs na população exposta, 92,86% (n = 26) citaram fazer uso e 7,14% (n = 2) não tinham a rotina de usar os equipamentos. Vários outros relatórios têm discutido a importância dessa variável para associar a exposição aos pesticidas e concomitantemente observar danos genotóxicos (GODOY et al., 2019; BERNIERI et al., 2020).

Utilizou-se a correlação entre a idade dos indivíduos e %DNA e, posteriormente avaliou-se sua significância para grupo de exposição direta ( $r = -0.2798$ ;  $p = 0.149$ ) e indireta ( $r = -0.095$ ;  $p = 0.650$ ), portanto, indicando não haver associações. Vale evidenciar que as populações tinham idade variando entre 18 e 57 anos. Para o tempo de atividades agrícolas, a população de exposição direta variou entre 1 ano e 41 anos de trabalho (média de 10 anos). Essas variáveis são importantes para evidenciar o tempo de contato com os xenobióticos agrícolas.

No estudo de Godoy et al. (2019), por exemplo, aquela população com danos elevados ao DNA tinha média de 15 anos de atividade agrícola, ou seja, cinco anos a mais que essa apresentada no presente estudo. Para Bhalli et al. (2009), o tempo de exposição a pesticidas está associado positivamente a danos no DNA em indivíduos expostos.

**Tabela 2:** Frequência da %DNA para o hábito de fumar e uso de bebidas alcoólicas. Teste t de Student entre exposição direta e indireta para cada variável isoladamente. Teste Qui-quadrado ( $\chi^2$ ) com agrupamento.

Estilo de vida	Média ± desvio padrão da exposição		Teste t	$\chi^2$
	Direta	Indireta		
Fumante				
Sim	11.95 ± 5.23	12.05 ± 4.42	$p = 0.07$	$p = 0.622$
Não	12.95 ± 6.59	9.78 ± 2.96	$p = 0.06$	
Consumo de álcool				
Sim	14.02 ± 6.23	10.35 ± 3.51	$p = 0.04$	$p = 0.444$
Não	8.71 ± 4.97	10.29 ± 3.45	$p = 0.43$	

Para uma comparação do gênero dos trabalhadores em relação do dano ao DNA, nossos participantes são predominantemente do sexo masculino nos grupos estudados, ou seja, exposição direta (93%, n = 26 homens, e 7% mulheres, n = 2) e exposição indireta (84%, n = 21 homens, e 16% mulheres, n = 4). Nesse sentido, inviabilizando uma comparação mais equânime, devido às baixas amostragens do sexo feminino. A razão de gênero tem sido comumente investigada, e Cayir et al. (2019), por exemplo, observaram maior frequência de dano ao DNA em mulheres trabalhadoras em área de uso de pesticidas quando comparadas a homens. Por outro lado, Intranuovo et al. (2018) observaram frequência de alguns fatores de confusão (sexo, idade e tabagismo) significativamente maior entre os trabalhadores expostos a pesticidas quando comparados ao grupo controle. Em contrapartida, Bernieri et al. (2019) não observaram diferença entre grupos de agricultores quanto à idade, tabagismo e ingestão de álcool.

Nesse prisma, uma das principais limitações deste estudo é o pequeno número de participantes. Esse viés corrobora com outros estudos dessa natureza (REMOR et al., 2009; SILVA et al., 2014; BERNIERI et

al., 2019; MARCELINO et al., 2019). A negativa dos donos das propriedades rurais para a entrada da equipe de pesquisadores para a coleta dos dados e sangue dos trabalhadores foi um dos principais fatores limitantes. Assim, mais estudos são encorajados de modo a ampliar dados de coleta e finalmente contribuir para elucidar os impactos dos agrotóxicos nas populações humanas.

## CONCLUSÃO

O estudo demonstrou que trabalhadores rurais com exposição direta a pesticidas no Sudoeste de Goiás não diferem em dano genotóxico daqueles expostos indiretamente. Para a análise dos fatores de confusão, somente a variável relacionada ao consumo de bebidas alcoólicas atrelada à exposição de pesticidas indicou aumento na frequência de lesão ao DNA, enquanto o tabagismo e idade dos participantes não mostraram aumento significativo. Finalmente, considerando o aumento crescente da liberação de agrotóxicos no Brasil, estudos caso-controle, bem como esses de exposição direta e indireta, são fortemente importantes, de modo a alavancar o reconhecimento do impacto das misturas complexas de pesticidas nos trabalhadores.

## REFERÊNCIAS

BENEDETTI, D.; NUNES, E.; SARMENTO, M.; PORTO, C.; SANTOS, C. E. I.; DIAS, J. F.; 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, n.1-2, p.28-33, 2013. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.mrgentox.2013.01.001>

BENEDETTI, D.; ALDERETE, B. L.; SOUZA, C. T.; DIAS, J. F.; NIEKRASZEWICZ, L.; CAPPETTA, M.; LOPEZ, W. M. SILVA, J.. DNA damage and epigenetic alteration in soybean farmer s exposed to complex mixture of pesticides. **Mutagenesis**, v.33, n.1, p.87-95, 2018. DOI: <https://doi.org/10.1093/mutage/gex035>

BERNIERI, T.; MORAES, M. F.; ARDENGHI, P. G.; SILVA, L. B.. Assessment of DNA damage and cholinesterase activity in soybean farmers in southern Brazil: high versus low pesticide exposure. **Journal of Environmental Science and Health, Part B**, v.55, n.4, p.355-360, 2020. DOI: <https://doi.org/10.1080/03601234.2019.1704608>

BORGES, R. E.; SANTOS, L. R. S.; ASSIS, R. A.; SOUZA, M. B.; BELUSSI, L. F.; OLIVEIRA, C.. Monitoring the morphological integrity of neotropical anurans. **Environmental Science and Pollution Research**, v.26, n.3, p.2623-2634, 2019. DOI: <https://doi.org/10.1002/em.20435>

BHALLI, J. A.; ALI, T.; ASI, M. R.; KHALID, Z. M.; CEPPI, M.; KHAN, Q. M.. DNA Damage in Pakistani Agricultural Workers Exposed to Mixture of Pesticides. **Environmental and Molecular Mutagenesis**, v.50, n.1, p.37-45, 2009. DOI: <https://doi.org/10.1002/em.20435>

CASTRO, T. F. D.; SOUZA, J. G. S.; CARVALHO, A. F. S.; ASSIS, I. L.; PALMIERI, M. J.; VIEIRA, L. F. A.; MARCUSSI, S.; MACHADO, M. R. F.; MURGAS, L.. 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. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.etap.2018.06.011>

CAYIR, A.; COSKUN, M.; COSKUN, M.; COBANOGU, H.. Comet assay for assessment of DNA damage in greenhouse workers exposed to pesticides. **Biomarkers**, v.24, n.6, p.592-599, 2019. DOI: <https://doi.org/10.1080/1354750x.2019.1610498>

CUENCA, J. B.; TIRADO, N.; BARRAL, J.; ALI, I.; LEVI, M.; STENIUS, U.; BERGLUND, M.; DREIJ, K.. Increased levels of genotoxic damage in a Bolivian agricultural population exposed to mixtures of pesticides. **Science of the Total Environment**, v.695, p.133-942, 2019. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2019.133942>

EMBRAPA. **Brasil é o quarto maior produtor de grãos e o maior exportador de carne bovina do mundo**. Brasília: Embrapa, 2021.

GAJSKI, G.; ŽEGURA, B.; LADEIRA, C.; NOVAK, M.; SRAMKOVA, M.; POURRUT, B.; DEL, B. O. C.; MILIC, M.; GUTZKOW, K. B.; COSTA, S.; DUSINSKA, M.; BRUNBORG, G.; COLLINS, A.. The comet assay in animal models: from bugs to whales - (Part 2 Vertebrates). **Mutation Research/Reviews in Mutation Research**, v.781, p.130-164, 2019. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.mrrev.2019.04.002>

VRHOVAC, V. G.; ZELJEZIC, D.. Cytogenetic monitoring of Croatia population occupationally exposed to a complex mixture of pesticides. **Toxicology**, v.165, n.2-3, p.153-162, 2001. DOI: [https://doi.org/10.1016/S0300-483X\(01\)00419-X](https://doi.org/10.1016/S0300-483X(01)00419-X)

GODOY, F. R.; NUNES, H. F.; ALVES, A. A.; CARVALHO, W. F.; FRANCO, F. C.; PEREIRA, R. R.; CRUZ, A. S.; SILVA, C. C.; BASTOS, R. P.; SILVA, D. D. M.. Increased DNA damage is not associated to polymorphisms in OGG1 DNA repair gene, CYP2E1 detoxification gene, and biochemical and hematological findings in soybeans farmers from Central Brazil. **Environmental Science and Pollution Research**, v.26,

n.26, p.26553-26562, 2019. DOI:

<https://doi.org/10.1007/s11356-019-05882-9>

GONÇALVES, M. W.; VIEIRA, T. B.; MACIEL, N. M.; CARVALHO, W. F.; LIMA, L. S. F.; GAMBALÉ, P. G.; CRUZ, A. D.; NOMURA, F.; BASTOS, R. P.; SILVA, D. M.. Detecting genomic damages in the frog *Dendropsophus minutus*: preserved versus perturbed areas. **Environmental Science and Pollution Research**, v.22, n.5, p.3947-3954, 2015. DOI: <https://doi.org/10.1007/s11356-014-3682-1>

INTRANUOVO, G.; SCHIAVULLI, N.; CAVONE, D.; BIRTOLO, F.; COCCO, P.; VIMERCATI, L.; MACINAGROSSA, L.; GIORDANO, A.; PERRONE, T.; INGRAVALLO, G.; MAZZA, P.; STRUSI, M.; SPINOSA, C.; SPECCHIA, G.; FERRI, G. M.. Assessment of DNA damages in lymphocytes of agricultural workers exposed to pesticides by comet assay in a cross-sectional study. **Biomarkers**, v.23, n.5, p.462-473, 2018. DOI: <https://doi.org/10.1080/1354750X.2018.1443513>

PEREIRA, C. H. J.; SANTOS, C. R.; MARASLIS, F. T.; PIMENTEL, L.; FEIJÓ, A. J. L.; SILVA, C. I.; MEDEIROS, G. D.; ZEFERINO, R. C.; PEDROSA, R. C.; MALUF, S. W.. Markers of genotoxicity and oxidative stress in farmers exposed to pesticides. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v.148, p.177-183, 2018. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2017.10.004>

JIA, K.; DING, L.; ZHANG, L.; ZHANG, M.; YI, M.; WU, Y.. In vitro assessment of environmental stress of persistent organic pollutants on the Indo-Pacific humpback dolphin. **Toxicology in Vitro**, v.30, n.1, p.529-535, 2015. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.tiv.2015.09.008>

KAHL, V. F. S.; SILVA, F. R.; ALVES, J. S.; SILVA, G. F.; PICININI, J.; DHILLON, V. S.; FENECH, M.; SOUZA, M. R.; DIAS, J. F.; SOUZA, C. T.; SALVADOR, M.; BRANCO, C. D.; THIESEN, F. V.; SIMON, D.; SILVA, J.. Role of PON1, SOD2, OGG1, XRCC1, on modulation of DNA damage in workers occupationally exposed to pesticides. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v.159, p.164-171, 2018. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2018.04.052>

KAHL, V. F. S.; DHILLON, V. S.; SIMON, D.; SILVA, F. R.; SALVADOR, M.; BRANCO, C. D. S.; CAPPETTA, M.; LOPEZ, W. M.; THIESEN, F. V.; DIAS, J. F.; SOUZA, C. T.; FENECH, M.; SILVA, J.. Chronic occupational exposure endured by tobacco farmers from Brazil and association with DNA damage. **Mutagenesis**, v.33, n.2, p.119-128, 2018. DOI: <https://doi.org/10.1093/mutage/gex045>

KAUR, R.; KAUR, S.; LATA, M.. Evaluation of DNA damage in agricultural workers exposed to pesticides using single cell gel electrophoresis (comet) assay. **Indian Journal of Human Genetics**, v.17, n.3, p.179, 2011. DOI: <https://doi.org/10.4103/0971-6866.92100>

KHAYAT, C. B.; COSTA, E. O. A.; GONÇALVES, M. W.; CUNHA, D. M. D. C.; CRUZ, A. S.; MELO, C. O. A.; BASTOS, R. P.; CRUZ,

A. D.; SILVA, D. D. M..

Assessment of DNA damage in Brazilian workers occupationally exposed to pesticides: a study from Central Brazil. **Environmental Science and Pollution Research**, v.20, n.10, p.7334-7340, 2013. DOI: <https://doi.org/10.1007/s11356-013-1747-1>

KÖHLER, H. R.; TRIEBSKORN, R.. Wildlife ecotoxicology of pesticides: can we track effects to the population level and beyond?. **Science**, v.341, n.6147, p.759-765, 2013.

MARCELINO, A. F.; WACHTEL, C. C.; GHISI, N. D. C.. Are Our Farm Workers in Danger? Genetic Damage in Farmers Exposed to Pesticides. **International Journal of Environmental Research and Public Health**, v.16, n.3, p.358, 2019. DOI: <https://doi.org/10.3390/ijerph16030358>

IGLESIAS, J. M. P.; BELUSSI, L. F.; NATALE, G. S.; OLIVEIRA, C.. Biomarkers at different levels of organisation after atrazine formulation (SIPTRAN 500SC®) exposure in *Rhinella schneideri* (Anura: Bufonidae) Neotropical tadpoles. **Environmental Pollution**, v.244, p.733-746, 2019. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2018.10.073>

PIGNATI, W. A.; LIMA, F. A. N. D. S.; LARA, S. S. D.; CORREA, M. L. M.; BARBOSA, J. R.; LEÃO, L. H. D. C.; PIGNATTI, M. G.. Distribuição espacial do uso de agrotóxicos no Brasil: uma ferramenta para a Vigilância em Saúde. **Ciência & Saúde Coletiva**, v.22, p.3281-3293, 2017. DOI: [https://doi.org/10.1016/0014-4827\(88\)90265-0](https://doi.org/10.1016/0014-4827(88)90265-0)

SINGH, N. P.; MCCOY, M. T.; TICE, R. R.; SCHNEIDER, E. L. A.. simple technique for quantitation of low levels of DNA damage in individual cells. **Experimental Cell Research**, v.175, n.1, p.184-191, 1988. DOI: [https://doi.org/10.1016/0014-4827\(88\)90265-0](https://doi.org/10.1016/0014-4827(88)90265-0)

RAMOS, J. S. A.; PEDROSO, T. M. A.; GODOY, F. R.; BATISTA, R. E.; ALMEIDA, F. B.; FRANCELIN, C.; RIBEIRO, F. L.; PARISE, M. M.; SILVA, D. D. M.. Multi-biomarker responses to pesticides in an agricultural population from Central Brazil. **Science of the Total Environment**, v.754, p.141893, 2021. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2020.141893>

REMOR, A. P.; TOTTI, C. C.; MOREIRA, D. A.; DUTRA, G. P.; HEUSER, V. D.; BOEIRA, J. M.. Occupational exposure of farm workers to pesticides: Biochemical parameters and evaluation of genotoxicity. **Environmental International**, v.35, n.2, p.273-278, 2009. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.envint.2008.06.011>

SILVA, F. R.; KVITKO, K.; ROHR, P.; ABREU, M. B.; THIESEN, F. V.; SILVA, J.. Genotoxic assessment in tobacco farmers at different crop times. **Science of The Total Environment**, v.490, p.334-341, 2014. DOI: <http://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2014.05.018>