

# RESSALVA

Atendendo solicitação da  
autora, o texto completo desta tese  
será disponibilizado somente a partir  
de 09/08/2021.



UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA  
"JÚLIO DE MESQUITA FILHO"  
INSTITUTO DE BIOCÊNCIAS – RIO CLARO



---

PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS BIOLÓGICAS  
(BIOLOGIA CELULAR E MOLECULAR)

---

FIPRONIL E ETHIPROLE: UM ESTUDO COMPARATIVO EM ORGANISMOS  
NÃO ALVOS

THAYS DE ANDRADE GUEDES

Agosto - 2019

---

**PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS BIOLÓGICAS  
(BIOLOGIA CELULAR E MOLECULAR)**

---

**FIPRONIL E ETHIPROLE: UM ESTUDO COMPARATIVO EM ORGANISMOS  
NÃO ALVOS**

**THAYS DE ANDRADE GUEDES**

**Orientadora: Prof<sup>a</sup> Dr<sup>a</sup> Carmem Silvia Fontanetti Christofolletti**

Tese apresentada ao Instituto de Biociências do Campus de Rio Claro, Universidade Estadual Paulista, como parte dos requisitos para obtenção do título de doutora em Ciências Biológicas, área de Biologia Celular e Molecular.

**Rio Claro  
Estado de São Paulo - Brasil  
Agosto - 2019**

G924f Guedes, Thays de Andrade  
Fipronil e ethiprole: Um estudo comparativo em organismos não  
alvos / Thays de Andrade Guedes. -- Rio Claro, 2019  
91 p. : il., tabs.

Tese (doutorado) - Universidade Estadual Paulista (Unesp),  
Instituto de Biociências, Rio Claro  
Orientadora: Carmem Silvia Fontanetti Christofolletti

1. Defensivo agrícola. 2. Fenilpirazol. 3. Ecotoxicologia. 4.  
Curbix®. 5. Regent®. I. Título.

Sistema de geração automática de fichas catalográficas da Unesp. Biblioteca do Instituto de  
Biociências, Rio Claro. Dados fornecidos pelo autor(a).

Essa ficha não pode ser modificada.

**CERTIFICADO DE APROVAÇÃO**

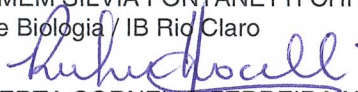
TÍTULO DA TESE: FIPRONIL E ETHIPROLE: UM ESTUDO COMPARATIVO EM ORGANISMOS NÃO ALVOS

**AUTORA: THAYS DE ANDRADE GUEDES**

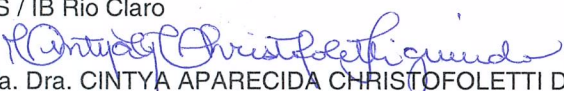
**ORIENTADORA: CARMEM SILVIA FONTANETTI CHRISTOFOLETTI**

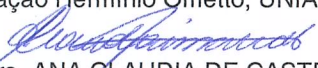
Aprovada como parte das exigências para obtenção do Título de Doutora em CIÊNCIAS BIOLÓGICAS (BIOLOGIA CELULAR E MOLECULAR), pela Comissão Examinadora:

  
Prof. Dra. CARMEM SILVIA FONTANETTI CHRISTOFOLETTI  
Departamento de Biologia / IB Rio Claro

  
Prof. Dra. ROBERTA CORNELIO FERREIRA NOELLI  
Centro de Ciências Agrárias / UFSCar - ARARAS

  
Prof. Dr. ODAIR CORREA BUENO  
CEIS / IB Rio Claro

  
Prof. Dra. CINTYA APARECIDA CHRISTOFOLETTI DE FIGUEIREDO  
x / Fundação Hermínio Ometto, UNIARARAS

  
Prof. Dra. ANA CLAUDIA DE CASTRO MARCATO  
x / x

Rio Claro, 09 de agosto de 2019

“Presentemente eu posso me considerar um sujeito de sorte  
Porque apesar de muito moço me sinto são e salvo e forte  
E tenho comigo pensado, Deus é brasileiro e anda do meu lado  
E assim já não posso sofrer no ano passado”

Antônio Carlos Belchior

## **AGRADECIMENTOS**

À minha família que, mesmo fisicamente distante, permaneceu tão presente no meu dia a dia. Em especial à mamãe e papai que me ensinaram a ir, tentar e conseguir sem ter medo de cair. À avó e madrinha mais linda do mundo, vovó Ana.

Às minhas primeiras e presentes amigas de Rio Claro Amanda e Carlos por nossas vidas conjugadas, abraçadas, confiadas e por não medirem esforços para me ajudar em tudo o que fosse necessário. À minha irmã, companheira e confidente Elis. Ao Emiliano M. por me dar seu amor e me fazer sorrir diariamente.

Aos amigos que o vôlei me proporcionou, em especial aos que extravasaram a barreira do esporte (Marco, Jesus, Rafaela, Guache, Coxinha, Tico, Precoce, Maori, Léo, Valente, Pixel, Thomás, Arroz e Leticia). Às amigas da república Resta 1 (Caci, Sheilla, Lara, Carol, Nicole, Shiva e Frevo), aos meninos da república Computaria e agregados (Bile, Incosto, Carinha, Spiga, Tchay, Piroca, Matrix, Gi Reis), às minhas amigas-irmãs (Gisela, Rochelle, Cintia, Jessica e Hanna) e aos amigos da república Toka e agregados (João, André, Léo, Mirian, Francisco e Bárbara) pelos ótimos momentos.

Aos amigos que o PDSE 2017 me proporcionou em Madrid: os brasileiros Jaque, Fabricio, Mari, Rafa, Thaisa, Nil e Aninha, às minhas *roommates* Cata, Cris e Sara e aos meus companheiros competentíssimos da Universidade Complutense de Madrid Davi, Bernardo, Irma, José e Arantxa.

A todos os fofotes com quem convivi e aprendi, em especial aos sobreviventes Ana Matraca, Jorge e Cleiton. Aos queridos amigos de trabalho do Departamento de Biologia, em especial à Natália, Leticia R., Leticia G, Adriana, Nadia, Lais, Franco, Ana Z., Camila, com os quais convivo mais que minha família.

Aos professores do Departamento de biologia, em especial as professoras Márcia, Karen, Maria Isabel e Marin por cederem gentilmente os laboratórios pelos quais são responsáveis para que eu desenvolvesse minha pesquisa.

Agradeço as agências de fomento, CAPES e FAPESP pelo financiamento do projeto. O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES) - Código de Financiamento 001, bem como pela concessão da bolsa do Programa de Doutorado Sanduíche no Exterior (PDSE) - 88881.132874/2016-01 e da Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP), processo nº 2012/50197-2.

Por fim, à minha orientadora, psicóloga, mãe-postiça Carmem Silva Christofolletti Fontanetti por ter sido exemplo de pesquisadora competente, empática e justa.

## RESUMO

O Brasil é o maior produtor mundial de cana-de-açúcar. O fenilpirazol fipronil está dentre os inseticidas mais utilizados na cultura de cana-de-açúcar. Sua molécula é extremamente ativa e um potente desregulador do sistema nervoso central dos insetos. Devido a sua elevada toxicidade, moléculas como o ethiprole estão sendo empregadas na agricultura em busca de uma alternativa mais segura. Produzido a partir da modificação da molécula do fipronil, poucos estudos têm demonstrado que o ethiprole surgiu no cenário agrário como uma alternativa mais segura que o fipronil aos organismos não alvos em geral. O uso de bioindicadores permite o estudo dos possíveis riscos de inseticidas. Entre estes, plantas e organismos aquáticos são excelentes para avaliar efeitos de agrotóxicos no ambiente. No presente estudo, foi avaliada a ação de diferentes concentrações dos inseticidas Regent® e Curbix® em organismos não alvos, por meio de ferramentas macroscópicas em *Allium cepa* e *Lactuca sativa* e microscópicas em *Oreochromis niloticus*. Os testes de germinação de sementes e alongamento radicular em *A. cepa* e *L. sativa* foram utilizados para a avaliação dos efeitos fitotóxicos no desenvolvimento inicial das plantas. As alterações histopatológicas no fígado de *O. niloticus*, a quantificação de peroxidação lipídica (TBARS), localização *in situ* das proteínas de choque térmico (HSP70) e de fragmentação do DNA (TUNEL) foram empregadas para verificar o potencial tóxico dos inseticidas a nível celular. Os resultados das análises fitotóxicas em *A. cepa* demonstraram que o Curbix® induziu a redução da porcentagem de germinação, do índice de velocidade de germinação (IVG) e do alongamento das raízes expostas às maiores concentrações. Em *L. sativa*, as concentrações residuais de ambos os inseticidas estimularam a velocidade em que as sementes germinaram, bem como o alongamento de suas raízes. Também foi observado que as diluições com as maiores concentrações dos dois inseticidas empregadas em *O. niloticus* induziram peroxidação lipídica e alterações teciduais no fígado dos animais. Diante do apresentado, concluímos que o uso do Curbix® como alternativa ao Regent® é perigoso, uma vez que o Curbix® apresentou maior toxicidade que o Regent® em plantas e toxicidade similar a seu análogo em peixes.

**Palavras-chave:** Curbix®, Regent®, fenilpirazol, ecotoxicologia



## **ABSTRACT**

Brazil is the world's largest sugar cane producer. Phenylpyrazole fipronil is included among the most commonly used insecticides in sugarcane cultivation. Its molecule is extremely active and a powerful deregulator of the central nervous system of insects. Given its high toxicity, molecules such as ethiprole are being employed in agriculture to find a safer alternative. Developed by modifying the Fipronil molecule, few studies have demonstrated whether ethiprole appeared as a safer alternative to Fipronil to non-target organisms in general. The use of bioindicators allows the study of possible risks of insecticides. Among them, plants and aquatic organisms are excellent for assessing the effects of pesticides on the environment. In the present study, it was assessed the effects of different concentrations of Regent® and Curbix® insecticides on non-target organisms, employing macroscopic tools in *Allium cepa* and *Lactuca sativa* and microscopic ones in *Oreochromis niloticus*. Seed germination and root elongation tests on *A. cepa* and *L. sativa* were used to evaluate phytotoxic effects on initial plant development. Histopathological alterations in the liver of *O. niloticus*, quantification of lipid peroxidation (TBARS), *in situ* locations of thermal shock proteins (HSP70), and DNA fragmentation (TUNEL) were used to verify the toxic potential of insecticides at the cellular level. The results of phytotoxic analyses on *A. cepa* showed that Curbix® induced a reduction in germination percentage, germination velocity index (GPI) and root elongation at higher concentrations. In *L. sativa*, the residual concentrations of both insecticides increased the rate at which the seeds germinated, as well as the elongation of their roots. It was also observed that the dilutions with the highest concentrations of the two insecticides used in *O. niloticus* induced lipid peroxidation and tissue alterations in the liver of the animals. In this context, we concluded that the use of Curbix® as an alternative to Regent® is dangerous since Curbix® showed greater toxicity than Regent® in plants and similar toxicity to its analog in fish.

**Keywords:** Curbix®, Regent®, phenylpyrazol, ecotoxicology

# SUMÁRIO

<b>1. INTRODUÇÃO</b> .....	<b>1</b>
<b>2. REVISÃO DE LITERATURA</b> .....	<b>5</b>
2.1. FIPRONIL .....	5
2.2. ETHIPROLE .....	7
2.3. BIOINDICADORES E FERRAMENTAS BIOMARCADORAS EM ESTUDOS ECOTOXICOLÓGICOS .....	9
2.3.1. PLANTAS COMO BIOINDICADORES E FERRAMENTAS UTILIZADAS .....	9
2.3.2. PEIXES COMO BIOINDICADORES E FERRAMENTAS UTILIZADAS .....	11
<b>3. OBJETIVOS</b> .....	<b>14</b>
<b>4. MATERIAIS E MÉTODOS</b> .....	<b>15</b>
4.1. MATERIAIS BIOLÓGICOS .....	15
4.2. INSETICIDAS .....	15
4.3. BIOENSAIO COM <i>A. CEPA</i> E <i>L. SATIVA</i> .....	16
4.3.1. MONTAGEM DO BIOENSAIO .....	16
4.3.2. ANÁLISES DE FITOTOXICIDADE .....	17
4.3.2.1. ÍNDICE DE VELOCIDADE DE GERMINAÇÃO (IVG) E PORCENTAGEM DE GERMINAÇÃO .....	17
4.3.2.2. ALONGAMENTO RADICULAR E TAXA DE FITOTOXICIDADE .....	17
4.4. BIOENSAIO COM <i>O. NILOTICUS</i> .....	17
4.4.1. ANÁLISES FÍSICO-QUÍMICAS .....	17
4.4.2. MONTAGEM DO BIOENSAIO .....	18
4.4.3. ANÁLISE DE PEROXIDAÇÃO LIPÍDICA .....	18
4.4.3.1. PREPARAÇÃO DAS AMOSTRAS .....	18
4.4.3.2. QUANTIFICAÇÃO DA CONCENTRAÇÃO DE PROTEÍNAS TOTAIS .....	18
4.4.3.3. DETERMINAÇÃO DE SUBSTÂNCIAS REATIVAS AO ÁCIDO TIOBARBITÚRICO (TBARS) .....	18
4.4.4. IMUNOMARCAÇÃO DA HSP70 ( <i>THE HEAT SHOCK PROTEINS</i> ) .....	19
4.4.5. APLICAÇÃO DO MÉTODO TUNEL ( <i>TDT-MEDIATED DUTP-BIOTIN NICK END LABELING</i> ) .....	20
4.4.6. HISTOLOGIA .....	20
4.5. ANÁLISES ESTATÍSTICAS .....	21
<b>5. RESULTADOS</b> .....	<b>22</b>
5.1. ARTIGO 1 .....	23
5.2. ARTIGO 2 .....	41
5.3. ARTIGO 3 .....	60
<b>6. CONSIDERAÇÕES FINAIS</b> .....	<b>78</b>
<b>REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS</b> .....	<b>79</b>

## 1. INTRODUÇÃO

O Brasil é um consumidor assíduo de defensivos agrícolas. Sua relação com esses agentes não é recente; no entanto, dados do Sindicato Nacional da Indústria de Produtos para Defesa Vegetal (SINDIVEG) demonstram que nas últimas décadas assumiu proporções preocupantes quando a venda de produtos agrícolas saltou, entre os anos de 2001 e 2008, de um pouco mais de US\$ 2 bilhões para mais de US\$ 7 bilhões, tornando-se o maior consumidor mundial de defensivos agrícolas. Apesar de manter este título atualmente, um levantamento feito pela Organização das Nações Unidas para Alimentação e Agricultura (FAO, sigla do inglês *Food and Agriculture Organization*) revelou que, quando se considera a área cultivada, e, ainda, o volume de produção agrícola, o Brasil tem feito uso eficiente dos defensivos agrícolas produzindo muito mais e com bem menos defensivos que país de primeiro mundo (SINDIVEG, 2018).

Atualmente, cerca de 81% dos defensivos usados no Brasil tem como destino quatro culturas, sendo elas soja, cana-de-açúcar, milho e algodão (SINDIVEG, 2018). O Brasil é o maior produtor mundial de cana-de-açúcar, seguido pela Índia, Tailândia e Austrália (UNICA, 2015). Em 2017, tal cultivo foi responsável por 11,7%, em valor (US\$), do consumo de defensivos agrícolas no país (SINDIVEG, 2018). O fipronil está entre os principais inseticidas utilizados no cultivo de cana-de-açúcar no país. Sua classificação toxicológica é de classe II (altamente tóxico) e é caracterizado como um composto de contato e ingestão.

O fipronil foi desenvolvido entre os anos 1985 e 1987 (TINGLE et al., 2003), chegou ao mercado em 1993 como o primeiro fenilpirazol para controle de pragas (TOMLIN, 2000) e foi considerado um dos inseticidas mais bem-sucedidos por mais de uma década por ser altamente versátil, menos tóxico aos organismos não-alvos que os utilizados na época e por pertencer, naquele momento, a um novo grupo de pesticidas. Ele é um composto neurotóxico, atuando sobre os receptores GABA (ácido gama-aminobutírico) de insetos (COLE; NICHOLSON; CASIDA, 1993).

Com sua expansão mundial, diversos estudos ecotoxicológicos foram realizados e comprovaram sua toxicidade sobre inúmeros organismos não alvos, como genotoxicidade e interferência no crescimento radicular de plantas (AHEMAD; SAGHIR KHAN, 2011; YILDIRIM; AGAR, 2016; KARAISSMAILIOLU, 2017); morte e redução de peso e crescimento de oligoquetas (QIN et al., 2015), atraso no desenvolvimento e comprometimento na reprodução de crustáceos (CHANDLER et al., 2004; GOFF et al., 2017); malformação corporal e lesão na atividade neural de insetos polinizadores (ROAT et

al., 2013; JACOB et al., 2015; SILVA et al., 2015); estresse oxidativo, alterações histopatológicas nas brânquias, encurtamento do eixo longitudinal e comprometimento da natação em peixes (STEHR et al., 2006; BEGGEL et al., 2010; CLASEN et al., 2012; ELMURR; HAKIM; GHONIMI, 2015; WANG et al., 2016); genotoxicidade em embriões e redução de massa corporal em aves (CONCEIÇÃO; PROTTI, 2012; KITULAGODAGE et al., 2011; KITULAGODAGE; BUTTEMER; ASTHEIMER, 2011); e citotoxicidade em hepatócitos, genotoxicidade em células da amígdala palatina, estresse oxidativo e citotoxicidade em células dopaminérgicas e genotoxicidade em linfócitos de mamíferos (DAS et al., 2006; TISH et al., 2007; KI et al., 2012; ÇELIK et al., 2014).

Visto isto, um levantamento bibliográfico internacional foi apresentado nos últimos anos com o intuito de planejar a supressão progressiva em escala mundial ou, pelo menos, formular planos destinados a reduzir o uso de alguns agroquímicos no mundo, como o fipronil (BONMATIN et al., 2015; PISA et al., 2014; SIMON-DELSO et al., 2015; VAN DER SLUIJS et al., 2015; VAN LEXMOND et al., 2015).

Em paralelo ao contínuo esforço da comunidade científica em elucidar os danos do fipronil sobre os organismos, se encontra o desenvolvimento de resistência nos insetos alvos resultado por seu uso extensivo ao longo dos anos. Neste sentido, Arthur (2002) e Caboni et al. (2003) realizaram estudos sobre efetividade, metabolismo, fotodegradação e ação GABAérgica de um novo membro da família fenilpirazol, o ethiprole. Segundo os autores, apesar de apresentar menor lipofilicidade e menor toxicidade em ratos que o fipronil, o inseticida foi basicamente tão efetivo quanto seu análogo fipronil. Então, em 2010 foi produzido o Curbix®, composto comercial do ethiprole, que segundo o fabricante conta com três grandes diferenciais: rápido efeito de choque, além de pertencer a um novo grupo químico para controle de cigarrinhas (*Mahanarva fimbriolata*) – um dos principais insetos-praga da cana-de-açúcar.

Pouco se sabe sobre seus impactos sobre o meio ambiente, menos ainda quando se apresenta na forma de composto comercial, ou seja, uma mistura de ingrediente ativo e adjuvantes que lhe proporcionam maior solubilidade e o protegem da degradação de modo que, conseqüentemente, aumente sua meia-vida e melhore sua ação. Por isso, é evidente a importância de estudos sobre os potenciais danos ocasionados por inseticidas como o Curbix®, uma vez que, dependendo da exposição, todos os seres vivos estão sujeitos a seus efeitos deletérios e a seus diferentes componentes.

Para que se possa investigar a possibilidade de substituição de defensivos agrícolas sabidamente tóxicos aos organismos por alternativas mais seguras, são necessárias

ferramentas que deem uma resposta satisfatória e que mensurem seus efeitos nos organismos vivos. Para isso, plantas e animais têm sido utilizados como indicadores biológicos no intuito de determinar o grau de impacto que estes agentes possam causar no meio.

Bioensaios com plantas têm sido utilizados extensivamente ao longo de décadas, sendo estes bem estabelecidos e recomendados em estudos de ecotoxicologia (CHRISTOFOLETTI; PEDRO-ESCHER; FONTANETTI, 2013; GRANT, 1982; RODRÍGUEZ et al., 2015; SCHERER et al., 2019; SILVEIRA et al., 2017). Entre os testes de avaliação de agentes poluentes está o ensaio de germinação e crescimento de raiz. Diferentes espécies são utilizadas, dentre elas estão a alface (*Lactuca sativa*) e a cebola (*Allium cepa*). As análises consistem na exposição de suas sementes a um agente potencialmente tóxico e são observados parâmetros como número de sementes germinadas e alongamento de raiz (LEWIS, 1995). É um teste simples, rápido e confiável, além de ser recomendado para a avaliação do potencial fitotóxico de substâncias (ANDRADE-VIEIRA; PALMIERI; DAVIDE, 2017; BONCIU et al., 2018; VALERIO; GARCÍA; PEINADO, 2007).

Peixes também são ótimos bioindicadores na avaliação de agentes potencialmente tóxicos (ANSOAR-RODRÍGUEZ et al., 2015; CLASEN et al., 2012; FUZINATTO et al., 2013). A espécie *Oreochromis niloticus* (tilápia do Nilo) possui amplo uso nas avaliações ecotoxicológicas (ARANA et al., 2017; CHRISTOFOLETTI; DAVID; FONTANETTI, 2009; EL-MURR; HAKIM; GHONIMI, 2015). O uso de biomarcadores morfológicos pode ser empregado em vários órgãos de peixes como a tilápia. Quando presente no fígado desses animais promove evidências qualitativas de alterações funcionais advindas da exposição aos contaminantes (FONTANETTI et al., 2011). Diferentes testes podem ser feitos, uma vez que as células hepáticas possuem diversas funções vitais como a metabolização de proteínas, lipídios e carboidratos, processamento e armazenamento dos nutrientes absorvidos no trato digestório, atuam na desintoxicação do organismo e na hematopoese durante a fase larval, além de estarem envolvidos na produção de anticorpos (VERLAG, 1982).

Do mesmo modo, biomarcadores moleculares são excelentes ferramentas para a detecção dos primeiros impactos de poluentes em peixes (BADGUJAR et al., 2016; CLASEN et al., 2018; HEGAZI; ATTIA; ASHOUR, 2010). Dentre os vários ensaios encontrados na literatura, estão a quantificação de peroxidação lipídica, imunomarcação de proteínas ligadas ao estresse celular e de fragmentação do DNA (MOREIRA-DE-SOUSA; SOUZA; FONTANETTI, 2018; REGOLI; GIULIANI, 2014; ROMERO et al., 2016). Esses marcadores são capazes de revelar o estresse oxidativo sofrido pela exposição à determinadas

substâncias, ou seja, o desequilíbrio no balanço redox onde a geração de espécies reativas de oxigênio (EROs) que, por serem altamente reativas e inespecíficas, geralmente oxidam biomoléculas como lipídios, carboidratos, proteínas e DNA e, com isso, prejudicam as funções celulares (HALLIWELL; GUTTERIDGE, 2008). Como outros organismos, os peixes possuem sistema de defesa que compreende processos enzimáticos e não enzimáticos para minimizar o dano celular, eliminando as EROs e as convertendo em espécies menos reativas (KAVIRAJ; GUPTA, 2014). Caso o sistema de defesa não seja suficientemente capaz de atuar na proteção da célula e garantir que o dano gerado pelo agente estressor não acarrete na morte celular, um grande gasto energético será necessário para, então, ativar a cascata apoptótica.

Diante do exposto acima e visando a importância do uso de defensivos agrícolas no cultivo, armazenamento e beneficiamento de produtos agrícolas, seus impactos na economia mundial e a crescente demanda do mercado por produtos que sejam menos prejudiciais ao meio ambiente, este projeto teve por objetivo investigar e comparar o potencial tóxico de diferentes concentrações dos inseticidas fipronil e ethiprole, por meio de diferentes biomarcadores presentes em plantas (*A. cepa* e *L. sativa*) e em peixes (*O. niloticus*).

#### 4. CONSIDERAÇÕES FINAIS

Com base nas análises realizadas e nos dados obtidos no presente estudo, podemos concluir que:

- As maiores concentrações do Curbix® apresentaram efeito tóxico sobre as sementes de *A. cepa*, reduzindo sua germinação e diminuindo o alongamento das raízes emergidas sugerindo um efeito subletal deste composto. Por outro lado, as sementes de *L. sativa* expostas às três menores concentrações de Regent® e Curbix® sofreram aumento no IVG, bem como no alongamento de suas raízes. Por esta análise, concluímos que o Curbix® (ethiprole) foi mais tóxico que o Regent® (fipronil).
- A análise morfológica realizada em fígado de *O. niloticus* demonstrou que tanto o Regent® como o Curbix® induziram alterações hepáticas pontuais, porém não significativas estatisticamente, com exceção da presença de núcleos picnóticos nos animais expostos ao Regent®.
- As maiores diluições testadas dos dois inseticidas induziram peroxidação lipídica nos animais expostos.
- As HSP70 atuaram como barreira ao estresse oxidativo causado pelos inseticidas.
- Não foram observadas fragmentações de DNA estatisticamente significativas nos animais expostos sugerindo que a presença dos inseticidas na água não induziu o processo de morte celular no fígado dos animais.
- O Curbix® se comportou similarmente ao Regent® sobre *O. niloticus* e apresentou maior potencial de dano sobre *A. cepa* nas concentrações avaliadas neste estudo.
- Diante do apresentado, concluímos que o uso do Curbix® como alternativa ao Regent® é perigoso, uma vez que, embora tenham sido usadas doses 15 vezes menores que o Regent®, a exposição ao Curbix® gerou danos similares ao seu análogo em peixes e acarretou a danos maiores em plantas.

## 5. REFERÊNCIAS

- AAJOUD, A.; RAVANEL, P.; TISSUT, M. Fipronil metabolism and dissipation in a simplified aquatic ecosystem. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, 2003.
- AHEMAD, M.; SAGHIR KHAN, M. Comparative study of the growth parameters of legumes grown in fipronil-stressed soils. **EurAsian Journal of Biosciences**, v. 36, p. 29–36, 2011.
- AL-SHAMSI, L.; HAMZA, W.; EL-SAYED, A.-F. Effects of food sources on growth rates and survival of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) fry. **Aquatic Ecosystem Health & Management**, v. 9, n. 4, p. 447–455, 2006.
- ANDRADE-VIEIRA, L. F.; DAVIDE, L. C.; GEDRAITE, L. S.; CAMPOS, J. M. S.; AZEVEDO, H. Genotoxicity of SPL (spent pot lining) as measured by *Tradescantia* bioassays. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 74, n. 7, p. 2065–2069, 2011.
- ANDRADE-VIEIRA, L. F.; PALMIERI, M. J.; DAVIDE, L. C. Effects of long exposure to spent potliner on seeds, root tips, and meristematic cells of *Allium cepa* L. **Environmental Monitoring and Assessment**, v. 189, n. 10, p. 489, 2017.
- ANSOAR-RODRÍGUEZ, Y.; CHRISTOFOLETTI, C. A.; MARCATO, A. C.; CORREIA, J. E.; BUENO, O. C.; MALASPINA, O.; FONTANETTI, C. S. genotoxic potential of the insecticide imidacloprid in a non-target organism (*Oreochromis niloticus*-Pisces) \*. **Journal of Environmental Protection**, v. 6, p. 1360–1367, 2015.
- ANSOAR-RODRÍGUEZ, Y.; CHRISTOFOLETTI, C. A.; CORREIA, J. E.; DE SOUZA, R. B.; MOREIRA-DE-SOUSA, C.; MARCATO, A. C. C.; BUENO, O. C.; MALASPINA, O.; SILVA-ZACARIN, E. C. M.; FONTANETTI, C. S. Liver alterations in *Oreochromis niloticus* (Pisces) induced by insecticide imidacloprid: Histopathology and heat shock protein in situ localization. **Journal of Environmental Science and Health, Part B**, v. 51, n. 12, p. 881–887, 2016.
- ARANA, S.; ANSOAR-RODRÍGUEZ, Y.; GUEDES, T. de A.; MARCATO, A. C. de C.; CORREIA, J. E.; FONTANETTI, C. S. Peixes como bioindicadores do impacto no ambiente aquático induzido por agrotóxicos empregados no cultivo da cana-de-açúcar. In: FONTANETTI, C. S.; BUENO, O. C. (Eds.). **Cana-de-açúcar e seus impactos: uma visão acadêmica**. Bauru: Canal 6, 2017. p. 229–250.
- ARTHUR, F. H. Efficacy of ethiprole applied alone and in combination with conventional insecticides for protection of stored wheat and stored corn. **Journal of Economic Entomology**, v. 95, n. 6, p. 1314–1318, 2002.
- ATEEQ, B.; ABUL FARAH, M.; NIAMAT ALI, M.; AHMAD, W. Induction of



micronuclei and erythrocyte alterations in the catfish *Clarias batrachus* by 2,4-dichlorophenoxyacetic acid and butachlor. **Mutation Research - Genetic Toxicology and Environmental Mutagenesis**, v. 518, n. 2, p. 135-144, 2002.

BADGUJAR, P. C.; CHANDRATRE, G. A.; PAWAR, N. N.; TELANG, A. G.; KURADE, N. P. Fipronil induced oxidative stress involves alterations in SOD1 and catalase gene expression in male mice liver: Protection by vitamins E and C. **Environmental Toxicology**, v. 31, n. 9, p. 1147-1158, 2016.

BEGGEL S.; WERNER I.; CONNON R. E.; GEIST, J. Sublethal toxicity of commercial insecticide formulations and their active ingredients to larval fathead minnow (*Pimephales promelas*). **Science of the Total Environment**, v. 408, n. 16, p. 3169-3175, 2010

BERNET, D.; SCHMIDT, H.; MEIER, W.; BURKHARDT-HOLM, P.; WAHLI, T. Histopathology in fish: Proposal for a protocol to assess aquatic pollution. **Journal of Fish Diseases**, v. 22, n. 1, p. 25–34, 1999.

BONCIU, E.; FIRBAS, P.; FONTANETTI, C. S.; WUSHENG, J.; KARAISSMAILIĞLU, M. C.; LIU, D.; MENICUCCI, F.; PESNYA, D. S.; POPESCU, A.; ROMANOVSKY, A. V.; SCHIFF, S.; ŚLUSARCZYK, J.; DE SOUZA, C. P.; SRIVASTAVA, A.; SUTAN, A.; PAPINI, A. An evaluation for the standardization of the *Allium cepa* test as cytotoxicity and genotoxicity assay. **Caryologia**, v. 71, n. 3, p. 191–209, 2018.

BONMATIN, J. M.; GIORIO, C.; GIROLAMI, V.; GOULSON, D.; KREUTZWEISER, D. P.; KRUPKE, C.; LIESS, M.; LONG, E.; MARZARO, M.; MITCHELL, E. A.; NOOME, D. A.; SIMON-DELISO, N.; TAPPARO, A. Environmental fate and exposure; neonicotinoids and fipronil. **Environmental Science and Pollution Research**, v. 22, n. 1, p. 35–67, 2015.

BRADFORD, M. M. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. **Analytical Biochemistry**, v. 72, n. 1-2, p. 248-254, 1976.

BUEGE, J. A.; AUST, S. D. Microsomal lipid peroxidation. In: **Methods in enzymology**. Elsevier, 1978. v. 52p. 302–310.

CABONI, P.; SAMMELSON, R. E.; CASIDA, J. E. phenylpyrazole insecticide photochemistry, metabolism, and GABAergic action: Ethiprole compared with fipronil. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 51, n. 24, p. 7055–7061, 2003.

CARVALHO, G. G. P.; PIRES, A. J. V.; VELOSO, C. M.; SILVA, F. F.; CARVALHO, B. M. A. Silagem de resíduo de peixes em dietas para alevinos de tilápia-do-Nilo. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 35, n. 1, p. 126–130, 2006.

ÇELİK, Ayla et al. In vitro genotoxicity of fipronil sister chromatid exchange, cytokinesis block micronucleus test, and comet assay. **DNA and cell biology**, v. 33, n. 3, p. 148-154, 2014.

CHANDLER, G. T.; CARY, T. L.; VOLZ, D. C.; WALSE, S. S.; FERRY, J. L.; KLOSTERHAUS, S. L. Fipronil effects on estuarine copepod (*Amphiascus tenuiremis*) development, fertility, and reproduction: A rapid life-cycle assay in 96-well microplate format. **Environmental Toxicology and Chemistry**, v. 23, n. 1, p. 117–124, 2004.

CHATON, P. F.; RAVANEL, P.; TISSUT, M.; MEYRAN, J. C. Toxicity and bioaccumulation of fipronil in the nontarget arthropodan fauna associated with subalpine mosquito breeding sites. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 52, n. 1, p. 8–12, 2002.

CHOI, J. E.; KIM, S.; AHN, J. H.; YOUN, P.; KANG, J. S.; PARK, K.; YI, J.; RYU, D.-Y. Induction of oxidative stress and apoptosis by silver nanoparticles in the liver of adult zebrafish. **Aquatic Toxicology**, v. 100, n. 2, p. 151–159, 2010.

CHOU, C.-H.; LIN, H.-J. Autointoxication mechanism of *Oryza sativa* I. Phytotoxic effects of decomposing rice residues in soil. **Journal of Chemical Ecology**, v. 2, n. 3, p. 353–367, 1976.

CHOU, C.; HUANG, A.; HUANG, Y.; LIN, W.; LEE, C. Impacts of water-pollution on crop growth in Taiwan. The detrimental effects of industrial-waste waters from dye, livestock, plating, leather, synthetic-fiber, food, and fertilizer factories in Taiwan. **Botanical Bulletin of Academia Sinica**, v. 22, n. 1, p. 9–33, 1981.

CHRISTOFOLETTI, C. A.; DAVID, J. A. O.; FONTANETTI, C. S. Application of the comet assay in erythrocytes of *Oreochromis niloticus* (Pisces): A methodological comparison. **Genetics and Molecular Biology**, v. 32, n. 1, p. 155–158, 2009.

CHRISTOFOLETTI, C. A.; PEDRO-ESCHER, J.; FONTANETTI, C. S. Assessment of the genotoxicity of two agricultural residues after processing by diplopods using the *Allium cepa* assay. **Water, Air, and Soil Pollution**, v. 224, n. 4, 2013.

CLASEN, B.; LORO, V. L.; CATTANEO, R.; MORAES, B.; LÓPES, T.; DE AVILA, L. A.; ZANELLA, R.; REIMCHE, G. B.; BALDISSEROTTO, B. Effects of the commercial formulation containing fipronil on the non-target organism *Cyprinus carpio*: Implications for rice-fish cultivation. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 77, p. 45-51, 2012.

CLASEN, B.; LORO, V. L.; MURUSSI, C. R.; TIECHER, T. L.; MORAES, B.; ZANELLA, R. Bioaccumulation and oxidative stress caused by pesticides in *Cyprinus carpio* reared in a rice-fish system. **Science of the Total Environment**, v. 626, p. 737-743,

2018.

COELHO, M. P. M.; CORREIA, J. E.; VASQUES, L. I.; MARCATO, A. C. de C.; GUEDES, T. de A.; SOTO, M. A.; BASSO, J. B.; KIANG, C.; FONTANETTI, C. S.

Toxicity evaluation of leached of sugarcane vinasse: Histopathology and immunostaining of cellular stress protein. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 165, p. 367–375, 2018.

COLE, L. M.; NICHOLSON, R. A.; CASIDA, J. E. Action of phenylpyrazole insecticides at the GABA-Gated chloride channel. **Pesticide Biochemistry and Physiology**, v. 46, n. 1, p. 47–54, 1993.

CONCEIÇÃO, M.; PROTTI, B. Genotoxicity of selected pesticides in the Hen's Egg Test for Micronucleus Induction. **Ecotoxicology and Environmental Contamination**, v. 7, n. 1, 2012.

COSTA, R. The eukaryotic nucleotide excision repair pathway. **Biochimie**, v. 85, n. 11, p. 1083–1099, 2003.

DAS, P. C.; CAO, Y.; CHERRINGTON, N.; HODGSON, E.; ROSE, R. L. Fipronil induces CYP isoforms and cytotoxicity in human hepatocytes. **Chemico-Biological Interactions**, v. 164, n. 3, p. 200–214, 2006.

DE OLIVEIRA, P. R.; BECHARA, G. H.; DENARDI, S. E.; OLIVEIRA, R. J.; MATHIAS, M. I. C. Cytotoxicity of fipronil on mice liver cells. **Microscopy Research and Technique**, [s. l.], v. 75, n. 1, p. 28–35, 2011.

DE OLIVEIRA, P. R.; BECHARA, G. H.; DENARDI, S. E.; OLIVEIRA, R. J.; MATHIAS, M. I. C. Genotoxic and mutagenic effects of fipronil on mice. **Experimental and Toxicologic Pathology**, v. 64, n. 6, p. 569–573, 2012a.

DE OLIVEIRA, P. R.; BECHARA, G. H.; DENARDI, S. E.; OLIVEIRA, R. J.; MATHIAS, M. I. C. Cytotoxicity of fipronil on mice liver cells. **Microscopy Research and Technique**, v. 75, n. 1, p. 28–35, 2012b.

DE SOUZA, C. P.; GUEDES, T. de A.; FONTANETTI, C. S. Evaluation of herbicides action on plant bioindicators by genetic biomarkers: a review. **Environmental Monitoring and Assessment**, v. 188, n. 12, p. 694, 2016,

EL-MURR, A. E.; HAKIM Y, T. S. I.; GHONIMI, W. A. Histopathological, immunological, hematological and biochemical effects of fipronil on Nile tilapia (*Oreochromis Niloticus*). **Journal of Veterinary Science & Technology**, v. 06, n. 05, p. 1–9, 2015.

ENARI, M.; SAKAHIRA, H.; YOKOYAMA, H.; OKAWA, K.; IWAMATSU, A.;

NAGATA, S. A caspase-activated DNase that degrades DNA during apoptosis, and its inhibitor ICAD. **Nature**, v. 391, n. 6662, p. 43–50, 1998.

EVANS, M. D.; COOKE, M. S. Factors contributing to the outcome of oxidative damage to nucleic acids. **BioEssays**, v. 26, n. 5, p. 533–542, 2004.

FERREIRA, M.; DE OLIVEIRA, P. R.; DENARDI, S. E.; BECHARA, G. H.; MATHIAS, M. I. C. Action of the chemical agent fipronil (active ingredient of acaricide Frontline®) on the liver of mice: An ultrastructural analysis. **Microscopy Research and Technique**, v. 75, n. 2, p. 197–205, 2012.

FISKESJÖ, G. The Allium test as a standard in environmental monitoring. **Hereditas**, v. 102, n. 1, p. 99–112, 1985.

FONTANETTI, C. S.; NOGAROL, L. R.; SOUZA, R. B.; PEREZ, D. G.; MAZIVIERO, G. Bioindicators and biomarkers in the assessment of soil toxicity. In: PASCUCCI, S. (Ed.). **Soil Contamination**. Rijeka: InTech, 2011. p. 143–168.

FUNG, H. T.; CHAN, K. K.; CHING, W. M.; KAM, C. W. A case of accidental ingestion of ant bait containing fipronil. **Journal of Toxicology: Clinical Toxicology**, v. 41, n. 3, p. 245–248, 2003.

FUZINATTO, C. F.; FLOHR, L.; MELEGARI, S. P.; MATIAS, W. G. Induction of micronucleus of *Oreochromis niloticus* exposed to waters from the Cubatão do Sul River, southern Brazil. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 98, p. 103–109, 2013.

GOFF, A. D.; SARANJAMPOUR, P.; RYAN, L. M.; HLADIK, M. L.; COVI, J. A.; ARMBRUST, K. L.; BRANDER, S. M. The effects of fipronil and the photodegradation product fipronil desulfinyl on growth and gene expression in juvenile blue crabs, *Callinectes sapidus*, at different salinities. **Aquatic Toxicology**, v. 186, p. 96–104, 2017.

GRANT, W. F. Chromosome aberration assays in Allium. **Mutation Research/Reviews in Genetic Toxicology**, v. 99, n. 3, p. 273–291, 1982.

GUEDES, T.; FONTANETTI, C. Investigation of the action of ethiprole in non-target organisms using *Oreochromis niloticus* as a bioindicator. **Toxicology Letters**, v. 229, p. S130–S131, 2014.

GUEDES, T. A. **Investigação dos efeitos tóxicos, citotóxicos, genotóxicos e mutagênicos do inseticida Curbix® 200SC (ethiprole) em organismos não alvos**. Universidade Estadual Paulista, 2015.

HAINZL, D.; COLE, L. M.; CASIDA, J. E. Mechanisms for selective toxicity of fipronil insecticide and its sulfone metabolite and desulfinyl photoproduct. **Chemical Research in Toxicology**, v. 11, n. 12, p. 1529–1535, 1998.

HALLIWELL, B.; GUTTERIDGE, J. M. C. **Free radicals in biology and medicine**. New York: Oxford University Press, 2008.

HALLIWELL, B.; GUTTERIDGE, J. M. C. **Free Radicals in Biology & Medicine**. Fifth ed. United Kingdom: Oxford University Press, 2015.

HAMPTON, J. A.; CLARK LANTZ, R.; GOLDBLATT, P. J.; LAUREN, D. J.; HINTON, D. E. Functional units in rainbow trout (*Salmo gairdneri*, Richardson) liver: II. The biliary system. **The Anatomical Record**, v. 221, n. 2, p. 619–634, 1988.

HARSHBARGER, J. C.; CLARK, U. J. B. Epizootiology of neoplasms in bony fish of North America. **Science of the Total Environment**, v. 94, n. 1–2, p. 1–32, 1990.

HEGAZI, M. M.; ATTIA, Z. I.; ASHOUR, O. A. Oxidative stress and antioxidant enzymes in liver and white muscle of Nile tilapia juveniles in chronic ammonia exposure. **Aquatic Toxicology**, v. 99, n. 2, p. 118–125, 2010.

HOCHSTEIN, P.; JAIN, S. K. Association of lipid peroxidation and polymerization of membrane proteins with erythrocyte aging. **Federation proceedings**, v. 40, n. 2, p. 183–8, 1981.

HURLEY, Pamela M. Mode of carcinogenic action of pesticides inducing thyroid follicular cell tumors in rodents. **Environmental health perspectives**, v. 106, n. 8, p. 437–445, 1998.

JACOB, C. R.; SOARES, H. M.; NOCELLI, R. C.; MALASPINA, O. Impact of fipronil on the mushroom bodies of the stingless bee *Scaptotrigona postica*. **Pest Management Science**, v. 71, n. 1, p. 114–122, 2015.

JENNINGS, K. A.; CANERDY, T. D.; KELLER, R. J.; ATIEH, B. H.; DOSS, R. B.; GUPTA, R. C. Human exposure to fipronil from dogs treated with frontline. **Veterinary and human toxicology**, v. 44, n. 5, p. 301–303, 2002.

JUNQUEIRA, L. C. U.; JUNQUEIRA, L. Técnicas básicas de citologia e histologia. In: JUNQUEIRA, G. J. P. (Ed.). **São Paulo: Santos**. Santos: São Paulo, 1983. p. 102.

KAVIRAJ, A.; GUPTA, A. Biomarkers of type II synthetic pyrethroid pesticides in freshwater fish. **BioMed Research International**, v. 2014, 2014.

KITULAGODAGE, M.; BUTTEMER, W. A.; ASTHEIMER, L. B. Adverse effects of fipronil on avian reproduction and development: maternal transfer of fipronil to eggs in zebra finch *Taeniopygia guttata* and in ovo exposure in chickens *Gallus domesticus*. **Ecotoxicology**, v. 20, n. 4, p. 653–660, 2011.

KITULAGODAGE, M.; ISANHART, J.; BUTTEMER, W. A.; HOOPER, M. J.; ASTHEIMER, L. B. Fipronil toxicity in northern bobwhite quail *Colinus virginianus*: Reduced feeding behaviour and sulfone metabolite formation. **Chemosphere**, v. 83, n. 4, p.

524–530, 2011.

KUMARAN, N.; KUMAR, B. V.; BOOMATHI, N.; KUTTALAM, S.; GUNASEKARAN, K. Non-target effect of ethiprole 10 SC to predators of rice planthoppers. **Madras Agricultural Journal**, v. 96, n. 1/6, p. 208-212, 2009.

LEGHAIT, J.; GAYRARD, V.; PICARD-HAGEN, N.; CAMP, M., PERDU, E.; TOUTAIN, P. L.; VIGUIÉ, C. Fipronil-induced disruption of thyroid function in rats is mediated by increased total and free thyroxine clearances concomitantly to increased activity of hepatic enzymes. **Toxicology**, v. 255, n. 1-2, p. 38-44, 2009.

LEME, D. M.; MARIN-MORALES, M. A. *Allium cepa* test in environmental monitoring: A review on its application. **Mutation Research - Reviews in Mutation Research**, v. 682, n. 1, p. 71–81, 2009.

LEWIS, M. Algae and vascular plant tests. In: G. RAND (Ed.). **Aquatic toxicology: Effects, environmental fate and risk assessment**. USA: Taylor & Francis Publishers, 1995. p. 135–169.

LIU, S.; YANG, C.; XIE, W.; XIA, C.; FAN, P. The Effects of cadmium on germination and seedling growth of *Suaeda salsa*. **Procedia Environmental Sciences**, v. 16, p. 293–298, 2012.

LOCKSHIN, R. A.; ZAKERI, Z. F. Programmed cell death: New thoughts and relevance to aging. **Journal of Gerontology**, v. 45, n. 5, p. B135–B140, 1990.

LOGHMAN, A. Histopathologic and apoptotic effect of nanosilver in liver of broiler chickens. **African Journal of Biotechnology**, v. 11, n. 22, p. 6207–6211, 2012.

MAHROUS, K. F.; HASSAN, A. M.; RADWAN, H. A.; MAHMOUD, M. A. Inhibition of cadmium- induced genotoxicity and histopathological changes in Nile tilapia fish by Egyptian and Tunisian montmorillonite clay. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 119, p. 140–147, 2015.

MAKSYMIV, I. V.; HUSAK, V. V.; MOSIICHUK, N. M.; MATVIISHYN, T. M.; SLUCHYK, I. Y.; STOREY, J. M.; STOREY, K. B.; LUSHCHAK, V. I. Hepatotoxicity of herbicide Sencor in goldfish may result from induction of mild oxidative stress. **Pesticide Biochemistry and Physiology**, v. 122, p. 67–75, 2015.

MARGARIDO, T. C. S.; FELÍCIO, A. A.; DE CERQUEIRA ROSSA-FERES, D.; ALVES DE ALMEIDA, E. Biochemical biomarkers in *Scinax fuscovarius* tadpoles exposed to a commercial formulation of the pesticide fipronil. **Marine Environmental Research**, v. 91, p. 61–67, 2013.

MARINHO, J. F. U.; CORREIA, J. E.; MARCATO, A. C. de C.; PEDRO-ESCHER, J.;

FONTANETTI, C. S. Sugar cane vinasse in water bodies: Impact assessed by liver histopathology in tilapia. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 110, p. 239–245, 2014.

MOFFAT, A. New chemicals seek to outwit insect pests. **Science**, v. 261, n. 5121, p. 550–551, 1993.

MOHAMED, F.; SENARATHNA, L.; PERCY, A.; ABEYEWARDENE, M.; EAGLESHAM, G.; CHENG, R.; AZHER, S.; HITTARAGE, A.; DISSANAYAKE, W.; SHERIFF, M. R.; DAVIES, W.; BUCKLEY, N.; EDDLESTON, M. Acute human self-poisoning with the N-phenylpyrazole insecticide fipronil –A GABA A -gated chloride channel blocker europe PMC funders group. **J Toxicol Clin Toxicol**, v. 42, n. 7, p. 955–963, 2004.

MOREIRA-DE-SOUSA, C.; SOUZA, R. B.; FONTANETTI, C. S. HSP70 as a biomarker: an excellent tool in environmental contamination analysis—a review. **Water, Air, & Soil Pollution**, v. 229, n. 8, p. 264, 2018.

MOUSA, M. A.; MOUSA, S. A. Immunocytochemical study on the localization and distribution of the somatolactin cells in the pituitary gland and the brain of *Oreochromis niloticus* (Teleostei, Cichlidae). **General and Comparative Endocrinology**, v. 113, n. 2, p. 197-211, 1999.

MULROONEY, J. E.; GOLI, D. Efficacy and degradation of fipronil applied to cotton for control of *Anthonomus grandis grandis* (Coleoptera: Curculionidae). **Journal of Economic Entomology**, v. 92, n. 6, p. 1364–1368, 1999.

MYDLARZ, L. D.; JONES, L. E.; HARVELL, C. D. Innate immunity, environmental and disease ecology of marine and freshwater invertebrates. **Annual Review of Ecology, Evolution, and Systematics**, v. 37, n. 2006, p. 251–288, 2006.

OHI, M. Reproductive adverse effects of fipronil in Wistar rats. **Toxicology Letters**, v. 146, n. 2, p. 121–127, 2004.

PADMINI, E.; USHA RANI, M. Impact of seasonal variation on HSP70 expression quantitated in stressed fish hepatocytes. **Comparative Biochemistry and Physiology Part B: Biochemistry and Molecular Biology**, v. 151, n. 3, p. 278–285, 2008.

PALMIERI, M. J.; LUBER, J.; ANDRADE-VIEIRA, L. F.; DAVIDE, L. C. Cytotoxic and phytotoxic effects of the main chemical components of spent pot-liner: A comparative approach. **Mutation Research/Genetic Toxicology and Environmental Mutagenesis**, v. 763, p. 30–35, 2014.

PISA, L. W.; AMARAL-ROGERS, V.; BELZUNCES, L. P.; BONMATIN, J. M.;

DOWNS, C. A.; GOULSON, D.; KREUTZWEISER, D. P.; KRUPKE, C.; LIESS, M.; MCFIELD, M.; MORRISSEY, C. A.; NOOME, D. A.; SETTELE, J.; SIMON-DELISO, N.; STARK, J. D.; VAN DER SLUIJS, J. P.; VAN DYCK, H.; WIEMERS, M. Effects of neonicotinoids and fipronil on non-target invertebrates. **Environmental Science and Pollution Research**, v. 22, n. 1, p. 68–102, 2014.

PONCE-MARBÁN, D.; HERNÁNDEZ, J. M.; GASCA-LEYVA, E. Simulating the economic viability of Nile tilapia and Australian redclaw crayfish polyculture in Yucatan, Mexico. **Aquaculture**, v. 261, n. 1, p. 151–159, 2006.

QIN, F.; GAO, Y.; XU, P.; GUO, B.; LI, J.; WANG, H. Enantioselective bioaccumulation and toxic effects of fipronil in the earthworm *Eisenia foetida* following soil exposure. **Pest Management Science**, v. 71, n. 4, p. 553–561, 2015.

RAHOUI, S.; CHAOUI, A.; FERJANI, E. El. Differential sensitivity to cadmium in germinating seeds of three cultivars of faba bean (*Vicia faba* L.). **Acta Physiologiae Plantarum**, v. 30, n. 4, p. 451–456, 2008.

REGOLI, F.; GIULIANI, M. E. Oxidative pathways of chemical toxicity and oxidative stress biomarkers in marine organisms. **Marine Environmental Research**, v. 93, p. 106–117, 2014.

ROAT, T. C.; CARVALHO, S. M.; NOCELLI, R. C. F.; SILVA-ZACARIN, E. C. M.; PALMA, M. S.; MALASPINA, O. Effects of sublethal dose of fipronil on neuron metabolic activity of africanized honeybees. **Archives of Environmental Contamination and Toxicology**, v. 64, n. 3, p. 456–466, 2013.

RODRÍGUEZ, Y. A.; CHRISTOFOLETTI, C. A.; PEDRO, J.; BUENO, O. C.; MALASPINA, O.; FERREIRA, R. A. C.; FONTANETTI, C. S. *Allium cepa* and *Tradescantia pallida* bioassays to evaluate effects of the insecticide imidacloprid. **Chemosphere**, v. 120, p. 438–442, 2015.

ROMERO, A.; RAMOS, E.; ARES, I.; CASTELLANO, V.; MARTÍNEZ, M. A.; MARTÍNEZ-LARRAÑAGA, M. R.; ANADÓN, A.; MARTÍNEZ, M. A. Fipronil sulfone induced higher cytotoxicity than fipronil in SH-SY5Y cells: Protection by antioxidants. **Toxicology Letters**, v. 252, p. 42–49, 2016.

SAKAHIRA, H.; ENARI, M.; NAGATA, S. Cleavage of CAD inhibitor in CAD activation and DNA degradation during apoptosis. **Nature**, v. 391, n. 6662, p. 96–99, 1998.

SALMENA, L. Essential role for caspase 8 in T-cell homeostasis and T-cell-mediated immunity. **Genes & Development**, v. 17, n. 7, p. 883–895, 2003.

SANTOS, E. **Pesca e piscicultura**. Belo Horizonte: Editora Itatiaia Limitada, 1977.



SCHERER, M. D.; SPOSITO, J. C. V.; FALCO, W. F.; GRISOLIA, A. B.; ANDRADE, L. H. C.; LIMA, S. M.; MACHADO, G.; NASCIMENTO, V. A.; GONÇALVES, D. A.; WENDER, H.; OLIVEIRA, S. L.; CAIRES, A. R. L. Cytotoxic and genotoxic effects of silver nanoparticles on meristematic cells of *Allium cepa* roots: A close analysis of particle size dependence. **Science of The Total Environment**, v. 660, p. 459–467, 2019.

ŠEFČÍKOVÁ, Z.; BABELOVÁ, J.; ČIKOŠ, Š.; KOVAŘÍKOVÁ, V.; BURKUŠ, J.; ŠPIRKOVÁ, A.; KOPPEL, J.; FABIAN, D. Fipronil causes toxicity in mouse preimplantation embryos. **Toxicology**, v. 410, n. March, p. 214–221, 2018.

SHARMA, D.; ABROL, D. Effect of insecticides on foraging behaviour and pollination role of *Apis mellifera* L. (Hymenoptera: Apidae) on toria (*Brassica campestris* var. toria) crop. **Egyptian Journal of Biology**, v. 16, n. 1, p. 79–86, 2014.

SILVA, C. A. S.; SILVA-ZACARIN, E. C. M.; DOMINGUES, C. E. C.; ABDALLA, F. C.; MALASPINA, O.; NOCELLI, R. C. F. Fipronil effect on the frequency of anomalous brood in honeybee reared in. In: JULIUS-KÜHN-ARCHIV 2015, Ghent (Belgium): Hazards of pesticides to bees - 12th International Symposium of the ICP-PR Bee Protection Group, 2015.

SILVA-ZACARIN, E. C. M.; CHAUZAT, M. P.; ZEGGANE, S.; DRAJNUDEL, P.; SCHURR, F.; FAUCON, J. P. Protocol for optimization of histological, histochemical and immunohistochemical analyses of larval tissues: application in histopathology of honey bee. **Current Microscopy Contributions to Advances in Science and Technology**, p. 696–703, 2012.

SILVEIRA, G. L.; LIMA, M. G. F.; REIS, G. B. Dos; PALMIERI, M. J.; ANDRADE-VIERIA, L. F. Toxic effects of environmental pollutants: Comparative investigation using *Allium cepa* L. and *Lactuca sativa* L. **Chemosphere**, v. 178, p. 359–367, 2017.

SIMON-DELISO, N.; AMARAL-ROGERS, V.; BELZUNCES, L. P.; BONMATIN, J. M.; CHAGNON, M.; DOWNS, C.; FURLAN, L.; GIBBONS, D. W.; GIORIO, C.; GIROLAMI, V.; GOULSON, D.; KREUTZWEISER, D. P.; KRUPKE, C. H.; LIESS, M.; LONG, E.; MCFIELD, M.; MINEAU, P.; MITCHELL, E. A.; MORRISSEY, C. A.; NOOME, D. A.; PISA, L.; SETTELE, J.; STARK, J. D.; TAPPARO, A.; VAN DYCK, H.; VAN PRAAGH, J.; VAN DER SLUIJS, J. P.; WHITEHORN, P. R.; WIEMERS, M. Systemic insecticides (Neonicotinoids and fipronil): Trends, uses, mode of action and metabolites. **Environmental Science and Pollution Research**, v. 22, n. 1, p. 5–34, 2015.

SINDIVEG, SINDICATO NACIONAL DA INDÚSTRIA DE PRODUTOS PARA DEFESA VEGETAL, S. **O que você precisa saber sobre defensivos agrícolas**. 2018.

Disponível em: <<http://sindiveg.org.br/wp-content/uploads/2018/08/oquevoceprecisasabersobredefensivosagricolas.pdf>>. Acesso em: 16 jun. 2019.

SOBRERO, M. C.; RONCO, A. Ensayo de toxicidad aguda con semillas de lechuga (*Lactuca sativa* L.). **Ensayos toxicológicos y métodos de evaluación de calidad de aguas: standerización, intercalibración, resultados y aplicaciones. Mexico: IMTA, 2004.**

TANAKA, T.; INOMATA, A. Reproductive and neurobehavioral effects of ethiprole administered to mice in the diet. **Birth Defects Research**, v. 109, n. 19, p. 1568–1585, 2017.

TANAKA, T.; SUZUKI, T.; INOMATA, A. Reproductive and neurobehavioral effects of maternal exposure to ethiprole in F1 -generation mice. **Birth Defects Research**, v. 110, n. 3, p. 259–275, 2018.

TAS, U.; OGETURK, M.; KULOGLU, T.; SAPMAZ, H. I.; KOCAMAN, N.; ZARARSIZ, I.; SARSILMAZ, M. HSP70 immune reactivity and TUNEL positivity in the liver of toluene-inhaled and melatonin-treated rats. **Toxicology and Industrial Health**, v. 29, n. 6, p. 514–522, 2013.

TERÇARIOL, P. R. G.; GODINHO, A. F. Behavioral effects of acute exposure to the insecticide fipronil. **Pesticide Biochemistry and Physiology**, v. 99, n. 3, p. 221–225, 2011.

TIGRE, R. C.; SILVA, N. H.; SANTOS, M. G.; HONDA, N. K.; FALCÃO, E. P. S.; PEREIRA, E. C. Allelopathic and bioherbicidal potential of *Cladonia verticillaris* on the germination and growth of *Lactuca sativa*. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 84, p. 125–132, 2012.

TINGLE, C. C. D.; ROTHER, J. A.; DEWHURST, C. F.; LAUER, S.; KING, W. J. Fipronil: Environmental fate, ecotoxicology, and human health concerns. In: WARE, G. W. (Ed.). **Reviews of Environmental Contamination and Toxicology: Continuation of Residue Reviews**. New York, NY: Springer New York, 2003. p. 1–66.

TISCH, M.; FAULDE, M.; MAIER, H. Genotoxic effects of insecticides in current use on mucosal epithelial cells from human tonsil tissue. **HNO**. 1:15–22, 2007.

TOMLIN, C. D. S. The pesticide manual. **British Crop Production Council**. 12:413–415, 2000.

TORRES, M. T. R. Empleo de los ensayos con plantas en el control de contaminantes tóxicos ambientales. **Revista Cubana de Higiene y Epidemiología**, v. 41, n. 2-3, 2003.

ÚNICA, UNIÃO DA AGROINDÚSTRIA CANAVIEIRA DE SÃO PAULO, 2015.

Acessado em: 18 de janeiro de 2015. <<http://www.unica.com.br>>

USEPA- UNITED STATES ENVIRONMENTAL PROTECTION AGENCY. **Ecological effects test guidelines (OPPTS 850.4200):** Seed germination/root elongation toxicity test, 1996.

USEPA - UNITED STATES ENVIRONMENTAL PROTECTION AGENCY. **Pesticide Fact Sheet: Ethiprole:** New Chemical; Import Tolerances Established. Office of Prevention, Pesticides and Toxic Substances, Washington, DC, 2011.

VALERIO, M. E.; GARCÍA, J. F.; PEINADO, F. M. Determination of phytotoxicity of soluble elements in soils, based on a bioassay with lettuce (*Lactuca sativa* L.). **Science of The Total Environment**, v. 378, n. 1–2, p. 63–66, 2007.

VAN DER SLUIJS, J. P.; AMARAL-ROGERS, V.; BELZUNCES, L. P.; BIJLEVELD VAN LEXMOND, M. F.; BONMATIN, J. M.; CHAGNON, M.; DOWNS, C. A.; FURLAN, L.; GIBBONS, D. W.; GIORIO, C.; GIROLAMI, V.; GOULSON, D.; KREUTZWEISER, D. P.; KRUPKE, C.; LIESS, M.; LONG, E.; MCFIELD, M.; MINEAU, P.; MITCHELL, E. A.; MORRISSEY, C. A.; NOOME, D. A.; PISA, L.; SETTELE, J.; SIMON-DELISO, N.; STARK, J. D.; TAPPARO, A.; VAN DYCK, H.; VAN PRAAGH, J.; WHITEHORN, P. R.; WIEMERS, M. Conclusions of the worldwide integrated assessment on the risks of neonicotinoids and fipronil to biodiversity and ecosystem functioning. **Environmental Science and Pollution Research**, v. 22, n. 1, p. 148–154, 2015.

VAN DER VOET, E.; LIFSET, R. J.; LUO, L. Life-cycle assessment of biofuels, convergence and divergence. **Biofuels**, v. 1, n. 3, p. 435–449, 2010.

VAN DYK, J. C.; COCHRANE, M. J.; WAGENAAR, G. M. Liver histopathology of the sharptooth catfish *Clarias gariepinus* as a biomarker of aquatic pollution. **Chemosphere**, v. 87, n. 4, p. 301–311, 2012.

VAN LEXMOND, M. B.; BONMATIN, J. M.; GOULSON, D.; NOOME, D. A. Worldwide integrated assessment on systemic pesticides global collapse of the entomofauna: Exploring the role of systemic insecticides. **Environmental Science and Pollution Research**, v. 22, n. 1, p. 1–4, 2015.

VERLAG, G. F. **An atlas of fish histology: normal and pathological features.** Tokio: Kodansha, 1982.

VIDAU, C.; BRUNET, J. L.; BADIOU, A.; BELZUNCES, L. P. Phenylpyrazole insecticides induce cytotoxicity by altering mechanisms involved in cellular energy supply in the human epithelial cell model Caco-2. **Toxicology in Vitro**, v. 23, n. 4, p. 589–597, 2009.

WAGNER, S. D.; KUROBE, T.; HAMMOCK, B. G.; LAM, C. H.; WU, G.; VASYLIEVA, N.; GEE, S. J.; HAMMOCK, B. D.; TEH, S. J. Developmental effects of fipronil on *Japanese Medaka* (*Oryzias latipes*) embryos. **Chemosphere**, v. 166, p. 511–520, 2017.

WANG, C.; QIAN, Y.; ZHANG, X.; CHEN, F.; ZHANG, Q.; LI, Z.; ZHAO, M. A metabolomic study of fipronil for the anxiety-like behavior in zebrafish larvae at environmentally relevant levels. **Environmental Pollution**, v. 211, p. 252-258, 2016.

WYLLIE, A. H. Apoptosis: an overview. **British Medical Bulletin**, v. 53, n. 3, p. 451–465, 1997.

YILDIRIM, N.; AGAR, G. Determination of genotoxic effects of fipronil in *Vicia faba* using random amplified polymorphic DNA analysis. **Toxicology and Industrial Health**, v. 32, n. 8, p. 1450–1455, 2016.

ZHAO, X. Fipronil is a potent open channel blocker of glutamate-activated chloride channels in cockroach neurons. **Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics**, v. 310, n. 1, p. 192-201, 2004.

ZHAO, X.; WU, C.; WANG, Y.; CANG, T.; CHEN, L.; YU, R.; WANG, Q. Assessment of toxicity risk of insecticides used in rice ecosystem on *Trichogramma japonicum*, an egg parasitoid of rice lepidopterans. **Journal of Economic Entomology**, 105:92-101, 2012.