

Avaliação da Frequência de Micronúcleos em Células Meristemáticas de *Allium cepa* Germinadas a Partir de Sementes Irradiadas com Radiação Gama no Interior de um Fantoma Antropomórfico

Paulo S. de Abreu Junior^{1,2}, Guilherme Gazolla Santana^{1,2}, Ricardo Felipe Soares¹, Liana Kalczuk¹, Priscila Correia Fernandes¹ e Cláudio Antônio Federico²

¹ Instituto Tecnológico de Aeronáutica (ITA), São José dos Campos /SP – Brasil

² Instituto de Estudos Avançados (IEAv), São José dos Campos /SP – Brasil

Resumo – A radiação ionizante é um risco em ambientes aeroespaciais e situações de emergências radiológicas, exigindo formas eficientes de biodosimetria. Este trabalho teve o propósito de verificar a frequência de micronúcleos (MN) em *Allium cepa* (cebola amarela) que foi exposta à radiação gama com LET baixo, simulando situações reais com uso em um fantoma humano. Sementes secas foram expostas a cinco doses de ⁶⁰Co (0,65–3,89 Gy), germinadas e passadas pela análise genética. Não foram vistas mudanças grandes na germinação nem no crescimento das raízes. A quantidade de MN ficou entre 0,00% e 0,04%, dentro do nível normal. Os achados mostraram que, nas situações avaliadas, a radiação gama não causou danos genéticos importantes; possivelmente devido ao eficiente reparo do DNA antes da mitose em sementes secas. É concluído que o modelo *Allium cepa*, embora sensível à radiação de alta LET, precisa de doses maiores de radiação gama para aplicações úteis em biodosimetria.

Palavras-chave – *Allium cepa*, micronúcleos, biodosimetria.

I. INTRODUÇÃO

A exploração espacial implica a exposição constante de organismos vivos à radiação ionizante, fazendo-se essencial avaliar os impactos biológicos dessas radiações em situações de emergência radiológica e em missões espaciais de longa duração[1], [2], [3].

Para isso, a dosimetria é crucial nesse contexto, pois per-

mite monitorar e quantificar a exposição à radiação ionizante, garantindo a segurança e a saúde dos astronautas durante longas missões espaciais e em situações de emergência radiológica.

A dosimetria pode ser classificada em dois tipos: física e biológica. A dosimetria física utiliza métodos como a fotografia de emulsão e dosímetros eletrônicos para medir a radiação ionizante, enquanto a dosimetria biológica avalia o impacto da radiação nos organismos vivos, sendo essencial para a proteção em ambientes como o espaço e situações de emergência radiológica [4].

Uma vez que na maioria dos cenários de exposição acidental ou suspeita à radiação ionizante, a dosimetria física retrospectiva torna-se inviável, têm sido propostos biomarcadores biológicos como metodologia complementar para estimar a dose absorvida e orientar o manejo clínico dos indivíduos expostos[5], [6], [7]. A utilização desses biomarcadores com finalidade dosimétrica é o que se chama por biodosimetria[8], sendo crucial na medida em que fornece informações sobre o impacto biológico da radiação nos organismos vivos, superando as limitações dos métodos físicos de dosimetria, que não refletem diretamente os efeitos biológicos da exposição[4].

Nesse contexto, as metodologias baseadas em efeitos citogenéticos, como o teste de micronúcleos, são particularmente valiosas, pois permitem a detecção de danos cromossômicos, são passíveis de automação e escalabilidade, e possuem alta reprodutibilidade interlaboratorial[1], [2], [3], [9].

Os micronúcleos são estruturas citoplasmáticas pequenas, morfológicamente semelhantes ao núcleo principal, formadas por fragmentos cromossômicos ou cromossomos

ABREU JUNIOR, P. S., abreu@ita.br, SANTANA, G. G., guilherme.gazolla08@gmail.com, SOARES, R. F., ricardorfs@ita.br, KALCZUK, L., lianakalczuk@gmail.com, FERNANDES, P. C., prixcaferman-des@gmail.com e FEDERICO, C.A., claudio.federico40@gmail.com. Este trabalho foi parcialmente financiado pelo Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPQ), processo nº 420156/2023-2 e Grant PQ 310745/2025-0.

inteiros que não foram incorporados ao núcleo durante a divisão celular, sendo considerados biomarcadores sensíveis de dano genético induzido por radiação (Fig. 4)[10], [11], [12].

Dentre os testes biodosimétricos, o ensaio de micronúcleo é amplamente utilizado devido à sua capacidade de detectar danos cromossômicos em diferentes tipos celulares, respondendo de maneira dose-dependente à radiação ionizante e sendo particularmente eficaz para triagem rápida após exposições acidentais ou ocupacionais[1], [2], [3], [9], [13]. Estudos indicam que o ensaio de micronúcleo pode detectar doses baixas, com limiares a partir de aproximadamente 0,05 Gy (*Gray* - unidade de dose absorvida de radiação) em linfócitos humanos, tornando-o eficaz para monitoramento ocupacional e situações emergenciais[3], [9].

Alternativamente à utilização de amostras biológicas humanas, o uso de *Allium cepa* (cebola amarela) como modelo biodosimétrico tem sido validado pela sua simplicidade, baixo custo e sensibilidade na detecção de danos citogenéticos induzidos por radiação ionizante, inclusive por radiação alfa e gama, com limiares de detecção variando significativamente conforme a qualidade da radiação[10], [12], [14], [15], [16]. Bolsunovsky *et al.* (2019) mostraram que a formação de micronúcleos em *Allium cepa* ocorre a partir de doses de 1 Gy em sementes germinadas expostas à radiação gama, com uma resposta dose-dependente até a saturação em doses maiores[12].

Adicionalmente, Zhang *et al.* (2002) demonstraram que a exposição de sementes secas de *Allium cepa* a nêutrons de fissão produz um número significativamente maior de micronúcleos comparado à radiação gama, com eficácia biológica relativa (RBE) alta devido ao alto LET (*Linear Energy Transfer*) dos nêutrons, reforçando a relevância do tipo de radiação e do estado fisiológico das sementes para os resultados obtidos em testes citogenéticos[11].

Apesar da robustez desse modelo vegetal, segundo Zhang *et al.* (2002), sementes secas de *Allium cepa* apresentam baixa sensibilidade à radiação gama, exigindo doses estimadas acima de 4Gy para detecção de micronúcleos[11].

Experimentos envolvendo radiação ionizante com diferentes LETs indicam que micronúcleos são particularmente eficazes para distinguir danos induzidos por radiações de alta LET, podendo permitir detecção de doses a partir de 0,02Gy com partículas alfa, por exemplo[10], sobretudo em estudos automatizados [17], consolidando sua relevância em aplicações de biodosimetria.

Complementarmente, o uso de fantasmas antropomórficos permite simular com realismo a distribuição espacial da dose em organismos humanos, oferecendo resultados

mais precisos e aplicáveis a cenários reais de exposição radiológica, conforme destacado por estudos recentes[18].

Assim, o presente estudo se propõe a investigar a frequência de micronúcleos em células meristemáticas de *Allium cepa* irradiadas com radiação gama em fantoma antropomórfico, visando compreender melhor os limiares de detecção e a aplicabilidade do modelo vegetal em condições controladas e realistas de exposição radiológica, buscando contribuir para o desenvolvimento de ferramentas eficientes de biodosimetria em cenários aeroespaciais e médicos.

II. OBJETIVO

O presente estudo teve como objetivo quantificar e avaliar a frequência de micronúcleos em células da região meristemática de *Allium cepa* germinadas a partir de sementes irradiadas com Cobalto-60 (^{60}Co).

III. METODOLOGIA

Sementes da espécie *Allium cepa* foram acondicionadas individualmente em microtubos do tipo Eppendorf e posicionadas no interior de cavidade na altura do timo de um fantoma antropomórfico adulto feminino, com o objetivo de simular a distribuição de dose em tecidos humanos. Cabe ressaltar que, dentre as recomendações das ICRPs, a ICRP 118 destaca os efeitos teciduais com possíveis limiares baixos de dose[19] enquanto a ICRP 123 reconhece a utilidade de biomarcadores e fantasmas na avaliação de dose em contextos espaciais simulados[20]. A irradiação foi conduzida utilizando fonte de ^{60}Co , mantida a uma distância fixa de 3 metros do fantoma. O fantoma com as sementes inseridas foi exposto a cinco diferentes tempos de irradiação: 30, 60, 90, 120 e 180 minutos, correspondendo respectivamente às doses absorvidas de 0,65 Gy, 1,30 Gy, 1,94 Gy, 2,59 Gy e 3,89 Gy, conforme calibrado previamente por meio de dosimetria física com câmaras de ionização posicionadas no interior do fantoma.

Após a irradiação, as sementes foram dispostas em placas de Petri (90 × 15 mm), sendo três placas por grupo, cada uma contendo 36 sementes, totalizando 108 sementes por dose. As sementes foram mantidas para germinação a 25±2 °C por três dias. Raízes com aproximadamente 4-5 mm de comprimento foram selecionadas (cinco por tratamento), fixadas em solução de Carnoy (3:1, etanol:ácido acético) por 24 horas, transferidas para etanol 70% e armazenadas a 4 °C por até 15 dias até o preparo das lâminas.

As lâminas foram confeccionadas por esmagamento ("squash") da extremidade apical das raízes (1–2 mm) após hidrólise em HCl 1N a 60 °C por 15 minutos. A coloração

foi realizada com violeta genciana 1%, seguida de montagem de lâminula sobre lâmina com glicerina a 50% para minimizar sobreposição celular e facilitar a identificação morfológica dos micronúcleos, conforme protocolo realizado por Fujikawa et al. (1999)[21]. A análise da frequência de micronúcleos foi realizada em células em intérfase com citoplasma bem definido, tendo sido os micronúcleos reconhecidos como corpos menores que o núcleo principal, de coloração similar, localizados no citoplasma e morfológicamente separados do núcleo[10], [11], [14].

Foram analisadas 1000 células por lâmina, totalizando 5000 células por grupo experimental.

A frequência de micronúcleos foi calculada utilizando a seguinte fórmula (1), conforme sugerido por Fujikawa *et al.* (1999) [21]:

$$F(\%) = (N_{mn} / N_t) \times 100 \quad (1)$$

Onde:

N_{mn} = número total de micronúcleos observados

N_t = número total de células analisadas.

Os valores foram expressos em percentual e comparados com a frequência basal observada no grupo controle não irradiado.



Fig. 1. Fantoma antropomórfico utilizado para simulação de exposição à radiação gama. (A) Vista frontal do fantoma do tipo feminino, utilizado como suporte para acomodação de dosímetros e amostras de sementes de *Allium cepa* em regiões anatômicas específicas. (B) Vista superior do fantoma com destaque para as sementes de *Allium cepa* posicionadas sobre o topo da cabeça, simulando uma situação de exposição direta à radiação incidente. A estrutura foi utilizada com o objetivo de avaliar o comportamento das sementes em um cenário simulado de exposição parcial do corpo humano à radiação ionizante.

IV. RESULTADOS E DISCUSSÃO

A. Análise macroscópica

As avaliações do índice de germinação e tamanho das raízes foram conduzidas com o objetivo de investigar possíveis efeitos fisiológicos iniciais da radiação gama nas sementes de *Allium cepa* irradiadas dentro do fantoma

antropomórfico. Este parâmetro é particularmente relevante por refletir a viabilidade metabólica pós-exposição e pode indicar alterações subletais que não necessariamente resultam em efeitos citogenéticos detectáveis[14].

As taxas de germinação foram determinadas após três dias de incubação das sementes irradiadas, sendo os valores comparados entre os grupos experimentais e o controle por meio de análise estatística não paramétrica. A figura a seguir apresenta a distribuição dos índices de germinação obtidos em cada grupo.

• Índice de germinação:

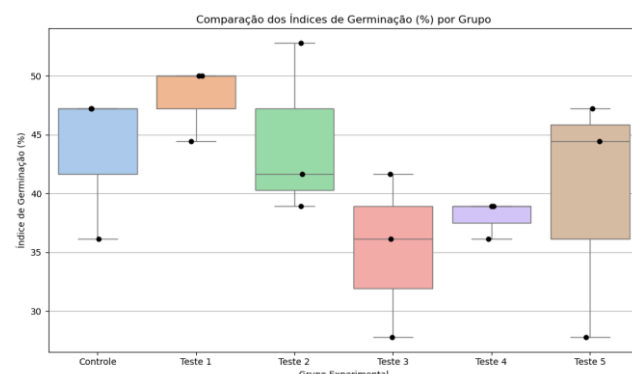


Fig. 2. Comparação dos índices de germinação (%) entre os grupos submetidos aos diferentes tratamentos com radiação gama. Os dados foram analisados pelo teste de Kruskal-Wallis, que indicou ausência de diferença estatisticamente significativa entre os grupos ($p = 0,2116$).

• Tamanho das raízes:

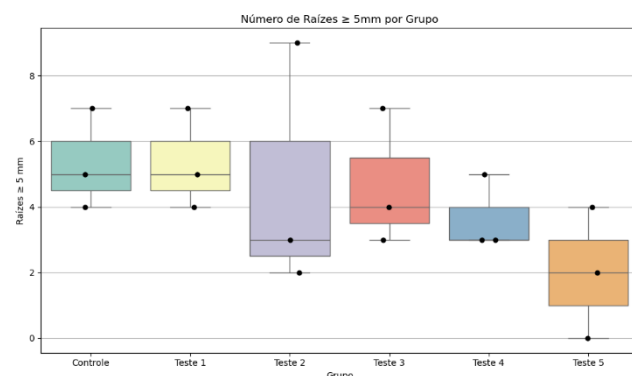


Fig. 3. Comparação dos tamanhos médios das raízes (em mm) entre os grupos irradiados com diferentes doses de radiação gama. Assim como na taxa de germinação, não foram observadas diferenças estatisticamente significativas entre os grupos ($p > 0,05$), embora haja tendência de redução no comprimento das raízes com o aumento da dose, especialmente no tratamento 5 (3,89 Gy).

Os resultados apresentados nas Figuras 2 e 3 indicam que, dentro da faixa de doses testadas (0,65 a 3,89 Gy), a radiação gama não provocou efeitos fisiológicos significativos nas sementes de *Allium cepa*, uma vez que não foram observadas diferenças estatisticamente relevantes nem na taxa de germinação nem no comprimento médio das raízes.

Esse padrão é compatível com a literatura, que relata a necessidade de doses mais elevadas ou o uso de radiações de maior LET para afetar parâmetros fisiológicos em sementes secas de *Allium cepa* antes da germinação, especialmente quando irradiadas em condições que permitem reparo celular antes da divisão mitótica[22], [23].

B. Análise microscópica

A análise microscópica revelou a seguinte frequência de micronúcleos mostrada na tabela I abaixo:

TABELA I. RESULTADO DA FREQUÊNCIA DE MICRONÚCLEOS NAS AMOSTRAS DO ENSAIO.

Tratamento	Dose (Gy)	MN Observados	Total de Células	Frequência de MN (%)
Controle	0.00	1	5000	0.02
Teste 1	0.65	1	5000	0.02
Teste 2	1.3	0	5000	0.00
Teste 3	1.94	0	5000	0.00
Teste 4	2.59	0	5000	0.00
Teste 5	3.89	2	5000	0.04

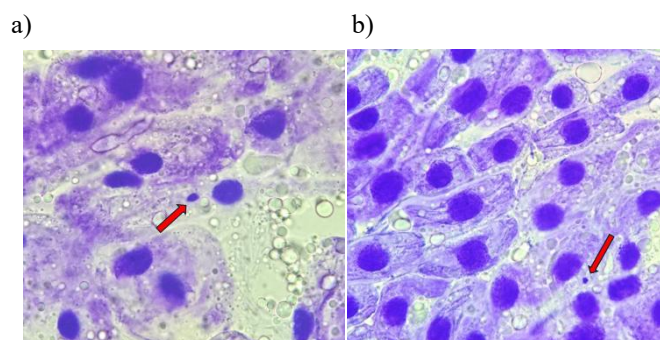


Fig. 4. Micronúcleos identificados em células da região meristemática de *Allium cepa* no tratamento com 3,89 Gy (Teste 5), observados sob objetiva de grande aumento. (a) Micronúcleo evidenciado por seta vermelha em célula isolada com citoplasma claro e núcleo bem delimitado. (b) Outro micronúcleo, também indicado por seta vermelha, localizado em célula com morfologia preservada e núcleo principal intensamente corado. Ambas as imagens mostram estruturas esféricas com coloração nuclear, morfologicamente separadas do núcleo principal, características típicas de micronúcleos originados por fragmentos cromossômicos ou cromossomos inteiros não reintegrados durante a divisão celular.

Os dados obtidos indicam que não houve aumento significativo na frequência de micronúcleos (MN) nas células meristemáticas de *Allium cepa* dentro da faixa de dose testada. O grupo controle apresentou ~0,02% de células com MN (1 MN/5000 células), valor semelhante ao observado nos grupos irradiados com 0,65 a 2,59 Gy (todos ~0,00–0,02%). Mesmo o grupo de maior dose, 3,89 Gy, exibiu apenas 0,04% de MN – a maior frequência entre os tratados, porém ainda dentro do intervalo de frequência basal típico para *Allium cepa* (até ~0,1%, ou 1 MN por 1000 células). Nenhum dos tratamentos, portanto, excedeu a frequência espontânea de MN observada no controle ou relatada na

literatura como “de fundo”. Esses resultados sugerem que até ~4 Gy de radiação gama não foi suficiente para induzir danos citogenéticos robustos detectáveis pelo teste de micronúcleo em cebola, mantendo-se dentro da variabilidade natural do ensaio.

Resistência fisiológica de sementes secas à radiação gama

A ausência de efeitos significativos na germinação e no crescimento radicular das sementes de *Allium cepa* irradiadas com doses de até 3,89 Gy de radiação gama (Figs. 2 e 3) está alinhada com a resistência fisiológica reportada para sementes secas expostas a radiações de baixo LET[11].

Conforme demonstrado por Zhang *et al.* (2002), sementes secas de cebola irradiadas com radiação gama apresentaram uma taxa de micronúcleos significativamente inferior à observada em plântulas, requerendo doses até 260 vezes superiores às necessárias em plântulas hidratadas para induzir respostas comparáveis[11].

Mecanismos de proteção e reparo celular pós-irradiação

A estabilidade citogenética observada (frequência de MN $\leq 0,04\%$ em todas as doses, Tabela I) reforça o papel crítico do intervalo entre irradiação e primeira divisão mitótica na atenuação de danos. Durante o período de germinação (48–72 horas após a semeadura), danos ao DNA induzidos por radiação em sementes secas podem ser eficientemente reparados antes da primeira divisão mitótica[11].

Conforme Zhang *et al.* (2003), danos causados por raios γ em sementes secas são amplamente reparados antes da mitose inicial, enquanto lesões complexas induzidas por nêutrons (alto LET) apresentam menor eficiência de reparo[23]. Esse fenômeno explica a disparidade entre a alta sensibilidade citogenética a nêutrons ($RBE = 150 \pm 6$) e a resistência à radiação γ , onde mesmo 3,89 Gy são insuficientes para superar a capacidade de reparo celular, mantendo a frequência de micronúcleos dentro da variabilidade basal ($\leq 0,1\%$).

Implicações para biodosimetria e limites de detecção

A inobservância de efeitos fisiológicos e citogenéticos significativos nas doses testadas mostra uma limitação básica do uso de sementes secas de *Allium cepa* como biodosímetros para radiação γ baixa LET em cenários com doses de até 4 Gy. Apesar de o sistema ser bem sensível a nêutrons ($RBE = 150–216$ para 0,2–2,1 MeV)[23], sua aplicação para raios γ provavelmente precisaria de doses aproximadamente

maiores que 25 Gy para melhor avaliação da frequência de micronúcleos[23], como demonstrado pela baixa taxa de indução ($b(g) = 0,0242 \text{ MN}/100 \text{ células} \cdot \text{Gy}^{-1}$)[11].

No entanto, a despeito de o presente artigo ter realizado a contagem de micronúcleos como ferramenta de análise do dano genético, a complementação da análise com aferição do índice mitótico e aberrações cromossômicas permitiria uma avaliação mais completa e sensível dos efeitos citogenéticos, especialmente em exposições de baixa intensidade[16], motivo pelo qual se sugere que estudos futuros abordem tais análises adicionais para maior validação dos resultados.

V. OBSERVAÇÕES FINAIS

Os resultados demonstraram que, ainda que o modelo de *Allium cepa* seja reconhecido por sua sensibilidade à radiação ionizante, sua resposta à radiação gama, de baixa LET, nas condições testadas com sementes secas, pareceu limitada, uma vez que a inobservância de efeitos fisiológicos significativos e a baixa frequência de micronúcleos indicaram que doses de até 3,89 Gy não foram suficientes para provocar danos significativos em relação ao grupo controle.

Assim, futuras pesquisas poderiam explorar análises adicionais como índice mitótico e alterações cromossômicas com a finalidade de aumentar a sensibilidade do modelo e sua utilidade em situações de exposição real.

REFERÊNCIAS

- [1] I. Shuryak *et al.*, 'A machine learning method for improving the accuracy of radiation biodosimetry by combining data from the dicentric chromosomes and micronucleus assays', *Sci Rep*, vol. 12, no. 1, Dec. 2022, doi: 10.1038/s41598-022-25453-2.
- [2] D. Zeegers *et al.*, 'Biomarkers of ionizing radiation exposure: A multiparametric approach', *Genome Integr*, vol. 8, no. 1, Jan. 2017, doi: 10.4103/2041-9414.198911.
- [3] E. A. Ainsbury *et al.*, 'Review of retrospective dosimetry techniques for external ionising radiation exposures', *Radiat Prot Dosimetry*, vol. 147, no. 4, pp. 573–592, Nov. 2011, doi: 10.1093/rpd/ncq499.
- [4] B. López-Díaz, S. Mercado-Saenz, and M. J. Ruiz-Gómez, 'Dosimetria Biológica: Principios y Utilidad'. [Online]. Available: <http://www-rayos.medicina.uma.es/rmf/radiobiologia/revista/radiobiologia.htm>
- [5] M. Aryankalayil *et al.*, 'Biomarkers for Biodosimetry and Their Role in Predicting Radiation Injury', *Cytogenet Genome Res*, vol. 163, no. 3–4, pp. 103–109, 2023, doi: 10.1159/000531444.
- [6] M. B. Escalona, T. L. Ryan, and A. S. Balajee, 'Current developments in biodosimetry tools for radiological/nuclear mass casualty incidents', *Environmental Advances*, vol. 9, Oct. 2022, doi: 10.1016/j.envadv.2022.100265.
- [7] M. M. Satyamitra *et al.*, 'Metabolomics in radiation biodosimetry: Current approaches and advances', *Metabolites*, vol. 10, no. 8, pp. 1–28, Aug. 2020, doi: 10.3390/metabo10080328.
- [8] A. S. Balajee, H. C. Turner, and R. C. Wilkins, 'Radiation Biodosimetry: Current Status and Future Initiatives', *Cytogenet Genome Res*, vol. 163, no. 3–4, pp. 85–88, 2023, doi: 10.1159/000535488.
- [9] C. M. Kang, H. J. Yun, H. Kim, and C. S. Kim, 'Strong correlation among three biodosimetry techniques following exposures to ionizing radiation', *Genome Integr*, vol. 7, no. 1, pp. 1–5, Jan. 2016, doi: 10.4103/2041-9414.197168.
- [10] T. Butini *et al.*, 'Biodosimetry of ionizing radiations at different LET levels through cytogenetic endpoints in *Allium cepa* meristems', *Radiat Meas*, vol. 176, Aug. 2024, doi: 10.1016/j.radmeas.2024.107223.
- [11] W. Zhang, S. Endo, M. Ishikawa, H. Ikeda, and M. Hoshi, 'Relative Biological Effectiveness of Fission Neutrons for Producing Micronuclei in the Root-tip Cells of Onion Seedlings after Irradiation as Dry Seeds', 2002. [Online]. Available: <https://academic.oup.com/jrr/article/43/4/397/986798>
- [12] A. Bolsunovsky, D. Dementyev, E. Trofimova, E. Iniatkina, Y. Kladko *et al.*, 'Chromosomal aberrations and micronuclei induced in onion (*Allium cepa*) by gamma-radiation', *J Environ Radioact*, vol. 207, pp. 1–6, Oct. 2019, doi: 10.1016/j.jenvrad.2019.05.014.
- [13] S. W. Lue, M. Repin, R. Mahnke, and D. J. Brenner, 'Development of a high-throughput and miniaturized cytokinesis-block micronucleus assay for use as a biological dosimetry population triage tool', *Radiat Res*, vol. 184, no. 2, pp. 134–142, Aug. 2015, doi: 10.1667/RR13991.1.
- [14] M. N. Xavier, S. M. Pantaleão, R. Scher, R. Ciolini, F. d'Errico *et al.*, '*Allium cepa* used as a dosimetry system in nuclear and radiological emergencies', *Eur Phys J Plus*, vol. 136, no. 6, Jun. 2021, doi: 10.1140/epjp/s13360-021-01674-8.
- [15] A. Y. Bolsunovsky, E. A. Trofimova, A. V. Zueva, D. V. Dementyev, and M. V. Petrichenkov, 'Effect of Gamma Radiation on Cytogenetic and Growth Endpoints of *Allium cepa* Seedlings in Long-Term Experiments', *Dokl Biochem Biophys*, vol. 503, no. 1, pp. 85–89, Apr. 2022, doi: 10.1134/S1607672922020028.
- [16] G. Fiskesjö, 'The Allium test as a standard in environmental monitoring', *Hereditas*, vol. 102, no. 1, pp. 99–112, 1985, doi: 10.1111/j.1601-5223.1985.tb00471.x.
- [17] F. d'Errico *et al.*, 'Radiation monitoring with plant-based biotas and an automated micronucleus scoring approach', *EPJ Web Conf*, vol. 288, p. 09007, 2023, doi: 10.1051/epjconf/202328809007.
- [18] J. Silvestre, J. E. Matieli, E. Ramos de Andrade, and C. Fedérico, 'Considerações sobre a Utilização de Aeronaves e Dosimetria de Pilotos em Cenários DQBRN', *Aplicações Operacionais em Áreas de Defesa*, vol. 25, no. 1, pp. 24–30, Oct. 2024, doi: 10.55972/spectrum.v25i1.391.
- [19] C. H. Clement *et al.*, 'Annals of the ICRP ICRP Statement on Tissue Reactions and Early and Late Effects of Radiation in Normal Tissues and Organs-Threshold Doses for Tissue Reactions in a Radiation Protection Context ICRP Statement on Tissue Reactions / Early and Late Effects of Radiation in Normal Tissues and Organs-Threshold Doses for Tissue Reactions in a Radiation'.

- [20] G. Dietze *et al.*, 'ICRP publication 123: Assessment of radiation exposure of astronauts in space', *Ann ICRP*, vol. 42, no. 4, pp. 1–339, 2013, doi: 10.1016/j.icrp.2013.05.004.
- [21] K. Fujikawa, S. Endo, T. Itoh, Y. Yonezawa, and M. Hoshi, 'Dose Estimations of Fast Neutrons from a Nuclear Reactor by Micronuclear Yields in Onion Seedlings', 1999. [Online]. Available: <https://academic.oup.com/jrr/article/40/Suppl/S28/1022299>
- [22] W. Zhang, S. Endo, M. Ishikawa, H. Ikeda, and M. Hoshi, 'Relative Biological Effectiveness of Fission Neutrons for Producing Micronuclei in the Root-tip Cells of Onion Seedlings after Irradiation as Dry Seeds', 2002.
- [23] W. Zhang *et al.*, 'Energy-dependent RBE of Neutrons to Induce Micronuclei in Root-tip Cells of *Allium cepa* Onion Irradiated as Dry Dormant Seeds and Seedlings', 2003. [Online]. Available: <http://jrr.jstage.jst.go.jp>