

EFEITO MUTAGÊNICO DE BAIXA DOSE DE ULTRAVIOLETA NO SISTEMA *methG1* EM *Aspergillus nidulans*

Nairde Freitas Palioto¹
Graciana Freitas Palioto²
Carmem Lúcia de Mello Sartori Cardoso da Rocha¹

PALITO, N. F.; PALITO, G. F.; ROCHA, C. L. M. S. C. Efeito mutagênico de baixa dose de ultravioleta no sistema *methG1* em *Aspergillus nidulans*. *Arq. Ciênc. Saúde UNIPAR*, Umuarama, v. 14, n. 1, p. 49-54 jan./abr. 2010.

RESUMO: O câncer atualmente é um dos problemas mais comuns e graves. Esse grupo de doenças caracteriza-se pela formação de tumores malignos, em decorrência de mutações em genes responsáveis pelo controle da proliferação e diferenciação celular. Assim, os agentes mutagênicos são potencialmente carcinogênicos. Entre os agentes cancerígenos mais conhecidos está a radiação ultravioleta, por ser um conhecido fator de risco para câncer de pele. Neste sentido, o objetivo do presente trabalho foi analisar o potencial mutagênico de baixas doses de ultravioleta no sistema *methG1*. Para isto, foram tratados esporos da linhagem *biA1methG1* de *Aspergillus nidulans* com um segundo de exposição à luz ultravioleta. Os resultados mostraram que, mesmo em dose mínima, este agente é capaz de causar danos ao genoma, diminuindo a viabilidade e aumentando significativamente a frequência de mutação, quando comparadas aos valores do controle (esporos não expostos ao tratamento). Estes resultados corroboram com a importância dos cuidados preventivos e de restrição à exposição demasiada a radiação ultravioleta da luz solar.

PALAVRAS-CHAVE: Câncer; Luz ultravioleta; Sistema *methG1*.

MUTAGENIC EFFECT OF ULTRAVIOLET LOW DOSE IN *Aspergillus nidulans MethG1* SYSTEM

ABSTRACT: Cancer has been the most common and serious illness nowadays. It is characterized by former tumors presence because of mutations in cellular proliferation and differentiation controlling genes. Then, the mutagenic agents are potentially carcinogenic. Among the known carcinogenic agents there is the ultraviolet radiation, an important factor to skin cancer. In this sense, the aim of this work was to analyse the ultraviolet low dose mutagenicity in *methG1* system. For this, *biA1methG1* conidia of *Aspergillus nidulans* lineage were treated with one second (0,24mJ/cm²) of ultraviolet light exposure. The results had indicated that, even in minimal dose, this agent is able to cause genome damage, reducing the viability and increasing the mutation frequency significantly, when compared with the control (conidia not treated). This results corroborate others works that have demonstrate the importance of the preventive care and long exposure restriction to the solar ultraviolet radiation.

KEYWORDS: Cancer; Ultraviolet light; *MethG1* system.

Introdução

O maior risco à saúde decorrente da exposição excessiva à radiação ultravioleta (UV) está relacionado à pele (MACKIE, 2006). O câncer é uma das doenças mais comuns e graves da medicina clínica, provocando mais de 20% das mortes. A exposição prolongada ao sol, sobretudo nas populações de pele clara, está intimamente relacionada com o aparecimento do câncer da pele (GLOSTER; NEAL, 2006; RAW et al., 1992). As ondas de luz ultravioleta são as principais responsáveis pelas alterações celulares desencadeadoras das neoplasias da pele. A irradiação solar induz reações agudas e crônicas tanto na pele animal quanto na humana. Exposições crônicas repetidas são a causa primária do início e da malignização dos tumores de pele (ICHIHASHI et al., 2003).

A luz ultravioleta (UV) contém diferentes comprimentos de onda, como a UVA (320-400 nm), UVB (280-320nm) e UVC (200-280 nm), possuindo cada uma delas propriedades mutagênicas distintas (GRIFFITHS et al., 1998). Dentre estes tipos de radiações, a radiação ultravioleta B é altamente muta-

gênica e carcinogênica, em experimentos com animais, quando comparados com a UVA (ICHIHASHI et al., 2003). A UVB promove a formação de dímeros de DNA entre pirimidinas adjacentes que, se não reparadas, podem induzir um câncer pele (BLAGOEV et al., 2006).

O câncer de pele é o mais comum entre os cânceres e se manifesta de três formas: os carcinomas de célula escamosa (CCE), de célula basal (CCB) e os melanomas (BIKLE; ODA; XIE, 2005; MACKIE, 2006). No caso dos CCE a principal causa é a exposição crônica longa, mas para os CCB os episódios de exposição de curto tempo são mais importantes. Em relação ao melanoma, a via de exposição excessiva ao UV é a mais prejudicial (MACKIE, 2006).

Os pesquisadores têm desenvolvido diversos sistemas para testar o potencial mutagênico e/ou carcinogênico dos agentes físicos e químicos. O sistema *methG1*, para avaliação de mutagenicidade em *Aspergillus nidulans*, detecta mutações supressoras que reverterem a auxotrofia para metionina (*methG1*). Em *A. nidulans* há duas vias biossintéticas para metionina. Na primeira, há a síntese de cisteína, que é con-

¹Laboratório de Biologia Molecular e do Desenvolvimento, Departamento de Biologia Celular e Genética, Universidade Estadual de Maringá; ²Laboratório de Biologia, Universidade Tecnológica Federal do Paraná
Endereço para correspondência: Graciana Freitas Palioto - Rua Marcilio Dias, 635 - Cep: 86812-460 - Apucarana-Paraná-Brasil - Email: gfpalioto@yahoo.com.br;

vertida a cistationina e posteriormente são sintetizadas homocisteína e metionina. A cisteína produzida por esta via inibe a enzima que é responsável pela segunda via. Deste modo, um mutante para a primeira via, após a síntese de cisteína, resulta na auxotrofia para metionina. Uma mutação qualquer que impeça a síntese de cisteína restaura a atividade da enzima e a síntese de metionina pela segunda via (GAJEWSKI; LITWINSHA, 1968; LILLY, 1965; SCOTT; ALDERSON, 1971). A taxa de mutação espontânea neste sistema é da ordem de cem vezes maior do que é encontrado em outros *loci*, e esta sensibilidade torna-o um importante sistema teste de mutagenicidade (BARONI-RODRIGUES, 2001; CREBELLY, 1988; DEMOPOULOS; KAPPAS; PELECANOS, 1982; DONNELLY; BROWN; SCOTT, 1987; REZENDE et al., 2004; ROCHA; AZEVEDO, 1986; RODRIGUES et al., 2003; SCOTT et al., 1982; ZONETTI; ROCHA, 2000).

Neste sentido, o objetivo do presente trabalho foi avaliar o efeito mutagênico de baixa dose da luz ultravioleta (UVB), em exposição de curta duração no sistema *methG1* em *A. nidulans*.

Material e métodos

Linhagem

A linhagem de *A. nidulans* testada foi *biAlmethG1*, originada de Glasgow (Escócia). Esta linhagem tem deficiência nutricional para biotina e metionina.

Meios de cultura e soluções

Meio completo (MC) e meio mínimo (MM) foram descritos por Pontecorvo et al. (1953), Clutterbuck (1974) e Rocha (1997). O meio seletivo (SM) para análises dos mutantes foi MM suplementados com biotina (0,02 µg/mL). O meio para teste de sobrevivência (SMM) foi feito com a mesma composição do SM adicionado metionina (50 µg/mL).

Tratamentos

Conídios de colônias crescidas por cinco dias em MC a 37 °C foram coletados em solução 0,01% de Tween 80 em 0,09% NaCl, agitados e filtrados em lâ de vidro esterilizado.

Essa suspensão foi dividida em dois tubos: um controle e um tratamento. A irradiação foi realizado vertendo-se primeiramente o conteúdo do tubo de tratamento em placa esterilizada e abrindo-se esta placa dentro da capela de luz ultravioleta, deixando

ocorrer uma exposição de um segundo (0,24 mJ/cm²). Após a irradiação a placa foi fechada e transportada para a bancada de manipulação.

Para a estimativa de sobrevivência foram feitas diluições adequadas e foi inoculado 0,1 mL da diluição em cada placa de SMM e incubados a 37° C por três dias. Para a estimativa dos mutantes foi inoculado 0,1 mL da suspensão sem diluições em placas de SM e incubados por cinco dias a 37° C. Foram inoculadas dez placas de cada meio de cultura. Este procedimento foi repetido duas vezes independentemente para todos os tratamentos.

Análise dos resultados

O número de conídios sobreviventes/mL da suspensão foi calculado pela média dos números de colônias nas dez placas de SMM. A frequência de mutação foi calculada pela razão entre o número total de mutantes nas dez placas (um mL) e a média da sobrevivência/mL da suspensão. O cálculo para o grupo controle nos dá a frequência de reversão espontânea para a marca *methG1*.

Análise estatística

A análise estatística foi feita segundo Munson e; Goodhead (1977), adaptado para o sistema *methG1* por Scott et al. (1982). Cada concentração do extrato seco foi analisado em separado, utilizando-se a média do número de conídios viáveis e da média da frequência de mutação das três repetições. O critério para a conclusão de positivo/negativo é feita pela correlação linear entre a frequência de mutação e o logaritmo neperiano da sobrevivência, de acordo com a equação: $M_c - M_T = -m \times \ln(S_c/S_T)$, onde: M_c - frequência de mutação no controle; M_T - frequência de mutação do tratamento; S_c - sobrevivência no controle; e S_T sobrevivência no tratamento. Desta equação resulta o valor de m da respectiva concentração em análise. Para efeito de comparação, são calculados dois valores de m (m'_c e m''_c), em que os valores de $[M_c - M_T]$ correspondem ao valor da frequência de mutação do controle em análise multiplicado por 2 e por 4, respectivamente, e o valor de $\ln(S_c/S_T)$, é arbitrariamente fixado em 4. Se $m_T > m''_c$, a substância é considerada mutagênica. Se $m'_c < m_T < m''_c$, o resultado não é estatisticamente significativo.

Resultados

A Tabela 1 mostra os resultados do tratamento dos conídios expostos durante um segundo com

ultravioleta na linhagem *biAlmethG1*.

As repetições mostraram resultados compatíveis. A análise estatística desses resultados está na Figura 1, no qual é possível ver o efeito mutagênico da luz ultravioleta. A irradiação com a luz UV por apenas um segundo mostrou-se mutagênica para a linhagem *biAlmethG1*.

Após o tratamento com a luz ultravioleta, a frequência de mutação foi significativamente maior

que a frequência de mutação espontânea, pois a inclinação da reta T é maior que as das retas C' e C''. Os valores de m, que indicam a inclinação das retas T, C' e C'' são, respectivamente: $m = 26,70$, $m' = 3,4$, $m'' = 6,8$.

Assim, estes resultados mostraram que a luz ultravioleta possui potencial mutagênico, mesmo em baixa exposição (um segundo).

Tabela 1: Resultados obtidos no controle e com tratamento de conídios dormentes da linhagem *biAlmethG1* com um segundo de exposição com luz ultravioleta.

Nº do experimento	Tratamento	Nº de conídios viáveis (x105)/mL	Nº de mutantes meth+/mL	Nº de mutantes/106 conídios viáveis
1	Controle	271,8	124	4,6
	Tratamento	116,8	276	23,6
2	Controle	163,6	147	9,0
	Tratamento	38,3	172	45,0
Média	Controle	217,7	-	6,8
	Tratamento	77,55	-	34,3

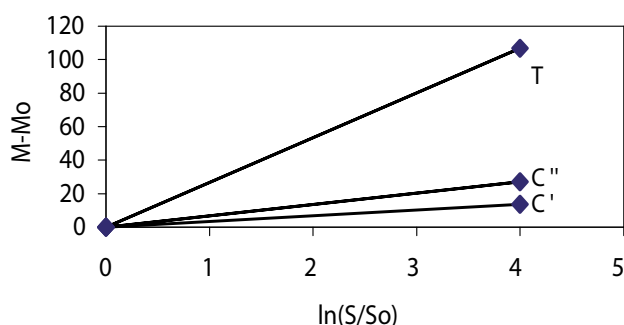


Figura 1: Análise estatística dos resultados da Tabela 1, mostrando que a inclinação da reta C (que representa a mutação espontânea) é menor que a inclinação da reta T (que representa a mutação da exposição à luz ultravioleta).

Discussão

A radiação ultravioleta solar sempre fez parte do ambiente do homem. A UVB, por exemplo, é requerida para a formação da vitamina D, que é criticamente importante para a manutenção dos ossos e para a saúde humana. Contudo, a exposição à radiação, solar ou artificial, também leva a riscos potenciais para a saúde humana. A radiação ultravioleta é um carcinógeno conhecido e, segundo Gallagher; Lee (2006) a exposição excessiva aumenta o risco de câncer de pele, principalmente em populações de pele clara.

Neste trabalho, a exposição num tempo mínimo, de apenas um segundo, mostrou o potencial mutagênico da luz UV em conídios de *A. nidulans*. Estes conídios possuem uma parede rígida como proteção

a fatores ambientais e possui também pigmentação verde. Segundo Braga et al. (2006) linhagens com conídios verdes são mais resistentes à radiação solar do que mutantes para a coloração de conídios. Mesmo com as barreiras naturais do conídio, a exposição mínima a luz UV aumentou a mortalidade (diminuição da sobrevivência) e a frequência de mutação dessa linhagem.

A pigmentação da pele humana também é fortemente envolvida na proteção contra estresse ambiental, em particular à exposição à radiação UV. Sabe-se que a pele escura é mais resistente aos danos da radiação UV do que peles claras (MIYAMURA et al., 2007). Leeuw et al. (2001) avaliaram a sobrevivência celular de melanócitos originados de pessoas com diferentes padrões de pigmentação na pele, em resposta a irradiação com luz ultravioleta. Após a irradiação com UVB, a melhor sobrevivência foi encontrada nas culturas de células que continham maiores concentrações de melanina. Essas células continham 4,9 vezes mais melanina do que as células provindas de peles claras, o que corrobora com seu efeito protetor.

Rouzaud et al. (2005) também afirmam que a coloração da pele desempenha um papel importante na nossa foto-proteção contra a radiação ultravioleta solar e a incidência de câncer. Em seu trabalho, melanócitos irradiados por UV aumentaram a expressão de genes relacionados com a síntese de melanina.

Experimentos com fase inicial do desenvolvimento embrionário e larval de equinodermos irra-

diados com UV mostraram diminuição significativa na sobrevivência dos embriões e larvas e, em todos os estágios, houve um aumento significativo nos danos ao DNA (LESSER; BARRY, 2003).

Os principais mecanismos de mutagênese da luz UVB ocorrem pela formação de dímeros de pirimidina (YOON et al., 2000) ou por quebras na fita do DNA (PFEIFER; YOU; BESARATINIA, 2005; GRIFFITHS et al., 1998). A presença destes produtos no genoma pode causar erros durante a replicação e/ou no quadro de leitura que comprometem a viabilidade celular (GRIFFITHS et al., 1998). Estudos sugerem que a radiação ultravioleta é responsável pelo desenvolvimento de tumor de pele por três vias diferentes: mutação gênica (GRIFFITHS et al., 1998), imunossupressão (NORVAL, 2006) ou ainda indiretamente, pela formação de espécies reativas de oxigênio (ICHIHASHI et al., 2003).

Kim, Pfeifer e Besaratinia (2007) utilizando fibroblastos embrionários de ratos mostraram o aumento da frequência de mutação no transgene *lacI* em relação ao controle quando estes foram irradiados com UVA. A maioria das mutações foram substituições de uma única base e embora menos frequentes, foram observadas inserções e deleções. Análises mais detalhadas revelaram que a transversoão G:C → T:A foi significativamente induzida pela UVA. Yang et al. (1996) observaram tanto a mutagenicidade, quanto a transformação neoplásica de fibroblastos de ratos e células mamárias epiteliais humanas quando irradiados pela UV.

Segundo Kobayashi et al. (1998), a melanina pode formar uma capa supranuclear nas células epidérmicas que reduziria a transmissão da luz UV para o núcleo das células e, assim, inibiria os danos ao DNA. Eles analisaram a formação de dímeros de pirimidina em células epidérmicas humanas irradiadas com UVB e encontraram que as células com a capa de melanina tiveram uma redução significativa dos danos no DNA, em relação às células sem a proteção de melanina. Neste trabalho também foram correlacionadas positivamente, a foto-proteção e a concentração de melanina nas células.

Zonetti e Rocha (2000) analisaram duas linhagens de *A. nidulans*, ambas com a mutação *biAl-methGI* porém uma linhagem verde e outra mutante para coloração, branca. Após 10 segundos de irradiação com luz UVB a linhagem branca foi mais sensível (menor sobrevivência) em relação a linhagem verde. Esse resultado vem à corroborar com a foto-proteção dos pigmentos celulares contra os danos à exposição à radiação UV, e também mostra que os organismos apresentam mecanismos semelhantes de

proteção (presença dos pigmentos), o que justifica a utilização desse organismo-teste nesse trabalho.

As campanhas populares de prevenção do câncer de pele e trabalhos científicos (DIXON et al., 2005; EIDE; WEINSTOCK, 2006; GLOSTER; NEAL, 2006; ICHIHASHI et al., 2003; WRIGHT; SPENCER; FLOWERS, 2006) tentam despertar a população para este risco, e incentivar medidas de prevenção, tais como: evitar exposições prolongadas aos raios solares; controlar e examinar feridas que demoram a cicatrizar; examinar com atenção a pele de todo o corpo, inclusive o couro cabeludo; estimular o controle médico periódico, principalmente nas populações brancas; evitar, ou reduzir ao máximo, a utilização do bronzamento artificial; uso diário de filtro solar com fator de proteção solar de no mínimo 15, e que proteja contra radiação UVA e UVB; repetição das aplicações a cada duas horas em situações de exposição prolongada; utilização de acessórios, como camiseta, chapéu e óculos; evitar o horário entre 10 e 15 horas; e limitar o tempo de exposição.

Conclusão

De acordo com os resultados, a luz ultravioleta causa danos ao material genético mesmo em pequena exposição, não possuindo dose mínima de segurança quanto ao potencial mutagênico, o que reforça a necessidade de campanhas de prevenção à exposição à radiação solar e monitoramento do aparecimento de manchas e lesões na pele.

Referências

- BIKLE, D. D.; ODA, Y.; XIE, Z. Vitamin D and skin cancer: a problem in gene regulation. **The Journal of Steroid Biochemistry and Molecular Biology**, v. 97, n. 1-2, p. 83-91, 2005.
- BLAGOEV, K. B. et al. Ultraviolet light induced changes in DNA dynamics may enhance TT-dimer recognition. **DNA Repair**, v. 5, n. 7, p. 863-867, 2006.
- BRAGA, G. U. et al. Conidial pigmentation is important to tolerance against solar-simulated radiation in the entomopathogenic fungus *Metarhizium anisopliae*. **Photochemistry and Photobiology**, v. 82, p. 418-422, 2006.
- CLUTTERBUCK, A. J. *Aspergillus nidulans*. In: KING, R. C. **Handbook of genetics**. New York: Plenum Publishing, 1974. cap. 26, p. 447-510.

- CREBELLI, C. A. et al. Evaluation of the mutagenic activity of leucinoestatinas, a novel class of antibiotic peptides produced by *Paecilomyces marquandii*, in the model *Aspergillus nidulans*. **Microbiologica**, v. 11, p. 229-305, 1988.
- DEMOPOULOS, N. A.; KAPPAS, A.; PELECANOS, M. Recombinogenic and mutagenic effects of the antitumor antibiotic bleomycin in *Aspergillus nidulans*. **Mutat. Res.** v. 102, p. 51-57, 1982.
- DIXON, K. M. et al. Skin cancer prevention: a possible role of 1,25-dihydroxyvitamin D₃ and its analogs. **The Journal of Steroid Biochemistry and Molecular Biology**, v. 97, n. 1-2, p. 137-143, 2005.
- DONNELLY, K. C.; BROWN, K. W.; SCOTT, B. R. Chemical and biological characterization of hazardous industrial waste II Eukaryotic bioassay of a wood-preserving bottom sediment. **Mutat. Res.** v. 180, p. 43-53, 1987.
- EIDE, M. J.; WEINSTOCK, M. A. Public health challenges in sun protection. **Dermatologic Clinics**, v. 24, n. 1, p. 119-124, 2006.
- GAJEWSKI, W.; LITWINSKA, J. Methionine loci and their suppressors in *Aspergillus nidulans*. **Mol. Gene Genet.** v. 102, p. 210-220, 1968.
- GALLAGHER, R. P.; LEE T. K. Adverse effects of ultraviolet radiation: a brief review. **Progress in Biophysics and Molecular Biology**, v. 92, n. 1, p. 119-131, 2006.
- GLOSTER, H. M.; NEAL, K. Skin cancer in skin of color. **Journal of the American Academy of Dermatology**, v. 55, n. 5, p. 741-760, 2006.
- GRIFFITHS, H. R. et al. Molecular and cellular effects of ultraviolet light-induced genotoxicity. **Critical Reviews in Clinical Laboratory Sciences**, v. 35, n. 3, p. 189-237, 1998.
- ICHIHASHI, M. et al. UV-induced skin damage. **Toxicology**, v. 189, n. 1-2, p. 21-39, 2003.
- KIM, S.; PFEIFER, G. P.; BESARATINIA, A. Mutagenicity of ultraviolet A radiation in the *lacI* transgene in Big Blue mouse embryonic fibroblasts. **Mutat. Res.** v. 617, n. 1-2, p. 71-78, 2007.
- KOBAYASHI, N. et al. Supranuclear melanin caps reduce ultraviolet-induced DNA damage in human epidermis. **Journal of Dermatological Science**, v. 16, n. 1, p. 98, 1998.
- LILLY, L. J. An investigation of suitability of the suppressors of meth₁ in *Aspergillus nidulans* for the study of induced a spontaneous mutation. **Mutat. Res.** v. 2, p. 192-195, 1965.
- LESSER, M. P.; BARRY, T. M. Survivorship, development, and DNA damage in echinoderm embryos and larvae exposed to ultraviolet radiation (290–400 nm). **Journal of Experimental Marine Biology and Ecology**, v. 292, n. 1, p. 75-91, 2003.
- LEEUEW, S. M. et al. Melanin content of cultured human melanocytes and UV-induced cytotoxicity. **Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology**, v. 61, n. 3, p. 106-113, 2001.
- MACKIE, R. M. Long-term health risk to the skin of ultraviolet radiation. **Progress in Biophysics and Molecular Biology**, v. 92, n. 1, p. 92-96, 2006.
- MIYAMURA, Y. et al. Regulation of human skin pigmentation and responses to ultraviolet radiation. **Pigment Cell Research**, v. 20, n. 1, p. 2–13, 2007.
- MUNSON, R. J.; GOODHEAD, D. T. The relation between induced mutation frequency and cell survival: a theoretical approach and examination of experimental data for eukaryotes. **Mutat. Res.** v. 42, p. 145-160, 1977.
- NORVAL, M. The mechanisms and consequences of ultraviolet-induced immunosuppression. **Progress in Biophysics and Molecular Biology**, v. 92, n. 1, p. 108-118, 2006.
- PFEIFER, G. P.; YOU, Y. H.; BESARATINIA, A. Mutations induced by ultraviolet light. **Mutat. Res.** v. 571, n. 1-2, p. 19-31, 2005.
- PONTERCORVO, G. et al. The genetics of *Aspergillus nidulans*. **Adv. Genet.** v. 5, p. 141-238, 1953.
- RAW, I. et al. **Bases moleculares da medicina**. São Paulo: USP, 1992. v. 3, cap 1-2.
- REZENDE, J. R. et al. Efeito antimutagênico do látex de *Euphorbia* no sistema metionina em

Aspergillus nidulans. **Acta Scientiarum**, v. 26, n. 4, p. 481-484, 2004.

ROCHA, C. L. M. S. C. **Caracterização citológica, genética e molecular de um mutante para conidiogênese em *Aspergillus nidulans***. 1997. 203 f. Tese (Doutorado) - EASALQ, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 1997.

ROCHA, C. L. M. S. C.; AZEVEDO, J. L. Use of the methG1 reversion system of *Aspergillus nidulans* for the detection of mutagenicity of the pyrrolizidine alkaloid integerrimine. **Revista Brasileira de Genética**, v. 9, p. 393-405, 1986.

RODRIGUES, S. B. **Avaliação do potencial antimutagênico dos cogumelos *Agaricus blazei* e *Lentinula edodes* no sistema metG1 em *Aspergillus (=Emericella) nidulans***. 2001. 20 f. Monografia (Especialização em Genética Aplicada ao Ensino) - Universidade Estadual de Maringá, Maringá, 2001.

RODRIGUES, S. B. et al. Avaliação do potencial antimutagênico do Cogumelo do Sol (*Agaricus blazei*) no sistema methG1 em *Aspergillus (=Emericella) nidulans*. **Acta Scientiarum**, v. 25, n. 2, p. 513-517, 2003.

ROUZAUD, F. et al. MC1R and the response of melanocytes to ultraviolet radiation. **Mutat. Res.** v. 571, n. 1-2, p. 133-152, 2005.

SCOTT, B. R.; ALDERSON, T. The random (non-specific) forward mutational response of gene loci in *Aspergillus nidulans* conidia after photosensitisation to near ultraviolet light by 8-methoxypsoralen. **Mutat. Res.** v. 12, p. 29-34, 1971.

SCOTT, B. R. et al. *Aspergillus nidulans*: Systems and results of tests for induction of mitotic segregation and mutation. II. Haploid assay systems and overall response of all systems. **Mutat. Res.** v. 98, p. 49-94, 1982.

WRIGHT, T. I.; SPENCER, J. M.; FLOWERS, F. P. Chemoprevention of nonmelanoma skin cancer. **Journal of the American Academy of Dermatology**, v. 54, n. 6, p. 933-946, 2006.

YANG, T. C. et al. Oncogenic and mutagenic effects of UV in mammalian cells. **Advances in Space Research**, v. 18, n. 12, p. 17-26, 1996.

YOON, J. H. et al. The DNA damage spectrum produced by simulated sunlight, **Journal of Molecular Biology**, v. 302, n. 4, p. 1019-1020, 2000.

ZONETTI, P. C.; ROCHA, C. L. M. S. C. Mutagenicity of benlate in *methG1* system in *Aspergillus (=Emericella) nidulans*. **Cytologia**, v. 65, p. 403-408, 2000.

Recebido em: 23/11/2009

Aceito em: 28/10/2010

Received on: 23/11/2009

Accepted on: 28/10/2010