

RESSALVA

Atendendo solicitação do(a) autor(a), o texto completo desta dissertação será disponibilizado somente a partir de 20/12/2025.



**UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA “JÚLIO
DE MESQUITA FILHO”
FACULDADE DE MEDICINA**

Lucas Roberto Ferreira Polido

**Efeitos do ácido 2,4-diclorofenoxiacético isolado e em
produto formulado nos parâmetros funcionais de
mitocôndrias hepáticas isoladas**

Dissertação apresentada à Faculdade de
Medicina, Universidade Estadual Paulista “Júlio
de Mesquita Filho”, Câmpus de Botucatu, para
obtenção do título de Mestre em Patologia.

Orientadora: Profa. Dra. Lílian Cristina Pereira

**Botucatu
2023**

Lucas Roberto Ferreira Polido

Efeitos do ácido 2,4-diclorofenoxiacético isolado e em
produto formulado nos parâmetros funcionais de
mitocôndrias hepáticas isoladas

Dissertação apresentada à Faculdade de
Medicina, Universidade Estadual Paulista
“Júlio de Mesquita Filho”, Câmpus de
Botucatu, para obtenção do título de
Mestre em Patologia.

Orientadora: Profa. Dra. Lílian Cristina Pereira

Botucatu
2023

FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA SEÇÃO TÉC. AQUIS. TRATAMENTO DA INFORM.
DIVISÃO TÉCNICA DE BIBLIOTECA E DOCUMENTAÇÃO - CÂMPUS DE BOTUCATU - UNESP
BIBLIOTECÁRIA RESPONSÁVEL: MARIA CAROLINA A. CRUZ E SANTOS-CRB 8/10188

Polido, Lucas Roberto Ferreira.

Efeitos do ácido 2,4-diclorofenoxiacético isolado e em produto formulado nos parâmetros funcionais de mitocôndrias hepáticas isoladas / Lucas Roberto Ferreira Polido. - Botucatu, 2023

Dissertação (mestrado) - Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho", Faculdade de Medicina de Botucatu

Orientador: Lílían Cristina Pereira

Capes: 40105008

1. Ácido 2,4-Diclorofenoxiacético. 2. Bioquímica. 3. Mitocôndrias. 4. Toxicologia.

Palavras-chave: 2,4-D; Bioquímica; Mitocôndrias; Toxicologia.

ATA DA DEFESA PÚBLICA DA DISSERTAÇÃO DE MESTRADO DE LUCAS ROBERTO FERREIRA POLIDO, DISCENTE DO PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM PATOLOGIA, DA FACULDADE DE MEDICINA.

Aos 20 dias do mês de dezembro do ano de 2023, às 09:30 horas, por meio de Videoconferência, realizou-se a defesa de DISSERTAÇÃO DE MESTRADO de LUCAS ROBERTO FERREIRA POLIDO, intitulada **Efeitos do ácido 2,4-diclorofenoxiacético isolado e em produto formulado nos parâmetros funcionais de mitocôndrias hepáticas isoladas**. A Comissão Examinadora foi constituída pelos seguintes membros: Profa. Dra. LÍLIAN CRISTINA PEREIRA (Orientador(a) - Participação Virtual) do(a) Depto. de Bioprocessos e Biotecnologia / FCA/Botucatu - Unesp, Prof. Dr. MARCOS ROBERTO DE OLIVEIRA (Participação Virtual) do(a) ICBS/Porto Alegre - UFRGS, Profa. Dra. LYVIA LINTZMAIER PETIZ (Participação Virtual) do(a) Depto. de Bioquímica e Biologia Molecular / Curitiba - UFPR. Após a exposição pelo mestrando e arguição pelos membros da Comissão Examinadora que participaram do ato, de forma presencial e/ou virtual, o discente recebeu o conceito final: APROVADO. Nada mais havendo, foi lavrada a presente ata, que após lida e aprovada, foi assinada pelo(a) Presidente(a) da Comissão Examinadora.

Profa. Dra. LÍLIAN CRISTINA PEREIRA

Impacto potencial desta pesquisa

Título: Efeitos do ácido 2,4-diclorofenoxiacético isolado e em produto formulado nos parâmetros funcionais de mitocôndrias hepáticas isoladas

Impacto científico esperado: Aprofundamento do conhecimento do potencial tóxico do herbicida ácido 2,4-diclorofenoxiacético (2,4-D) isolado, em comparação com a atividade de uma formulação comercial contendo 2,4-D, em mitocôndrias – organelas celulares.

Impacto social: A bioatividade de muitos herbicidas ainda não está completamente elucidada, bem como as diferenças entre as atividades dos ingredientes ativos e dos produtos formulados; portanto, novas abordagens metodológicas adicionam segurança à aplicação e à avaliação do risco destes produtos.

Impacto econômico: Por possuir baixo custo e boa eficácia, o 2,4-D é amplamente empregado na agricultura brasileira, tornando desejável o conhecimento de seus mecanismos íntimos de ação e de toxicidade.

Potential impact of this research

Title: Effects of 2,4-dichlorophenoxyacetic acid, isolated and in a formulated product, on the functional parameters of isolated rat liver mitochondria

Expected scientific impact: Deepening knowledge of the toxicity of the highly herbicide 2,4-dichlorophenoxyacetic acid (2,4-D), in comparison with the activity of a commercial formulation containing 2,4-D, in mitochondria – cell organelles.

Social impact: The bioactivity of several herbicides has not yet been completely elucidated, as well as the differences between the activities of active ingredients and formulated products; therefore, new methodological approaches add security to the application and risk assessment of these products.

Economic impact: Due to its low cost and good effectiveness, 2,4-D is widely used in Brazilian agriculture, making knowledge of its intimate mechanisms of action and toxicity desirable.

Dedicatória

À minha mãe

À “dona Denise”, razão para as atitudes tomadas em meus bons caminhos.

À minha família

Por me apoiarem, independentemente das muitas adversidades, sobrepujando as limitações e o sistema, apesar dos recursos limitados.

Aos meus amigos

Por pintarem a aquarela dos meus dias.

Agradecimentos

Agradeço à minha orientadora, doutora Lílian Cristina Pereira, antes pela aposta em meu potencial, e então pelos ensinamentos, pela compreensão, pelo apoio, pela oportunidade e pelo exemplo a ser seguido.

Agradeço ao doutor Danilo França por ter sido apoio em momentos difíceis. Nós somos o resultado da soma dos nossos esforços: as origens e os desafios não importam quando a vontade de vencer é maior.

Agradeço aos meus amigos, doutores Elaine Camargo e Tony Grassi, pela amizade, pela humanidade e pelo altruísmo que sempre demonstraram.

Agradeço aos ex-colegas do Centro de Farmacomетria e Análises Toxicológicas (CFAT), da Unesp de Araraquara, especialmente meus amigos Leonardo Pinto e Jonata Oliveira.

Agradeço aos meus amigos, incluindo, mas não se limitando a: Alessandra Carolina, Fernanda Paiva, Mariana Zampin, Murilo Pazin, Rafael Guilen e Renata Gerassi, pelo apoio e pelo importante papel cumprido em minha trajetória.

Agradeço ao técnico de laboratório, Paulo Roberto Cardoso, à professora Daisy Salvadori e aos funcionários e colaboradores da Faculdade de Medicina de Botucatu, com ênfase na Unidade de Pesquisa Experimental (Unipex), que direta ou indiretamente viabilizaram este trabalho.

Por fim, agradeço aos demais colegas e ex-colegas de laboratório pelo grande papel cumprido no meu crescimento, profissional e também pessoal.

Epígrafe

Kingdom of Heaven (A New Age Dawns - Part V)

Reino do Céu (Uma Nova Era Desponta - Parte V)



(IV. *Paragons of Perfection*)

(IV. Padrões de Perfeição)

[...]

[...]

*We are linked in every way
And we're strong as our weakest
fragment
Every word that we convey
Is an act with consequences*

Estamos ligados em todos os sentidos
E somos tão fortes quanto o nosso
fragmento mais fraco
Cada palavra que transmitimos
É um ato com consequências

(V. *The Harsh Return*)

(V. O Árduo Retorno)

*Light creates us all
Pride will make us fall
Life is meaningful
Life delights us all*

A luz cria a todos nós
O orgulho nos fará cair
A vida é significativa
A vida deleita a todos nós



Epica

Tradução livre. Álbum “*Design Your Universe*”, 2009

Resumo

A utilização de herbicidas tem aumentado substancialmente, devido ao papel significativo destes no desenvolvimento econômico do setor agrícola. Os herbicidas podem ser categorizados em diferentes classes, com diferentes mecanismos de ação e modos de toxicidade; os mimetizadores de auxina, por exemplo, possuem ação análoga às auxinas, fitormônios presentes nas células vegetais. Considerando que a mitocôndria é uma organela fundamental na manutenção de diversos processos biológicos, como equilíbrio energético e morte celular, este estudo objetiva investigar os mecanismos de toxicidade do ácido 2,4-diclorofenoxiacético (ácido 2,4-D), um mimetizador de auxinas e um dos herbicidas mais utilizados na agricultura, em mitocôndrias hepáticas isoladas. Para essa finalidade, foram avaliados efeitos relacionados à bioenergética e à estrutura de mitocôndrias hepáticas isoladas de ratos Wistar jovens, expostas *in vitro* às concentrações de 0,4 a 200 $\mu\text{mol/L}$ de ácido 2,4-D isolado e ao produto formulado DMA 806 BR em concentrações equivalentes de ácido 2,4-D. Essa faixa compreende concentrações encontradas no ambiente, para melhor compreensão da relevância ambiental; e altas concentrações, com o intuito de investigar a participação da mitocôndria no mecanismo de toxicidade desses compostos como evento-chave inicial (*key event*) em correlação com os desfechos finais (*outcome pathways*) descritos na literatura. Os resultados demonstraram que a exposição *in vitro* de mitocôndrias hepáticas isoladas a até 200 $\mu\text{mol/L}$ das substâncias testadas não induz a formação de espécies reativas de oxigênio ou nitrogênio e não oxida os nucleotídeos de piridina, além de não oxidar os grupos sulfidril das proteínas das membranas mitocondriais de maneira significativa, indicando ausência de desregulação redox ou de sobrecarga das defesas antioxidantes. A espectrofotometria indicou que não houve alteração na turbidez do meio contendo mitocôndrias isoladas após exposição, o que refletiria *swelling* mitocondrial; e essa observação foi corroborada pela análise das estruturas mitocondriais por microscopia eletrônica. A exposição às concentrações avaliadas não alterou os parâmetros de respiração mitocondrial – razão de controle respiratório (RCR), velocidade dos estados 3 e 4 (V_3 e V_4) e razão de ADP fosforilado por molécula de oxigênio consumida (ADP/O). No entanto, concentrações a partir de 100 $\mu\text{mol/L}$ do ácido 2,4-D isolado, superiores às geralmente encontradas no ambiente, foram capazes de dissipar o potencial de membrana e induzir o efluxo de cálcio em mitocôndrias isoladas; enquanto a exposição ao produto formulado testado foi capaz de fazê-lo a partir de 200 $\mu\text{mol/L}$. Nossa hipótese é a de que, para exposições a concentrações iguais ou superiores a 100 $\mu\text{mol/L}$, os efeitos toxicológicos iniciais do ácido 2,4-D nas mitocôndrias isoladas são interações químicas com as membranas mitocondriais, considerando a presença de funções importantes como o grupo ácido carboxílico, que o torna quimicamente semelhante a muitos ácidos graxos naturais, que são componentes das membranas lipídicas; e como os átomos de cloro presentes no anel, que contribuem para a polaridade e eletronegatividade da molécula e podem interagir com elementos de membrana, como os fosfatos. Os mecanismos de toxicidade do ácido 2,4-D e os efeitos de suas formulações devem ser investigados em outros modelos experimentais, para elucidar os principais eventos toxicológicos.

Palavras-chave: 2,4-D; Mitocôndrias; Toxicologia.

Resumo acessível

O uso de produtos para controlar pragas tem aumentado bastante porque eles são muito importantes para a agricultura do Brasil. Esses produtos ajudam a ter mais alimentos nas plantações e protegem as plantas, mas também podem ser perigosos para o ambiente e para a saúde das pessoas se não forem usados corretamente. Os cientistas fazem testes em animais e em outros seres vivos para entender o quanto esses produtos são perigosos. Nós estamos estudando um produto químico chamado “ácido 2,4-diclorofenoxiacético”, ou “2,4-D”, que é usado nas plantações no Brasil para combater ervas daninhas. Queremos saber como esse produto afeta uma parte muito importante das células, chamada mitocôndria, que faz com que as células tenham energia para funcionar. Testamos esse produto diretamente em mitocôndrias de ratos e encontramos alguns efeitos: quando usamos quantidades altas do produto, a mitocôndria perde algumas funções importantes. Também, o efeito pode ser diferente se for usado o produto sozinho, em vez de misturado com outros componentes, como acontece quando é feita a compra para aplicação. Este estudo serve para ajudar a garantir que os produtos que usamos sejam seguros para as pessoas, para os animais e para o ambiente.

Abstract

The use of herbicides has increased substantially, due to their significant role in the economic development of the agricultural sector. Herbicides can be categorized into different classes, with different mechanisms of action and modes of toxicity; synthetic auxins, for example, may act as auxins, phytohormones present in plant cells. Considering that mitochondria is an organelle fundamental to the maintenance of several biological processes, such as energy balance and cell death, this study aims to investigate the toxicity mechanisms of 2,4-dichlorophenoxyacetic acid (2,4-D), a synthetic auxin and one of the most widely used herbicides in agriculture, in isolated liver mitochondria. For this purpose, effects related to bioenergetics and the structure of hepatic mitochondria, isolated from young Wistar rats and exposed in vitro to concentrations of 0.4 to 200 μM of isolated 2,4-D and to the formulated product DMA 806 BR in equivalent concentrations of 2,4-D were evaluated. This range of doses comprises concentrations already found in the environment, for a better understanding of environmental relevance; and high concentrations, aiming to investigate the role of mitochondria in the toxicity mechanism of these compounds as a key event, correlating with the final outcome pathways described in the literature. The results show that in vitro exposure of isolated liver mitochondria to up to 200 μM of the tested substances does not induce the formation of reactive oxygen or nitrogen species and does not oxidize pyridine nucleotides, in addition to not oxidizing the sulfhydryl groups of mitochondrial membrane proteins significantly, indicating the absence of redox dysregulation or overload of antioxidant defenses. Spectrophotometry experiments indicated that there was no change in the turbidity of the medium containing isolated mitochondria after exposure, which would reflect mitochondrial swelling; and this observation was corroborated by the analysis of mitochondrial structures by transmission electron microscopy. Additionally, exposure to the evaluated concentrations did not alter mitochondrial respiration parameters – respiratory control ratio (RCR), speed of states 3 and 4 (S3 and S4) and phosphorylated ADP per oxygen molecule consumed ratio (ADP/O). However, concentrations from 100 μM of isolated 2,4-D, higher than those generally found in the environment, were able to dissipate the membrane potential and to induce calcium efflux in isolated mitochondria; while exposure to the tested formulated product was able to do so from 200 μM . Our hypothesis is that, for exposures to concentrations equal to or greater than 100 μM , the initial toxicological effects of 2,4-D on isolated mitochondria are chemical interactions with mitochondrial membranes, considering the presence of important chemical functions such as the carboxyl, which makes it chemically similar to many natural fatty acids, components of lipid membranes; and such as the chlorine atoms present in the ring, which contribute to the polarity and electronegativity of the molecule and can interact with membrane elements, such as phosphates. The toxicity mechanisms of 2,4-D and the effects of its formulations should be further investigated in other experimental models to elucidate the main toxicological events.

Keywords: 2,4-D; Mitochondria; Toxicology.

Lista de ilustrações

Capítulo 1: Revisão da literatura

Figura 1 - Países que mais utilizaram praguicidas na agricultura em 2020, em milhares de toneladas.....	19
Figura 2 - Estrutura molecular do ácido indolacético	20
Figura 3 - Mecanismo molecular de ação das auxinas	22
Figura 4 - Estrutura molecular do ácido 2,4-diclorofenoxiacético	23
Figura 5 - Potencial desacoplador de ácidos fenoxiacéticos.....	27
Figura 6 - Estrutura básica de uma mitocôndria	28
Figura 7 - Esquematisação da fosforilação oxidativa	31

Capítulo 2: Artigo científico

Figure 1 - Formation and accumulation of RONS in isolated mitochondria after exposure to isolated and formulated 2,4-D	52
Figure 2 - NAD(P)H levels in isolated mitochondria after exposure to isolated and formulated 2,4-D	53
Figure 3 - Effects on the oxidation of sulfhydryl groups of mitochondrial proteins exposed to isolated and formulated 2,4-D	54
Figure 4 - Analysis of the membrane potential of mitochondria exposed to isolated and formulated 2,4-D	55
Figure 5 - Analysis of calcium movement in mitochondria exposed to isolated and formulated 2,4-D.....	56
Figure 6 - Assessment of swelling of mitochondria exposed to isolated and formulated 2,4-D by spectrophotometry	57
Figure 7 - Structural analysis of mitochondria exposed to the isolated and the formulated product containing 2,4-D by Transmission Electron Microscopy ...	58
Figure 8 - Oxygen consumption by isolated mitochondria exposed to 2,4-D	59
Figure 9 - Oxygen consumption by isolated mitochondria exposed to formulated 2,4-D	60
Figure 10 - Respiratory parameters of isolated mitochondria after exposure to 2,4-D	61

Figure 11 - Respiratory parameters of isolated mitochondria exposed to the formulated product containing 2,4-D.....	62
Figure 13 - Summary of results observed after exposure of isolated mitochondria to isolated and formulated 2,4-D	68

Lista de abreviaturas e siglas

2,4,5-PT: ácido 2-(2,4,5-triclorofenoxi)propiónico

2,4,5-T: ácido 2,4,5-triclorofenoxiacético

2,4-D: (ácido) 2,4-diclorofenoxiacético

Acetil-CoA: acetilcoenzima A

ADP/O: razão de ADP fosforilado/oxigênio reduzido

ADP: difosfato de adenosina

ANOVA: análise de variância

AREs: elementos de resposta a auxina, do inglês *Auxin Response Elements*

ARFs: fatores de resposta à auxina, do inglês *Auxin Response Factors*

ATP: adenosina trifosfato

Aux/IAA: auxina/ácido indolacético

CaCl₂: cloreto de cálcio

CAS RN: número de registro no Serviço de Resumos Químicos (*Chemical Abstracts Service Registry Number*)

CCCP: carbonilcianeto m-clorofenil-hidrazona

CEMIB: Centro Multidisciplinar para Investigação Biológica

CETESB: Companhia Ambiental do Estado de São Paulo

CEUA: Comissão de Ética no Uso de Animais

Cl: cloro

CL₅₀: Concentração Letal mediana

CME: Centro de Microscopia Eletrônica

COOH: carboxila

DCF: diclorofluoresceína

DCFDA: diacetato de diclorodi-hidrofluoresceína

DCFH: diclorodi-hidrofluoresceína

DMSO: dimetilsulfóxido

DNA: ácido desoxirribonucleico

DNAmt: DNA mitocondrial

DTNB: ácido 5,5'-ditio-bis-2-nitrobenzoico

EGTA: ácido etilenoglicol bis(2-aminoetil éter)-N,N,N',N'-tetra-acético

ERONs: Espécies Reativas de Oxigênio e Nitrogênio

EROs: Espécies Reativas de Oxigênio

EUA: Estados Unidos da América

FADH₂: dinucleotídeo de flavina e adenina reduzido

FMB: Faculdade de Medicina de Botucatu

H⁺: íon de hidrogênio

H₂DCFDA: diacetato de 2',7'-diclorodi-hidrofluoresceína

H₂O₂: peróxido de hidrogênio

HEPES: ácido 4-(2-hidroxietil)-1-piperazinoetanossulfônico

IAA: ácido indolacético, do inglês *indol-3-acetic acid*

IARC: Agência Internacional para a Pesquisa em Câncer, do inglês *International Agency for Research on Cancer*

KOH: hidróxido de potássio

MCPA: ácido 4-cloro-2-metilfenoxiacético

MET: Microscopia Eletrônica de Transmissão

NAD(P)⁺: nucleotídeo de piridina oxidado

NAD(P)H: nucleotídeo de piridina reduzido

NADH: dinucleotídeo de nicotinamida e adenina reduzido

NO: óxido nítrico

O₂: oxigênio molecular

O₂^{•-}: íons superóxido

ONOO⁻: peroxinitrito

ONU: Organização das Nações Unidas

Pi: fosfato inorgânico

PTPM: poro(s) de transição da permeabilidade mitocondrial

q.s.p.: quantidade suficiente para

RCR: razão de controle respiratório, do inglês *Respiratory Control Ratio*

RNA: ácido ribonucleico

SIPE: Sistema de Informação de Pesquisa e Experimentação

SOD: superóxido dismutase

SP: São Paulo

TCA: ácido tricloroacético

TIR1/AFB: complexo proteico de Resposta ao Inibidor de Transporte 1/F-Box de Sinalização de Auxina, do inglês *Transport Inhibitor Response 1/Auxin Signaling F-Box*

TOXICAM: Núcleo de Avaliação do Impacto Ambiental sobre a Saúde Humana

Unesp: Universidade Estadual Paulista

Unicamp: Universidade Estadual de Campinas

Sumário

Capítulo 1: Revisão da literatura

Revisão da literatura	18
A importância dos praguicidas para a agricultura	18
Herbicidas mimetizadores de auxinas	20
O ácido 2,4-diclorofenoxiacético	22
As mitocôndrias como importantes indicadores em Toxicologia	28
Referências bibliográficas	34

Capítulo 2: Artigo científico

1 Introduction	43
2 Materials and methods.....	45
2.1 Materials, mitochondrial isolation and data processing	45
2.1.1 Samples.....	45
2.1.2 Animals.....	45
2.1.3 Mitochondrial isolation	46
2.1.4 Dosage of mitochondrial proteins	47
2.1.5 Statistical analysis	47
2.2 Experimental procedures	47
2.2.1 Formation of reactive oxygen and nitrogen species.....	47
2.2.2 Assessment of the redox state of pyridine nucleotides	48
2.2.3 Mitochondrial levels of protein sulfhydryl groups	48
2.2.4 Mitochondrial membrane potential.....	49
2.2.5 Calcium efflux	49
2.2.6 Mitochondrial swelling.....	50
2.2.7 Structural analysis of mitochondria	50
2.2.8 Mitochondrial respiration.....	51

3 Results.....	51
4 Discussion	62
5 Conclusions	69
Conflicts of interest	69
References	70
Conclusão	77
Anexo: Certificado de aprovação pelo CEUA.....	78

Capítulo 1: Revisão da literatura

Revisão da literatura

A importância dos praguicidas para a agricultura

A população humana, estimada em mais de 8 bilhões de pessoas em 2023, continua a crescer. De acordo com projeções da Organização das Nações Unidas (ONU), seremos cerca de 8,5 bilhões de pessoas em 2030, e 9,7 bilhões em 2050 (1). Esses dados descrevem um cenário de preocupação quanto à insegurança alimentar, que demanda a criação e o melhoramento de estratégias de produção, estabilidade e disponibilidade de alimentos (2). O aumento da produtividade da agricultura é uma das possíveis intervenções e, nesse contexto, o manejo eficaz de pragas se faz essencial – considerando que entre 20% a 40% da produção agrícola mundial pode ser perdida anualmente devido à ação de pragas (3). Em países tropicais, como o Brasil, as perdas na agricultura são ainda mais preocupantes, uma vez que suas condições de temperatura e umidade favorecem o crescimento e o desenvolvimento dos mais variados tipos de infestação (4).

Uma das principais ferramentas de controle desses organismos é o uso de praguicidas, substâncias aplicadas intencionalmente ao ambiente para eliminar determinados organismos vivos. Alguns exemplos de praguicidas são os herbicidas, que controlam o crescimento de ervas daninhas; os inseticidas, que controlam a população de insetos; e os fungicidas, para controle de fungos (5). Segundo dados da FAO, em 2020, os Estados Unidos da América (EUA) lideravam o *ranking* de maiores utilizadores de praguicidas, com 408 mil toneladas de praguicidas aplicados na agricultura (figura 1). A seguir, em ordem decrescente, estavam o Brasil (377 mil toneladas), China (273 mil toneladas), Argentina (241 mil toneladas), Rússia (91 mil toneladas) e Canadá (79 mil toneladas) (6).

Referências bibliográficas

1. United Nations. World Population Prospects 2022 Summary of Results [Internet]. 2022 [citado 4 de fevereiro de 2023]. Disponível em: <https://www.un.org/development/desa/pd/content/World-Population-Prospects-2022>
2. Food and Agriculture Organization. How to Feed the World in 2050 [Internet]. 2009 [citado 14 de novembro de 2023]. Disponível em: https://www.fao.org/fileadmin/templates/wsfs/docs/expert_paper/How_to_Feed_the_World_in_2050.pdf
3. Unites States National Institute of Food and Agriculture. Researchers Helping Protect Crops From Pests | National Institute of Food and Agriculture [Internet]. 2023 [citado 11 de outubro de 2023]. Disponível em: <https://www.nifa.usda.gov/about-nifa/blogs/researchers-helping-protect-crops-pests>
4. Abhilash PC, Singh N. Pesticide use and application: An Indian scenario. J Hazard Mater. 15 de junho de 2009;165(1–3):1–12.
5. Kim KH, Kabir E, Jahan SA. Exposure to pesticides and the associated human health effects. Science of the Total Environment [Internet]. 2017;575:525–35. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.scitotenv.2016.09.009>
6. Food and Agriculture Organization. Pesticides use, pesticides trade and pesticides indicators [Internet]. 2022 [citado 11 de outubro de 2023]. Disponível em: <https://www.fao.org/documents/card/en?details=cc0918en>
7. Duke SO. The history and current status of glyphosate. Pest Manag Sci [Internet]. 1º de maio de 2018 [citado 10 de junho de 2023];74(5):1027–34. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/28643882/>
8. Devendar P, Yang GF. Sulfur-Containing Agrochemicals. Top Curr Chem (Cham) [Internet]. 1º de dezembro de 2017 [citado 10 de junho de 2023];375(6). Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/28993992/>

9. Müller F, Applebyki AP. Weed Control, 2. Individual Herbicides. Ullmann's Encyclopedia of Industrial Chemistry [Internet]. 15 de outubro de 2011 [citado 10 de junho de 2023]; Disponível em: https://onlinelibrary.wiley.com/doi/full/10.1002/14356007.o28_o01
10. Paque S, Weijers D. Q&A: Auxin: The plant molecule that influences almost anything. BMC Biol [Internet]. 10 de agosto de 2016 [citado 19 de fevereiro de 2023];14(1):1–5. Disponível em: <https://bmcbiol.biomedcentral.com/articles/10.1186/s12915-016-0291-0>
11. DrugBank. Indoleacetic acid: Uses, Interactions, Mechanism of Action | DrugBank Online [Internet]. 2022 [citado 17 de junho de 2023]. Disponível em: <https://go.drugbank.com/drugs/DB07950>
12. Torii KU, Hagihara S, Uchida N, Takahashi K. Harnessing synthetic chemistry to probe and hijack auxin signaling. New Phytologist [Internet]. 1º de outubro de 2018 [citado 19 de fevereiro de 2023];220(2):417–24. Disponível em: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/full/10.1111/nph.15337>
13. Farrimond JA, Elliott MC, Clack DW. Charge separation as a component of the structural requirements for hormone activity. Nature [Internet]. 1978 [citado 19 de fevereiro de 2023];274(5669):401–2. Disponível em: <https://www.nature.com/articles/274401a0>
14. Ferro N, Bredow T, Jacobsen HJ, Reinard T. Route to novel auxin: Auxin chemical space toward biological correlation carriers. Chem Rev [Internet]. 11 de agosto de 2010 [citado 19 de fevereiro de 2023];110(8):4690–708. Disponível em: <https://pubs.acs.org/doi/abs/10.1021/cr800229s>
15. Grossmann K. Auxin herbicides: current status of mechanism and mode of action. Pest Manag Sci [Internet]. fevereiro de 2010 [citado 19 de fevereiro de 2023];66(2):113–20. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/19823992/>
16. Woodward AW, Bartel B. Auxin: regulation, action, and interaction. Ann Bot [Internet]. 2005 [citado 10 de junho de 2023];95(5):707–35. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/15749753/>

17. Quareshy M, Prusinska J, Li J, Napier R. A cheminformatics review of auxins as herbicides. *J Exp Bot* [Internet]. 4 de janeiro de 2018 [citado 19 de fevereiro de 2023];69(2):265–75. Disponível em: <https://academic.oup.com/jxb/article/69/2/265/4106940>
18. Instituto Brasileiro do Meio Ambiente e dos Recursos Naturais Renováveis. Painéis de informações de agrotóxicos [Internet]. 2022 [citado 10 de junho de 2023]. Disponível em: <https://www.gov.br/ibama/pt-br/assuntos/quimicos-e-biologicos/agrotoxicos/paineis-de-informacoes-de-agrotoxicos/paineis-de-informacoes-de-agrotoxicos>
19. Kennepohl E, Munro IC, Bus JS. Phenoxy Herbicides (2,4-D). *Hayes' Handbook of Pesticide Toxicology*. 1º de janeiro de 2010;1:1829–47.
20. International Agency for Research on Cancer. 2,4-Dichlorophenoxyacetic Acid IARC Monograph. 2018 [citado 10 de junho de 2023]; Disponível em: <https://monographs.iarc.who.int/wp-content/uploads/2018/07/mono113-03.pdf>
21. ChemicalBook. 2,4-Dichlorophenoxyacetic acid | 94-75-7 [Internet]. 2023 [citado 17 de junho de 2023]. Disponível em: https://www.chemicalbook.com/ChemicalProductProperty_EN_CB8762041.htm
22. PubChem. 2,4-Dichlorophenoxyacetic acid | C₈H₆Cl₂O₃ | CID 1486 - PubChem [Internet]. 2023 [citado 24 de junho de 2023]. Disponível em: <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/1486>
23. PubChem. Indole-3-acetic acid | C₁₀H₉NO₂ | CID 802 [Internet]. 2023 [citado 24 de junho de 2023]. Disponível em: <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/802>
24. National Pesticide Information Center. 2,4-D Technical Fact Sheet [Internet]. 2008 [citado 10 de junho de 2023]. Disponível em: <http://npic.orst.edu/factsheets/archive/2,4-DTech.html>
25. Song Y, Cheng Y. Insight into the mode of action of 2,4-dichlorophenoxyacetic acid (2,4-D) as an herbicide. *J Integr Plant Biol* [Internet]. 1º de fevereiro de 2014 [citado 10 de junho de 2023];56(2):106–13. Disponível em: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/full/10.1111/jipb.12131>

26. Moreira RA, Rocha GS, da Silva LCM, Goulart BV, Montagner CC, Melão M da GG, et al. Exposure to environmental concentrations of fipronil and 2,4-D mixtures causes physiological, morphological and biochemical changes in *Raphidocelis subcapitata*. *Ecotoxicol Environ Saf*. 15 de dezembro de 2020;206:111180.
27. Waters. Determination of Acidic Herbicides in Water Using Liquid Chromatography-Tandem Quadrupole Mass Spectrometry | Waters [Internet]. 2018 [citado 30 de junho de 2023]. Disponível em: <https://www.waters.com/nextgen/in/en/library/application-notes/2018/acidic-herbicides-water-liquid-chromatography-tandem-quadrupole-mass-spectrometry.html>
28. Government of Canada. 2,4-dichlorophenoxyacetic acid (2,4-D) in drinking water: Guideline technical document for public consultation - Canada.ca [Internet]. 2020 [citado 30 de junho de 2023]. Disponível em: <https://www.canada.ca/en/health-canada/programs/consultation-review-guideline-technical-document-2-4-d-drinking-water/document.html>
29. Minnesota Department of Agriculture. Health Risk Assessment Unit 2,4-D and Drinking Water. 2016 [citado 30 de junho de 2023]; Disponível em: <http://www.mda.state.mn.us/chemicals/pesticides/useandsales.aspx>
30. Brasil. Portaria GM/MS nº 888, de 4 de maio de 2021 [Internet]. maio 4, 2021. Disponível em: https://bvsms.saude.gov.br/bvs/saudelegis/gm/2021/prt0888_07_05_2021.html
31. de Castro Lima JAM, Labanowski J, Bastos MC, Zanella R, Prestes OD, de Vargas JPR, et al. “Modern agriculture” transfers many pesticides to watercourses: a case study of a representative rural catchment of southern Brazil. *Environmental Science and Pollution Research* [Internet]. 1º de abril de 2020 [citado 17 de junho de 2023];27(10):10581–98. Disponível em: <https://link.springer.com/article/10.1007/s11356-019-06550-8>
32. Companhia Ambiental do Estado de São Paulo. Publicações e Relatórios – Águas Interiores » Águas Interiores [Internet]. 2017 [citado 30 de junho de 2023].

Disponível em: <https://cetesb.sp.gov.br/aguas-interiores/publicacoes-e-relatorios/>

33. 24D.org. 2,4-D | Selective Herbicide | Protects Crops & Infrastructure [Internet]. [citado 11 de outubro de 2023]. Disponível em: <https://24d.org/>
34. Martins RX, Vieira L, Souza JACR, Silva MGF, Muniz MS, Souza T, et al. Exposure to 2,4-D herbicide induces hepatotoxicity in zebrafish larvae. *Comparative Biochemistry and Physiology Part C: Toxicology & Pharmacology*. 1º de outubro de 2021;248:109110.
35. Troudi A, Ben Amara I, Samet AM, Zeghal N. Oxidative stress induced by 2,4-phenoxyacetic acid in liver of female rats and their progeny: Biochemical and histopathological studies. *Environ Toxicol* [Internet]. 1º de março de 2012 [citado 16 de junho de 2023];27(3):137–45. Disponível em: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/full/10.1002/tox.20624>
36. Bueno Franco Salla G, Bracht L, Valderrama Parizotto A, Comar JF, Peralta RM, Bracht F, et al. Kinetics of the metabolic effects, distribution spaces and lipid-bilayer affinities of the organo-chlorinated herbicides 2,4-D and picloram in the liver. *Toxicol Lett*. 1º de outubro de 2019;313:137–49.
37. Ganguli A, Choudhury D, Chakrabarti G. 2,4-Dichlorophenoxyacetic acid induced toxicity in lung cells by disruption of the tubulin-microtubule network. *Toxicol Res (Camb)* [Internet]. 11 de fevereiro de 2014 [citado 17 de junho de 2023];3(2):118–30. Disponível em: <https://pubs.rsc.org/en/content/articlehtml/2014/tx/c3tx50082a>
38. Islam F, Wang J, Farooq MA, Khan MSS, Xu L, Zhu J, et al. Potential impact of the herbicide 2,4-dichlorophenoxyacetic acid on human and ecosystems. *Environ Int*. 1º de fevereiro de 2018;111:332–51.
39. Zychlinski L, Zolnierowicz S. Comparison of uncoupling activities of chlorophenoxy herbicides in rat liver mitochondria. *Toxicol Lett*. 1º de junho de 1990;52(1):25–34.

40. Palmeira CM, Moreno AJ, Madeira VMC. Interactions of Herbicides 2,4-D and Dinoseb with Liver Mitochondrial Bioenergetics. *Toxicol Appl Pharmacol*. 1º de julho de 1994;127(1):50–7.
41. de Oliveira B, Pereira LC, Pazin M, Franco-Bernanrdes MF, Dorta DJ. Do trifluralin and tebuthiuron impair isolated rat liver mitochondria? *Pestic Biochem Physiol*. 1º de fevereiro de 2020;163:175–84.
42. Pereira LC. Mitocôndria como Alvo para avaliação de toxicidade de xenobiótico [Internet]. 2012 [citado 17 de junho de 2023]. Disponível em: https://www.researchgate.net/publication/279912311_Mitochondria_como_Alvo_para_avaliacao_de_toxicidade_de_xenobiotico
43. Freya TG, Mannellab CA. The internal structure of mitochondria. *Trends Biochem Sci* [Internet]. 1º de julho de 2000 [citado 24 de junho de 2023];25(7):319–24. Disponível em: <http://www.cell.com/article/S0968000400016091/fulltext>
44. Scitable. Contents of Cell Biology for Seminars | Learn Science at Scitable [Internet]. 2014 [citado 24 de junho de 2023]. Disponível em: <https://www.nature.com/scitable/ebooks/cell-biology-for-seminars-14760004/129391449/>
45. Alberts B, Johnson A, Lewis J, Raff M, Roberts K, Walter P. The Mitochondrion. 2002 [citado 24 de junho de 2023]; Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK26894/>
46. Zhang P, Konja D, Zhang Y, Wang Y. Communications between Mitochondria and Endoplasmic Reticulum in the Regulation of Metabolic Homeostasis. *Cells* [Internet]. 25 de agosto de 2021 [citado 24 de junho de 2023];10(9):2195. Disponível em: <https://www.mdpi.com/2073-4409/10/9/2195/htm>
47. Pinton P, Romagnoli A, Rizzuto R, Giorgi C. Ca²⁺ Signaling, Mitochondria and Cell Death. *Curr Mol Med*. 4 de março de 2008;8(2):119–30.
48. Wang C, Youle RJ. The Role of Mitochondria in Apoptosis. *Annual Reviews* [Internet]. 17 de novembro de 2009 [citado 24 de junho de 2023];43:95–118.

Disponível em: <https://www.annualreviews.org/doi/abs/10.1146/annurev-genet-102108-134850>

49. Herrmann JM, Riemer J. The Intermembrane Space of Mitochondria. *Antioxid Redox Signal* [Internet]. 21 de setembro de 2010 [citado 24 de junho de 2023];13(9):1341–58. Disponível em: <https://www.liebertpub.com/doi/10.1089/ars.2009.3063>
50. Sousa JS, D’Imprima E, Vonck J. Mitochondrial respiratory chain complexes. *Subcell Biochem* [Internet]. 2018 [citado 24 de junho de 2023];87:167–227. Disponível em: https://link.springer.com/chapter/10.1007/978-981-10-7757-9_7
51. Nolfi-Donagan D, Braganza A, Shiva S. Mitochondrial electron transport chain: Oxidative phosphorylation, oxidant production, and methods of measurement. *Redox Biol*. 1º de outubro de 2020;37:101674.
52. Roubicek DA, de Souza-Pinto NC. Mitochondria and mitochondrial DNA as relevant targets for environmental contaminants. *Toxicology*. 1º de novembro de 2017;391:100–8.
53. Frantz MC, Wipf P. Mitochondria as a target in treatment. *Environ Mol Mutagen* [Internet]. 1º de junho de 2010 [citado 17 de junho de 2023];51(5):462–75. Disponível em: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/full/10.1002/em.20554>
54. Hayyan M, Hashim MA, Alnashef IM. Superoxide Ion: Generation and Chemical Implications. *Chem Rev* [Internet]. 9 de março de 2016 [citado 11 de outubro de 2023];116(5):3029–85. Disponível em: <https://pubs.acs.org/doi/full/10.1021/acs.chemrev.5b00407>
55. Liu S Sen. Generating, Partitioning, Targeting and Functioning of Superoxide in Mitochondria. *Biosci Rep* [Internet]. 1º de junho de 1997 [citado 11 de outubro de 2023];17(3):259–72. Disponível em: </bioscirep/article/17/3/259/54070/Generating-Partitioning-Targeting-and-Functioning>
56. Brown GC, Borutaite V. Inhibition of mitochondrial respiratory complex I by nitric oxide, peroxynitrite and S-nitrosothiols. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Bioenergetics*. 23 de julho de 2004;1658(1–2):44–9.

57. Murphy MP. How mitochondria produce reactive oxygen species. *Biochemical Journal* [Internet]. 1º de janeiro de 2009 [citado 24 de junho de 2023];417(Pt 1):1. Disponível em: [/pmc/articles/PMC2605959/](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/19249233/)
58. Edmondson D. Hydrogen Peroxide Produced by Mitochondrial Monoamine Oxidase Catalysis: Biological Implications. *Curr Pharm Des*. 21 de janeiro de 2014;20(2):155–60.
59. Sun N, Youle RJ, Finkel T. The Mitochondrial Basis of Aging. *Mol Cell* [Internet]. 3 de março de 2016 [citado 24 de junho de 2023];61(5):654. Disponível em: [/pmc/articles/PMC4779179/](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/26828111/)
60. Li Y, Couch L, Higuchi M, Fang JL, Guo L. Mitochondrial Dysfunction Induced by Sertraline, an Antidepressant Agent. *Toxicological Sciences* [Internet]. 1º de junho de 2012 [citado 17 de junho de 2023];127(2):582–91. Disponível em: [https://dx.doi.org/10.1093/toxsci/kfs100](https://doi.org/10.1093/toxsci/kfs100)
61. Zhu J, Wang KZQ, Chu CT. After the banquet: Mitochondrial biogenesis, mitophagy, and cell survival. *Autophagy* [Internet]. 2013 [citado 17 de junho de 2023];9(11):1663–76. Disponível em: <https://www.tandfonline.com/doi/abs/10.4161/auto.24135>
62. Pereira LC, De Souza AO, Dorta DJ. Polybrominated Diphenyl Ether Congener (BDE-100) Induces Mitochondrial Impairment. *Basic Clin Pharmacol Toxicol* [Internet]. 1º de junho de 2013 [citado 17 de junho de 2023];112(6):418–24. Disponível em: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/full/10.1111/bcpt.12046>