

**UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA “JÚLIO DE MESQUITA FILHO”  
FACULDADE DE ENGENHARIA  
CÂMPUS DE ILHA SOLTEIRA**

**GIOVANNI TOBIAS SANTOS**

**ECOTOXICIDADE DO INSETICIDA BIFENTRINA PARA BIOINDICADORES  
AQUÁTICOS**

Ilha Solteira  
2024



UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA  
"JÚLIO DE MESQUITA FILHO"  
Campus de Ilha Solteira

## PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ENGENHARIA CIVIL

**GIOVANNI TOBIAS SANTOS**

### **ECOTOXICIDADE DO INSETICIDA BIFENTRINA PARA BIOINDICADORES AQUÁTICOS**

Dissertação apresentada à Faculdade de Engenharia de Ilha Solteira – Unesp como parte dos requisitos para obtenção do título de Mestre em Engenharia Civil.

Prof<sup>a</sup> Dr<sup>a</sup>. Juliana Heloisa Pinê Américo Pinheiro  
**Orientadora**

Prof. Dr. Claudinei da Cruz  
**Co-orientador**

Ilha Solteira  
2024

FICHA CATALOGRÁFICA

Desenvolvido pelo Serviço Técnico de Biblioteca e Documentação

S237e Santos, Giovanni Tobias.  
Ecotoxicidade do inseticida bifentrina para bioindicadores aquáticos /  
Giovanni Tobias Santos. -- Ilha Solteira: [s.n.], 2023  
83 f. : il.


Dissertação (mestrado) - Universidade Estadual Paulista. Faculdade de  
Engenharia de Ilha Solteira. Área de conhecimento: Recursos Hídricos e  
Tecnologias Ambientais, 2023

Orientador: Juliana Heloisa Pinê Américo Pinheiro

Co-orientador: Claudinei da Cruz

Inclui bibliografia

1. Agrotóxico. 2. Ecotoxicologia. 3. Histopatologia. 4. Piretróides.

  
**Amanda Sertori dos Santos**

Bibliotecária - CRB/8-9061  
Seção Técnica de Referência, Atendimento ao  
Usuário e Documentação  
Diretoria Técnica de Biblioteca e Documentação

### **Impacto potencial desta pesquisa**

ODSs 6 – Água potável e saneamento: A pesquisa destaca as preocupações relacionadas aos efeitos prejudiciais da bifentrina em organismos aquáticos, como camarões e peixes. Essa toxicidade pode perturbar os ecossistemas aquáticos, afetando a biodiversidade. Portanto, ressalta-se a importância da implementação de medidas de controle ambiental.

### **Potential impact of this research**

SDGs 6 – Clean water and sanitation: The study raises concerns about the harmful effects of bifenthrin on aquatic organisms, such as shrimp and fish. The toxic impact on these species can disturb aquatic ecosystems, affecting biodiversity. Therefore, it highlights the importance of implementing environmental control measures.

## ATESTADO DE APROVAÇÃO - DEFESA

Atestamos que **GIOVANNI TOBIAS SANTOS**, RA nº: CIV200026, RG nº 45.914.255-0, expedido pela SSP/SP, defendeu, no dia 29/08/2023, a dissertação intitulada **ECOTOXICIDADE DO INSETICIDA BIFENTRINA PARA BIOINDICADORES AQUÁTICOS**, junto ao Programa de Pós Graduação em Engenharia Civil, Curso de Mestrado Acadêmico, tendo sido 'APROVADO'.

Atestamos ainda que a obtenção do título dependerá de homologação pelo Órgão Colegiado competente.

Ilha Solteira, 29 de agosto de 2023

MARCIA REGINA  
NAGAMACHI

CHAVES:14202568826

Assinado de forma digital por  
MARCIA REGINA NAGAMACHI  
CHAVES:14202568826  
Dados: 2023.09.12 09:02:16  
-03'00'

## **DEDICATÓRIA**

Dedico este trabalho a Deus, meus pais (Rosângela e Giovanni), irmão (Ramon), amigos e todos os pesquisadores e professores que se dedicam ao desenvolvimento da ciência.

## **AGRADECIMENTOS**

Agradeço primeiramente a Deus por toda graça recebida diante de várias dificuldades e apuros durante o desenvolvimento da pesquisa.

À minha família, pelo apoio, conselhos e por toda ajuda durante esta etapa da minha vida.

Ao Programa de Pós-Graduação em Engenharia Civil (PPGEC) da Unesp de Ilha Solteira.

Ao apoio do CNPq, Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico – Brasil, pela concessão da bolsa de estudos. Número do processo: 132418/2020-7

À professora Dra. Juliana Heloisa Pinê Américo Pinheiro por ter me recebido e me orientado em toda a trajetória do mestrado.

Ao professor Dr. Claudinei da Cruz que me acolheu como seu coorientado e me recebeu de braços abertos em seu laboratório.

À toda equipe do Laboratório de Ecotoxicologia e Eficácia de Agrotóxicos (LEEA), pelos momentos de alegria, ensinamentos, puxões de orelha e todo cuidado e atenção durante a minha pesquisa. Em especial a Cecília, Isabella, Wilson, Pâmela, Henrique, que me acompanharam de perto.

## RESUMO

Os Agrotóxicos são substâncias utilizadas no controle de insetos-praga e plantas daninhas. No entanto, quando entram em contato com organismos não-alvo, essas substâncias podem provocar uma série de problemas em diferentes níveis da cadeia alimentar. Por isso, o propósito deste estudo foi avaliar a toxicidade aguda do bifentrina em organismos aquáticos (como as macrófitas *Lemna minor* e *Azolla caroliniana*, o caramujo *Pomacea canaliculata*, o camarão *Macrobrachium acanthurus*, os peixes *Xiphophorus maculatus* e *Hyphessobrycon eques*), além de investigar sua toxicidade crônica em *Hyphessobrycon eques*. Além disso, calculamos o risco ambiental associado e analisamos as alterações histopatológicas nas brânquias, fígado e rins dos peixes *H. eques*. Os ensaios de toxicidade com as macrófitas tiveram a duração de 7 dias, enquanto com os demais organismos foram realizados em 48 horas. O teste de toxicidade crônica foi conduzido com *H. eques*, submetido a concentrações subletais por um período de 15 dias. Na análise histopatológica, os órgãos foram retirados, seccionados e imersos em uma solução fixadora de formol (10%), posteriormente incluídos em bloco, cortados e corados com Hematoxilina-Eosina e ácido periódico de Schiff. O inseticida bifentrina foi classificado como extremamente tóxico para o camarão *M. acanthurus* (CL50;48h: 0,00027 mg L<sup>-1</sup>), peixes *H. eques* (CL50;48h: 0,031 mg L<sup>-1</sup>) e *X. maculatus* (CL50;48h: 0,0065 mg L<sup>-1</sup>), com baixa toxicidade para o caramujo *P. canaliculata* (CE50;48h: 47,62 mg L<sup>-1</sup>) e quase inexistente toxicidade para as macrófitas *L. minor* (CI50;7d: 877,26 mg L<sup>-1</sup>) e *A. caroliniana* (CL50;7d: 679,84 mg L<sup>-1</sup>). No que diz respeito à análise de risco ambiental, os resultados refletiram as conclusões dos testes ecotoxicológicos realizados. As descobertas histológicas revelaram efeitos prejudiciais significativos em *H. eques*, afetando negativamente as brânquias e o fígado desses peixes. Em resumo, conclui-se que a exposição aguda e crônica ao bifentrina compromete a funcionalidade desses órgãos vitais, os quais são responsáveis pela respiração, troca de gases e desintoxicação, afetando funções essenciais para a sobrevivência dos peixes em ambientes aquáticos.

**Palavras-chave:** agrotóxico; ecotoxicologia; histopatologia; piretróides.

## ABSTRACT

Pesticides are substances used to control pest insects and weeds. However, when in contact with non-target organisms, these substances can cause a series of problems at various trophic levels. Thus, the aim of this study was to assess the acute ecotoxicity of bifenthrin to aquatic organisms (macrophytes *Lemna minor* and *Azolla caroliniana*, snail *Pomacea canaliculata*, shrimp *Macrobrachium acanthurus*, fish *Xiphophorus maculatus* and *Hyphessobrycon eques*), chronic ecotoxicity for *Hyphessobrycon eques*, calculate environmental risk, and analyze histopathological changes in the gills, liver, and kidney of *H. eques*. The ecotoxicity assays with macrophytes lasted for 7 days, while for the other organisms, it was 48 hours. The chronic ecotoxicity assay was conducted with *H. eques*, exposing the fish to sublethal concentrations for 15 days. In the histopathological analysis, the organs were removed, sectioned, and immersed in a 10% formalin fixative solution. They were then embedded, cut, and stained with Hematoxylin-Eosin and Periodic Acid-Schiff. The insecticide bifenthrin was classified as extremely toxic to the shrimp *M. acanthurus* (LC<sub>50</sub>;48h: 0.00027 mg L<sup>-1</sup>), fish *H. eques* (LC<sub>50</sub>;48h: 0.031 mg L<sup>-1</sup>) and *X. maculatus* (LC<sub>50</sub>;48h: 0.0065 mg L<sup>-1</sup>), slightly toxic to the snail *P. canaliculata* (EC<sub>50</sub>;48h: 47.62 mg L<sup>-1</sup>), and practically non-toxic to the macrophytes *L. minor* (IC<sub>50</sub>;7d: 877.26 mg L<sup>-1</sup>) and *A. caroliniana* (LC<sub>50</sub>;7d: 679.84 mg L<sup>-1</sup>). Regarding the environmental risk analysis, the results reflected those found in the ecotoxicological assays. The histological results presented significant adverse effects in *H. eques*, negatively affecting the gills and liver of these fish. In conclusion, both acute and chronic exposure to bifenthrin compromise the functionality of these vital organs, responsible for respiration, gas exchange, and detoxification, affecting vital functions for the survival of fish in aquatic environments.

**Keywords:** pesticide; ecotoxicology; histopathology; pyrethroids.

## LISTA DE FIGURAS

<b>Figura 1</b>	- Ilustração metodológica do ensaio de macrófitas.....	28
<b>Figura 2</b>	- Ilustração metodológica do ensaio de caramujo .....	31
<b>Figura 3</b>	- Monitoramento das variáveis de qualidade de água com sonda multiparâmetro YSI®.....	32
<b>Figura 4</b>	- Ilustração metodológica do ensaio de camarão .....	33
<b>Figura 5</b>	- Ilustração metodológica do ensaio de peixes .....	35
<b>Figura 6</b>	- Ensaio crônico com <i>H. eques</i> .....	38
<b>Figura 7</b>	- Gráfico de letalidade de <i>A. caroliniana</i> .....	40
<b>Figura 8</b>	- Gráfico de letalidade de <i>L. minor</i> .....	41
<b>Figura 9</b>	- Gráfico de letalidade de <i>P. canaliculata</i> .....	43
<b>Figura 10</b>	- Gráfico de letalidade de <i>M. acanthurus</i> .....	44
<b>Figura 11</b>	- Gráfico de letalidade de <i>X. maculatus</i> / <i>H. eques</i> .....	45
<b>Figura 12</b>	- Sinais de intoxicação observados em peixes da espécie <i>H. eques</i> após 15 dias de exposição ao inseticida. A - Natação errática, sinais de hemorragia (S.E). B - Inchaço nas brânquias (I.B).....	49
<b>Figura 13</b>	- Fotomicrografias de brânquias de <i>H. eques</i> após exposição aguda.....	52
<b>Figura 14</b>	- Fotomicrografias de brânquias de <i>H. eques</i> após exposição crônica.....	54
<b>Figura 15</b>	- Fotomicrografias de fígado de <i>H. eques</i> após exposição aguda....	57
<b>Figura 16</b>	- Fotomicrografias de fígado de <i>H. eques</i> após exposição crônica...	59
<b>Figura 17</b>	- Fotomicrografias de rim de <i>H. eques</i> após exposição aguda	62
<b>Figura 18</b>	- Fotomicrografias de rim de <i>H. eques</i> após exposição crônica	63

## LISTA DE TABELAS

<b>Tabela 1</b>	- Características gerais e físico-químicas de bifentrina.....	19
<b>Tabela 2</b>	- Classificação ecotoxicológica para organismos terrestres e aquáticos não-alvo .....	36
<b>Tabela 3</b>	- Risco Ambiental de acordo com a concentração ambiental estimada.....	37
<b>Tabela 4</b>	- Valores de CL, CE, CI 50 e classificação ecotoxicológica para os organismos de diversos níveis tróficos.....	42
<b>Tabela 5</b>	- Calculo de Risco ambiental considerando um reservatório de 0,3m de profundidade.....	46
<b>Tabela 6</b>	- Calculo de Risco ambiental considerando um reservatório de 2m de profundidade.....	47
<b>Tabela 7</b>	- Sinais de intoxicação histopatológicos de brânquias de <i>H. eques</i> , após 48h de exposição à bifentrina .....	51
<b>Tabela 8</b>	- Sinais de intoxicação histopatológicos de brânquias de <i>H. eques</i> , após 15 dias de exposição à bifentrina.....	53
<b>Tabela 9</b>	- Resultados histopatológicos de fígado em <i>H. eques</i> , após 48h de exposição à bifentrina.....	56
<b>Tabela 10</b>	- Resultados histopatológicos de fígado de <i>H. eques</i> , após 15 dias de exposição à bifentrina.....	58
<b>Tabela 11</b>	- Resultados histopatológicos de rim de <i>H. eques</i> , após 48h de exposição à bifentrina.....	61
<b>Tabela 12</b>	- Sinais de intoxicação histopatológicos de rim de <i>H. eques</i> , após 15 dias de exposição à bifentrina.....	63

## LISTA DE QUADROS

<b>Quadro 1</b>	- Resultados ecotoxicológicos obtidos por meio da utilização de organismos bioindicadores.....	20
<b>Quadro 2</b>	- Ensaio de ecotoxicologia aquática.....	27
<b>Quadro 3</b>	- Sinais de intoxicação de <i>H. eques</i> durante a exposição a bifentrina em concentrações subletais.....	48

## SUMÁRIO

<b>1</b>	<b>INTRODUÇÃO</b> .....	<b>13</b>
<b>2</b>	<b>JUSTIFICATIVA E HIPÓTESE</b> .....	<b>15</b>
<b>3</b>	<b>OBJETIVOS</b> .....	<b>16</b>
3.1	OBJETIVO GERAL .....	16
3.2	OBJETIVOS ESPECÍFICOS .....	16
<b>4</b>	<b>REVISÃO DE LITERATURA</b> .....	<b>17</b>
4.1	AGROTÓXICOS .....	17
4.2	INSETICIDAS DE USO DOMISSANITÁRIO .....	18
4.3	INSETICIDAS PIRETRÓIDES .....	19
4.3.1	Bifentrina .....	20
4.4	ECOTOXICIDADE .....	21
4.5	ORGANISMOS BIOINDICADORES .....	21
4.5.1	<i>Lemna minor</i> .....	23
4.5.2	<i>Azolla caroliniana</i> .....	23
4.5.3	<i>Pomacea canaliculata</i> .....	24
4.5.4	<i>Macrobrachium acanthurus</i> .....	24
4.5.5	<i>Xiphophorus maculatus</i> .....	25
4.5.6	<i>Hyphessobrycon eques</i> .....	26
4.6	HISTOPATOLOGIA .....	26
<b>5</b>	<b>MATERIAL E MÉTODOS</b> .....	<b>28</b>
5.1	ENSAIOS DE ECOTOXICIDADE AGUDA .....	29
5.1.1	Ensaio de macrófitas: <i>Azolla caroliniana</i> e <i>Lemna minor</i> .....	29
5.1.2	Ensaio de caramujo: <i>Pomacea canaliculata</i> .....	31
5.1.3	Ensaio de camarão: <i>Macrobrachium acanthurus</i> .....	33
5.1.4	Ensaio de peixes: <i>X. maculatus</i> e <i>H. eques</i> .....	34
5.2	ANÁLISE DOS DADOS E CLASSIFICAÇÃO DOS INSETICIDAS .....	36
5.3	RISCO DE INTOXICAÇÃO AMBIENTAL .....	37
5.4	ENSAIO DE ECOTOXICIDADE CRÔNICA COM <i>H. EQUES</i> .....	38

5.6	ANÁLISE HISTOPATOLÓGICA.....	40
<b>6</b>	<b>RESULTADOS E DISCUSSÕES .....</b>	<b>41</b>
6.1	ECOTOXICIDADE AGUDA PARA OS ORGANISMOS AQUÁTICOS.....	41
6.2	ANÁLISE DE RISCO AMBIENTAL PARA ORGANISMOS AQUÁTICOS .....	47
6.3	ECOTOXICIDADE CRÔNICA DE <i>H. EQUES</i> SINAIS DE INTOXICAÇÃO .....	49
6.4	ANÁLISE HISTOPATOLÓGICA DE <i>H. EQUES</i> .....	51
6.4.1	Ensaio agudo de brânquias de <i>H. eques</i> .....	51
6.4.2	Ensaio crônico de brânquias de <i>H. eques</i> .....	54
6.4.2	Ensaio agudo e crônico do fígado de <i>H. eques</i> .....	56
6.4.3	Ensaio agudo e crônico do rim de <i>H. eques</i> .....	61
<b>7</b>	<b>CONCLUSÃO.....</b>	<b>66</b>
	<b>REFERÊNCIAS .....</b>	<b>67</b>

## 1 INTRODUÇÃO

Os piretróides são inseticidas sintéticos derivados das piretrinas, uma substância extraída das flores do crisântemo (*Chrysanthemum cinerariaefolium*). Eles possuem uma alta taxa de degradação quando expostos à luz solar e ao ar, o que reduz o tempo em que permanecem no ambiente após a aplicação (Santos *et al.*, 2007).

Dentro do grupo dos piretróides, a bifentrina se destaca por seu amplo uso tanto em áreas urbanas quanto agrícolas para o controle de insetos-praga (Weston *et al.*, 2019). No ano de 2021, foram registradas vendas de 4.337,94 toneladas de bifentrina no Brasil para fins agrícolas (Brasil, 2022).

O uso da bifentrina em aplicações urbanas muitas vezes resulta na sua entrada nas bacias hidrográficas, seja devido à deriva durante a aplicação ou ao escoamento superficial em ambientes urbanos (Weston *et al.*, 2019; Dar *et al.*, 2016). Isso se torna um problema ambiental, uma vez que esses compostos são altamente tóxicos para animais aquáticos, incluindo peixes e invertebrados (Yang *et al.*, 2018). A presença dessas substâncias em corpos d'água pode causar sérios efeitos adversos em várias espécies de peixes, como letalidade (Marques *et al.*, 2021), natação errática (Ullah *et al.*, 2022) e alterações histológicas nas brânquias, fígado e rins (Gonçalves *et al.*, 2017; Gonçalves *et al.*, 2018; Gonçalves *et al.*, 2020) em espécies não-alvo (Dar *et al.*, 2016).

A condução de estudos ecotoxicológicos em diferentes níveis tróficos permite mapear os efeitos tóxicos dessas substâncias nos organismos (Wang *et al.*, 2021). Portanto, a avaliação dos impactos dos contaminantes aquáticos considerando os níveis tróficos é fundamental em programas de monitoramento ambiental, uma vez que a toxicidade dessas substâncias varia de acordo com o nível trófico analisado (Marques *et al.*, 2021).

Os bioindicadores aquáticos são organismos que demonstram alterações comportamentais, histológicas e fisiológicas devido à sua sensibilidade. Eles indicam desequilíbrios no ambiente que não seriam detectados em organismos não expostos (Arias *et al.*, 2007).

Os estudos ecotoxicológicos desempenham um papel crucial na avaliação do risco ambiental e no biomonitoramento dos ambientes aquáticos. Eles permitem compreender as consequências da exposição a várias substâncias em organismos-

teste, por meio de exposições de curto prazo (ecotoxicidade aguda) ou de longo prazo (ecotoxicidade crônica), bem como as alterações histopatológicas após a exposição. Isso possibilita o estudo das implicações da poluição ambiental em diferentes níveis tróficos (Brooks *et al.*, 2019).

Neste estudo, foram selecionados organismos bioindicadores em diversos níveis tróficos. As macrófitas aquáticas flutuantes *A. caroliniana* e *L. minor* foram escolhidas como produtores autotróficos. Quanto aos consumidores primários, incluem o caramujo *P. canaliculata*, que pertence ao reino dos moluscos, o segundo maior grupo do reino animal (Tallarico, 2015), e o camarão *M. acanthurus*, considerado uma espécie de cultivo aquícola de importância econômica (Oosterveer 2006). Os consumidores secundários foram os peixes *H. eques* e *X. maculatus*, escolhidos devido à facilidade de manutenção em condições de laboratório, bem como à sua sensibilidade e às alterações histopatológicas com relevância ecológica (Cruz *et al.*, 2016).

## 2 JUSTIFICATIVA E HIPÓTESE

O aumento no uso de agrotóxicos, especialmente os piretróides, para o controle de vetores de doenças domésticas, combinado com a falta de regulamentações que estabeleçam os níveis seguros dessas substâncias em ambientes aquáticos, despertou o interesse da comunidade científica em realizar estudos sobre os efeitos tóxicos dos piretróides nos organismos que habitam esses ambientes. Esses inseticidas atuam como moduladores dos canais de sódio nos axônios e, em concentrações subletais, podem causar alterações comportamentais e histológicas nos organismos expostos.

Nesse contexto, espera-se que os estudos ecotoxicológicos realizados com bioindicadores aquáticos revelem a toxicidade em diferentes níveis tróficos após a exposição desses organismos aos piretróides. Com isso, é possível avaliar a toxicidade do inseticida bifentrina em diversos níveis tróficos, fornecendo uma base científica sólida e, possivelmente, estimulando a revisão das regulamentações relacionadas à qualidade da água no Brasil (Brasil, 2007).

### 3 OBJETIVOS

#### 3.1 OBJETIVO GERAL

Avaliar as ecotoxicidades aguda e crônica, e o risco de ambiental do inseticida bifentrina em bioindicadores aquáticos de diferentes níveis tróficos.

#### 3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

Avaliar a ecotoxicidade aguda em macrófitas (*A. caroliniana* e *L. minor*), caramujo (*P. canaliculata*), camarão-pitu-de-água-doce (*M. acanthurus*) e peixes, platy (*X. maculatus*) e mato grosso (*H. eques*).

Avaliar ecotoxicidade crônica e os sinais de intoxicação de *H. eques*, após exposição ao inseticida.

Avaliar alterações histológicas de brânquia, fígado e rim de *H. eques* após a exposição aguda e crônica.

Calcular o risco ambiental para macrófitas (*A. caroliniana* e *L. minor*), caramujo (*P. canaliculata*), camarão-pitu-de-água-doce (*M. acanthurus*) e peixes, platy (*X. maculatus*) e mato grosso (*H. eques*).

## 4 REVISÃO DE LITERATURA

### 4.1 AGROTÓXICOS

O termo "agrotóxicos" abrange uma variedade de compostos, incluindo aqueles com ação inseticida, fungicida, herbicida, fumigante, bem como substâncias reguladoras de crescimento, desfolhantes ou dessecantes (Silva; Fay, 2004). Esses agrotóxicos desempenham um papel indispensável em todos os setores da agroindústria. No entanto, quando usados em excesso, os resíduos podem ser prejudiciais para a produção agrícola, o meio ambiente, a segurança alimentar e a saúde humana (Zhang; Yang, 2021).

A Lei nº 7.802/1989, em seu Artigo 2º, que trata dos usos, fiscalização e classificação dos agrotóxicos, define esses produtos da seguinte maneira:

Os produtos e os agentes de processos físicos, químicos ou biológicos, destinados ao uso nos setores de produção, no armazenamento e beneficiamentos de produtos agrícolas, nas pastagens, na proteção de florestas, nativas ou implantadas, e de outros ecossistemas e de ambientes urbanos, hídricos e industriais, cuja finalidade seja alterar a composição de flora ou fauna, a fim de preservá-las da ação danosa de seres vivos considerados nocivo.

Substâncias e produtos, empregados como desfolhantes, dessecantes, estimuladores e inibidores de crescimento (Brasil, 1989, p.1).

A ausência de uso de agrotóxicos em cultivos agrícolas pode acarretar em consequências relacionadas a pragas e doenças nas plantações (Zheng, 2015), resultando em prejuízos econômicos (Sun *et al.*, 2017). Os agrotóxicos são amplamente reconhecidos por seu papel positivo no controle de doenças e no aumento da produção agrícola. Entretanto, há indícios de que o uso inadequado dessas substâncias pode levar a sérios problemas ambientais. O escoamento em larga escala de agrotóxicos provenientes de águas residuais tratadas ou das lavouras para corpos d'água superficiais pode resultar em concentrações elevadas dessas substâncias nos recursos hídricos. Isso pode levar à ultrapassagem dos limites de toxicidade para os organismos aquáticos locais, gerando efeitos prejudiciais no ecossistema aquático (Constantinou *et al.*, 2021).

Estudos recentes têm demonstrado que inseticidas como o fipronil, imidacloprid e sete piretróides (bifentrina, permetrina, cipermetrina, deltametrina, ciflutrina, lambda-cialotrina e esfenvalerato) são relativamente tóxicos para

organismos aquáticos (Xie, *et al.*, 2021). Uma das formas de contaminação causada por agrotóxicos ocorre por meio da lixiviação para as águas subterrâneas, escoamento superficial, absorção pelas plantas, volatilização e deriva no ar (Mojiri *et al.*, 2020). Dado que esses produtos podem ser encontrados em corpos d'água rurais e urbanos, é de extrema importância compreender os efeitos sobre organismos aquáticos (Van de Merwe *et al.*, 2018).

Resíduos de agrotóxicos foram detectados em cursos d'água urbanos, tanto na coluna de água quanto nos sedimentos do leito (Ensminger *et al.*, 2013). Devido ao elevado risco de contaminação ambiental, bem como aos impactos persistentes associados ao uso de agrotóxicos e seus subprodutos, esses problemas não podem ser negligenciados (Braun *et al.*, 2019). A Organização Mundial da Saúde relatou que há aproximadamente 3 milhões de casos de intoxicação por agrotóxicos a cada ano, com até 220.000 mortes, predominantemente em países em desenvolvimento (OMS, 2019). Após a aplicação, os agrotóxicos podem passar por diversos processos no ambiente, como hidrólise, fotólise, adsorção, oxidação, volatilização, fotodegradação e degradação microbiana (Ghattas *et al.*, 2017). Em um estudo recente, observou-se que a principal via de entrada de agrotóxicos em ambientes aquáticos é o escoamento da terra até rios e riachos (Girones *et al.*, 2020).

## 4.2 INSETICIDAS DE USO DOMISSANITÁRIO

O termo "Domissanitário" é empregado para se referir a substâncias utilizadas com o propósito de limpar, desinfetar ou eliminar pragas em ambientes urbanos. Esses produtos são empregados tanto em contextos domésticos quanto por entidades especializadas em aplicações profissionais (ANVISA, 1999).

Nas últimas décadas, temos observado um aumento no uso de produtos domissanitários em ambientes urbanos. Entre os produtos mais utilizados, destacam-se os piretróides sintéticos e os organofosforados. Nesse contexto, os piretróides são mais amplamente empregados devido à sua baixa toxicidade para mamíferos (Amweg; Weston; Ureda, 2005).

O uso irregular desses produtos resulta na presença de piretróides em ambientes aquáticos, por meio do esgoto e do escoamento superficial provenientes de ambientes domésticos (Weston; Holmes; Lydy, 2008). Em estudos de monitoramento ambiental realizados em rios e riachos urbanos, foram registradas

concentrações de 9,9 ng/L de bifentrina (Weston; Chen; Lydy 2015) na água e 1211 ng/g nos sedimentos suspensos (Weston; Holmes; Lydy, 2008).

Os piretróides estavam presentes em todas as amostras coletadas, sendo o bifentrina o mais preocupante em termos de toxicidade. Acredita-se que esse pesticida possa ter origem tanto no uso por consumidores quanto no uso por controladores profissionais de pragas, mas o padrão sazonal de descarga de esgoto sugere que o uso profissional pode ser a fonte dominante (Weston; Holmes; Lydy, 2008).

### 4.3 INSETICIDAS PIRETRÓIDES

Os piretróides são inseticidas amplamente utilizados na agricultura e em áreas urbanas devido à sua eficácia no controle de insetos e à baixa toxicidade para mamíferos (Yoo *et al.*, 2016). O uso desses inseticidas teve início no século XIX, quando uma tribo persa começou a utilizar o ácido crisântemo ou o ácido pirético extraído da planta *Chrysanthemum* para controlar piolhos (Gokhale, 2008). No entanto, as piretrinas naturais eram sensíveis à luz solar e ao ar, o que reduzia sua eficácia como agrotóxicos (Santos *et al.*, 2007).

Após décadas de pesquisa realizadas pela indústria de produtos químicos agrícolas, em colaboração com governos e laboratórios acadêmicos, esses compostos foram sintetizados, resultando na criação de uma variedade de estruturas de piretróides para uso em medicina veterinária e no controle de pragas agrícolas (Soderlund *et al.*, 2002).

Os piretróides podem ser classificados em dois tipos: o tipo I, que não possui grupos ciano, e inclui derivados como aletrina, bifentrina, d-fenotrina, permetrina, resetrina, teflutrina e tetrametrina. Os piretróides do tipo II, por sua vez, contêm o grupo  $\alpha$ -ciano, o que aumenta seu nível de ecotoxicidade. Entre os piretróides do tipo II, encontram-se derivados como ciflutrina, cialotrina, cipermetrina, deltametrina, fenvalerato, fenpropatrina, flucitrinato, flumetrina, fluvalinato e tralometrina (Fai, *et al.*, 2017).

O mecanismo de ação desses inseticidas envolve a modulação dos canais de sódio dependentes de voltagem, bem como dos canais de cálcio e cloreto (Yang *et al.*, 2018). No entanto, o uso desses produtos representa um risco para organismos não-alvo, como aves, moluscos, abelhas e peixes. Além disso, há preocupações em relação à saúde humana, uma vez que os efeitos adversos desses compostos podem

causar danos por meio da exposição. Eles foram associados a perturbações no sistema endócrino, o que pode afetar negativamente os sistemas reprodutivos, imunológicos e aumentar a incidência de câncer (Gil-Garcia, *et al.*, 2006).

#### 4.3.1 Bifentrina

A bifentrina é um inseticida que pertence ao grupo dos piretróides e é amplamente utilizado no controle de insetos pragas, incluindo pulgões, mosca branca, besouro do Colorado e pragas domésticas (Yang *et al.*, 2018). Além disso, é empregado no combate às larvas do mosquito *Aedes aegypti* (Lee *et al.*, 2004). Esse inseticida encontra aplicação em uma variedade de culturas perenes e anuais (ANVISA, 2023). A tabela 1 apresenta as características físico-químicas de bifentrina.

Tabela 1 – Características gerais e físico-químicas de bifentrina

<b>Características gerais</b>	
<b>Nome químico (IUPAC)</b>	(1RS) -cis-3- (2-cloro-3,3,3-trifluoroprop-1-enil) -2,2-dimetilciclopropanocarboxilato de 2-metil-3-fenilbenzil
<b>CAS</b>	82657-04-3
<b>Propriedades físico-químicas</b>	
<b>Fórmula empírica</b>	C <sub>23</sub> H <sub>22</sub> ClF <sub>3</sub> O <sub>2</sub>
<b>Massa molecular</b>	422,88 g mol <sup>-1</sup>
<b>Solubilidade em água a 20°C</b>	0,001 mg L <sup>-1</sup>
<b>Ponto de fusão</b>	79,6°C
<b>Pressão de vapor a 25°C</b>	0,0178 mPa

Fonte: Pesticide Properties Database (2022).

Este inseticida é frequentemente detectado em ambientes aquáticos em concentrações de 106 ng L<sup>-1</sup> (Weston *et al.*, 2019), a 3,790 µg L<sup>-1</sup> (Pennington *et al.*,

2014). Todavia a presença deste inseticida representa um risco para a saúde, uma vez que a bifentrina pode induzir neurotoxicidade com alto estresse oxidativo em todas as regiões do cérebro de mamíferos (Syed *et al.*, 2018).

#### 4.4 ECOTOXICIDADE

A ecotoxicidade é determinada através da avaliação dos efeitos de estressores ambientais em diferentes níveis, incluindo moléculas, células, órgãos, sistemas, comportamento, organismos e populações (Zhou *et al.*, 2019). Organismos são submetidos à exposição a produtos químicos para avaliar o impacto no ambiente (Danner *et al.*, 2019).

Por definição, a ecotoxicidade aguda é o "efeito prejudicial, seja ele letal ou não letal, causado pela amostra no organismo-teste durante o período de exposição do ensaio" (ABNT, 2016, p.3). Estudos realizados com o inseticida Lambda-cialotrina, que é um piretróide, demonstraram alterações comportamentais e fisiológicas em *Daphnia magna* (Bownik, *et al.*, 2019). Em outro estudo, o piretróide bifentrina foi detectado nos tecidos do intestino, estômago e cérebro do peixe *Xenopus laevis* (Zhang, 2019).

Os ensaios são desenvolvidos para estabelecer a relação entre a resposta da espécie avaliada e as substâncias testadas. Isso possibilita a obtenção de dados sobre a exposição do organismo à substância poluente (Brady *et al.*, 2017). Estudos relacionados à ecotoxicidade aguda são de extrema importância para avaliar e investigar eventos de poluição ambiental em organismos e ecossistemas (Hellou, 2011).

#### 4.5 ORGANISMOS BIOINDICADORES

A definição de "organismos bioindicadores" refere-se a organismos que demonstram respostas a contaminantes ambientais após a exposição por um período determinado. Eles revelam alterações comportamentais, bioquímicas, celulares ou fisiológicas que não podem ser detectadas em um organismo que não foi exposto (Arias, 2002). Para a seleção de espécies bioindicadoras, são considerados critérios como a abundância, a relevância ecológica, a tolerância a distúrbios e estressores,

bem como uma ampla distribuição que seja comparável a uma variedade de exposições (Siddig *et al.*, 2016). O Quadro 1 mostra a utilização de bioindicadores em pesquisas.

Quadro 1 – Resultados ecotoxicológicos obtidos por meio da utilização de organismos bioindicadores

<b>Organismos bioindicador</b>	<b>Inseticidas</b>	<b>Classificação ecotoxicológica quanto ao contaminante / Efeito ecotoxicológico</b>	<b>Referência</b>
<i>Macrobrachium pantanalense</i> <i>Macrobrachium amazonicum</i> <i>Daphnia similis</i> (camarão) <i>Danio rerio</i> (peixe)	Inseticida – Cipermetrina Barrage®	Redução do comprimento dos camarões e do peixe-zebra, bem como a eclosão precoce e o aumento da incidência de deformidades de desenvolvimento em embriões de peixe-zebra.	(Soares <i>et al.</i> , 2017)
<i>A. caroliniana</i> <i>W. brasiliensis</i> <i>L. minor</i> (macrófitas) <i>M. acanthurus</i> (camarão) <i>X. maculatus</i> <i>H. eques</i> (Peixes) <i>P. canaliculata</i> (caramujo)	Inseticida - Clorpirifós	O inseticida Clorpirifós foi classificado como extremamente tóxico para <i>Macrobrachium acanthurus</i> (0,002 mg L <sup>-1</sup> ) e <i>Xiphophorus maculatus</i> (0,07 mg L <sup>-1</sup> ). Moderadamente tóxico para <i>Hyphessobrycon eques</i> (1,65 mg L <sup>-1</sup> ). Pouco tóxico para <i>Pomacea canaliculata</i> (30,66 mg L <sup>-1</sup> ) e Praticamente não tóxico para <i>Azolla caroliniana</i> (849,72 mg L <sup>-1</sup> ), <i>Wolffia brasiliensis</i> (1271,63 mg L <sup>-1</sup> ) e <i>Lemna minor</i> (1299,60 mg L <sup>-1</sup> ).	(Marques <i>et al.</i> , 2021)
<i>P. canaliculata</i>	Inseticidas - Cipermetrina	O cipermetrina provocou alterações histopatológicas em <i>P. canaliculata</i> .	(Arrighetti <i>et al.</i> , 2018)

Fonte: Elaboração do próprio autor.

#### 4.5.1 *Lemna minor*

A *L. minor* é uma macrófita aquática que pertence à família *Lemnaceae*, e é conhecida por sua ampla distribuição geográfica, facilidade de cultivo e alta taxa de crescimento (Zhao, 2014). Ela é considerada a menor angiosperma do mundo, com frondes (folhas e caules) que têm aproximadamente 5mm de diâmetro e raízes com cerca de 1cm de comprimento. Além disso, em condições de baixa disponibilidade de nutrientes no ambiente, essa macrófita desenvolve estruturas semelhantes a raízes, que auxiliam na estabilização em substratos e na melhora da absorção de nutrientes (Chaudhary; Sharma, 2014).

Devido à sua sensibilidade a poluentes aquáticos, a *L. minor* tem sido extensivamente estudada (Putra; Ritonga, 2018, Landolt; Kandeler, 1987, Della *et al.*, 2016). Além disso, ela demonstra a capacidade de absorver metais pesados, como chumbo e cádmio, durante seu período de crescimento (Sasmaz, 2015). Essa macrófita é também um excelente bioindicador, pois tem facilidade de colonizar corpos d'água de água doce. Ela é amplamente usada em análises de riscos ambientais e toxicológicos (OECD, 2006).

#### 4.5.2 *Azolla caroliniana*

*A. caroliniana* é uma pteridófito aquática de pequeno porte que possui ampla distribuição geográfica. Desenvolve-se bem em ambientes poluídos, quando comparado com outras espécies vegetais (Kondo, *et al.*, 1989). Possui aplicação em lavouras de arroz, como uma fonte eficiente de nitrogênio (Cheng, *et al.*, 2010). Em estudo realizado por Kimani *et al.* (2018). Relata-se que a incorporação de *A. caroliniana*, ajuda a mitigar a emissão de metano nos campos de arroz (Ali, *et al.*, 2015).

Estas macrófitas são capazes de crescer em águas desprovidas de nitrogênio combinado, pois possuem uma relação simbiótica com cianobactérias fixadoras de Nitrogênio, como a *Anabaena azollae* (Wagner, 1997). Além disso, o estudo relaciona *A. caroliniana* ao uso na produção de hidrogênio combustível e a redução da volatilização da amônia, que estimula a aplicação de fertilizante químico de nitrogênio (Pandey, 2012).

Esta macrófita apresenta vantagens no processo de fitorremediação de metais pesados, pois possui grande fator de bioacumulação e fácil colheita (Pandey, 2012). Além de ser utilizada como bioindicador aquático de fungicida a base de piraclostrobina (Vechita *et al.*, 2016).

#### **4.5.3 *Pomacea canaliculata***

O *P. canaliculata* é um caramujo límnico pertencente à família *Ampullariidae*, popularmente conhecido como “Aruá do banhado” na região amazônica, distribui-se entre os trópicos e subtropicais, abrangendo áreas da Região Sul da América do Sul (Cowie, *et al.*, 2005), encontrado em vários ecossistemas, desde pântanos e lagoas até lagos e rios (Martin, 2003).

Esta espécie neotropical (Kruatrachue, *et al.*, 2011) possui características de modelo ambiental em pesquisas em ecotoxicológicas, devido à facilidade de cultivo e reprodução (as fêmeas da espécie chegam a depositar de 200 a 600 ovos em poucas semanas). O período de incubação dos ovos é de 14 a 17 dias e os caramujos tornam-se jovens entre 15-25 dias pós eclosão (Ferguson, 2005).

Os gastrópodes, que abrangem uma diversidade abundante de espécies amplamente disseminadas em ambientes aquáticos, devem ser considerados nas avaliações de risco ambiental e toxicidade de xenobióticos (Tallarico, 2015).

Além disso, em estudos realizados por Brunetti *et al.*, (2016) o *P. canaliculata* apresentou bons resultados no biomonitoramento de piretroides e espalhante adesivo à base de óleo vegetal.

#### **4.5.4 *Macrobrachium acanthurus***

Os camarões do gênero *Macrobrachium* pertencem à família *Palaemonidae*, esse gênero é representado por um grupo muito diversificado de espécies de camarões que colonizam uma ampla variedade de ambientes estuarinos e de água doce em todo o mundo. Algumas das espécies desse gênero necessitam de ambos os ambientes, estuarino e de água doce, para completar seu ciclo de vida (Valência, 2017). As principais características distintivas desse gênero incluem a presença dos primeiros dois pares de pereiópodos quelados, sendo o segundo maior que o primeiro, o carpo não subdividido e a presença de dentes no rosto (Williams, 1984).

Conforme destacado por Granados (2021), o camarão *M. acanthurus* tem sido de grande importância econômica na região sudeste do México e é considerado um recurso pesqueiro de grande relevância. Além disso, essa espécie de camarão possui características como facilidade de reprodução, resistência a doenças e crescimento rápido, atingindo o tamanho comercial em apenas 6 meses.

O gênero *Macrobrachium* é particularmente diverso em águas doces costeiras, com espécies que possuem diferentes demandas de salinidade em seu ciclo de vida. Por exemplo, espécies como *M. acanthurus*, *M. offersi* e *M. amazonicum*, na América do Sul, possuem larvas que necessitam de água salobra para completar seu desenvolvimento (Boudour-Bouchecker, *et al.*, 2016). Esses camarões demonstram capacidade de tolerar aumentos na salinidade, exibindo sinais de hiporregulação, ou seja, a capacidade de manter a homeostase em ambientes com variações salinas (Wilder *et al.*, 1998). No entanto, quando expostos a níveis muito elevados de salinidade, esses camarões enfrentam perda significativa de água em seus tecidos musculares (Freire *et al.*, 2017).

Em um estudo recente, *M. acanthurus* se destacou como um excelente bioindicador de contaminação em ambientes aquáticos com o pesticida clorpirifós. A concentração letal média (CL50;48h) para esse organismo foi de 0,002 mg L<sup>-1</sup>. Além disso, o camarão *M. acanthurus* mostrou-se de fácil manejo em condições de laboratório (Marques *et al.*, 2021).

#### **4.5.5 *Xiphophorus maculatus***

Conhecido popularmente como platy ou platyfish, o *X. maculatus* é naturalmente encontrado ao norte da América Central, onde habita riachos e pântanos (Kallman, 1975). Pertencente à família *Poeciliidae*, é um peixe ornamental vivíparo não agressivo e de fácil reprodução, apresentando uma variada coloração laranja (Prodocimo; Freire, 2001). Foi introduzido em pelo menos 18 países, incluindo o Brasil, Estados Unidos da América, Canadá e Japão (Fuller *et al.*, 1999). Além de habitats naturais, ele pode ser encontrado em ambientes lênticos, bem como em reservatórios artificiais ou áreas urbanas (Page; Burr 1991).

O *X. maculatus* possui uma notável capacidade predatória sobre as larvas do mosquito *Aedes aegypti*, e suas características comportamentais e biológicas o tornam mais eficaz no controle de larvas em comparação com o peixe *P. reticulata*

(Junior, 2018). Além disso, o *X. maculatus* tem se mostrado um excelente bioindicador aquático para o organofosforado clorpirifós. Em um estudo conduzido por Marques *et al.*, (2021), esse produto foi classificado como extremamente tóxico para a espécie, com uma CL50 de 0,07 mg L<sup>-1</sup> em 48 horas.

#### 4.5.6 *Hyphessobrycon eques*

O *H. eques* é um pequeno peixe neotropical pertencente à família *Characidae*, com ocorrência que se estende desde a região da Amazônia até as bacias dos rios Guaporé e Paraguai. Geralmente, atinge cerca de 4 cm de comprimento e é encontrado habitando a parte inferior da coluna d'água, em grandes cardumes e prefere águas com características neutras a ligeiramente ácidas, com um pH entre 6,5 e 7,0, e uma temperatura variando de 26°C a 28°C (Aguinaga *et al.*, 2014).

Além de seu papel na ecologia aquática, o *H. eques* também tem importância econômica como peixe ornamental, devido à sua coloração corporal distintiva. Em alguns casos, a comercialização desses peixes se torna a principal fonte de renda para famílias que dependem desse comércio (Aguinaga *et al.*, 2014).

Essa espécie habita principalmente em bancos de macrófitas, que não apenas fornecem abrigo contra predadores, mas também servem como substrato para o desenvolvimento de outros organismos que servem de alimento (Takeda *et al.*, 2004). Devido à sua sensibilidade às mudanças causadas por contaminantes aquáticos, o *H. eques* é considerado um excelente bioindicador aquático (Cruz *et al.*, 2015). Além disso, em um estudo conduzido por Cruz *et al.*, (2008), esse organismo atendeu de maneira exemplar aos critérios de seleção como um potencial bioindicador aquático.

## 4.6 HISTOPATOLOGIA

A histopatologia é uma disciplina científica usada para avaliar a saúde de organismos expostos a poluentes, tanto em ambientes de laboratório como em estudos de campo. Por meio da análise histológica, é possível identificar indicadores de alterações ambientais, tornando-se uma ferramenta valiosa para monitorar diversos contaminantes em organismos sujeitos a doses letais e subletais. Essa abordagem contribui significativamente para a compreensão do estado geral do ecossistema local (Olaniyi, 2020).

Em um estudo recente realizado por Ghayyur *et al.*, (2021), foram observadas alterações histopatológicas significativas nas brânquias do peixe *Cirrhinus mrigala* após exposição a inseticidas, incluindo Clorfenapir (um organofluorado), Dimetoato (um organofosfato) e Acetamiprid (um neonicotinoide). Tais alterações histológicas fornecem insights importantes sobre os efeitos negativos desses inseticidas nas brânquias desses peixes.

Outro estudo conduzido por Hook *et al.*, (2018) identificou alterações histológicas nas brânquias, no fígado e na composição lipídica do músculo do peixe *Lates calcarifer* coletado na bacia hidrográfica de Mackay Whitsundays. Nesse estudo, foram quantificados 55 agrotóxicos e metabólitos de agrotóxicos, que, de acordo com o autor, estão associados a essas alterações histológicas.

Outros estudos também destacaram danos em organismos, como fusão lamelar, elevação do epitélio, hiperplasia e necrose (Ferreira; Assis, 2018), bem como mudanças na atividade enzimática e estresse oxidativo, sugerindo comprometimento da função respiratória e desequilíbrio nas defesas antioxidantes (Souza, Martins e Fernandes, 2020).

Danos notáveis nos tecidos renais foram observados em diferentes estudos, incluindo o desenvolvimento de cistos, inflamação, necrose tubular (Silva, Oliveira e Martinez, 2019), degeneração tubular, aumento das lacunas intercelulares e infiltração inflamatória (Araújo, Pinto e Fernandes, 2021). Além disso, foram relatadas alterações hepáticas, como vacuolização de hepatócitos, degeneração citoplasmática, congestão sinusoidal e infiltração de células inflamatórias (Araújo, Pinto e Fernandes, 2018). Essas observações ressaltam os impactos adversos dos poluentes nos órgãos e tecidos dos organismos aquáticos, fornecendo dados importantes para avaliar a qualidade ambiental e a saúde dos ecossistemas aquáticos.

## 5 MATERIAL E MÉTODOS

Os ensaios ecotoxicológicos ocorreram no Laboratório de Ecotoxicologia e Eficácia de Agrotóxicos (LEEA) do Centro Universitário da Fundação Educacional de Barretos (UNIFEB) em Barretos, São Paulo. Para conduzir esses ensaios, foi submetida uma prévia da pesquisa à Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA) da mesma universidade (Protocolo nº 01\_2021).

O inseticida utilizado foi o Bifentek ® Rogama (nome comercial) que possui como princípio ativo a Bifentrina (Nº CAS: 82657-04-3) na concentração comercial de 215 g L<sup>-1</sup> em suspensão concentrada. Este inseticida possui ação residual de baixo odor e indicado para campanhas de saúde pública, no controle de baratas, mosquitos, moscas, escorpiões, pulgas e cupins subterrâneos.

O produto foi diluído em água desclorada e a aplicação foi feita com o auxílio de pipetas semiautomática, o monitoramento das variáveis de qualidade de água foram realizados com o auxílio de Medidor de Oxigênio Dissolvido de bolso - ASKO - mod. DO ECO, Medidor de Condutividade - ASKO -mod. AK51, Medidor de pH - ASKO - AK90 e sonda multiparâmetro YSI®. Os ensaios ecotoxicológicos são realizados na seguinte ordem (Quadro 2):

Quadro 2 – Ensaio de ecotoxicologia aquática

Ordem	Tipo de ensaio	Descrição
1º	Sensibilidade	Verificar a saúde dos organismos por meio de uma substância de referência (OECD 2002). Neste experimento foram utilizados Cloreto de Sódio (NaCl) para os ensaios de macrófitas e Cloreto de Potássio (KCl) para os demais organismos (ABNT NBR 15088, 2016).
2º	Preliminar	Estabelecer um intervalo de concentrações para a realização do ensaio definitivo. Ao final, é determinado a maior concentração que causa 0% de letalidade e a menor que causa 100%.
3º	Definitivo	Realizado amostra ou intervalo de concentrações estabelecido no ensaio preliminar, com o mínimo de cinco soluções testes.

Fonte: (ABNT, 2016).

Esta formulação comercial foi diluída usando água desclorada, a mesma água usada no cultivo de cada organismo de teste. As diluições foram preparadas com base na concentração do ingrediente ativo.

As avaliações de ecotoxicidade foram realizadas usando duas espécies de macrófitas (*L. minor* e *A. caroliniana*), uma espécie de caramujo (*P. canaliculata*), uma espécie de crustáceo (*M. acanthurus*) e duas espécies de peixes (*X. maculatus* e *H. eques*).

## 5.1 ENSAIOS DE ECOTOXICIDADE AGUDA

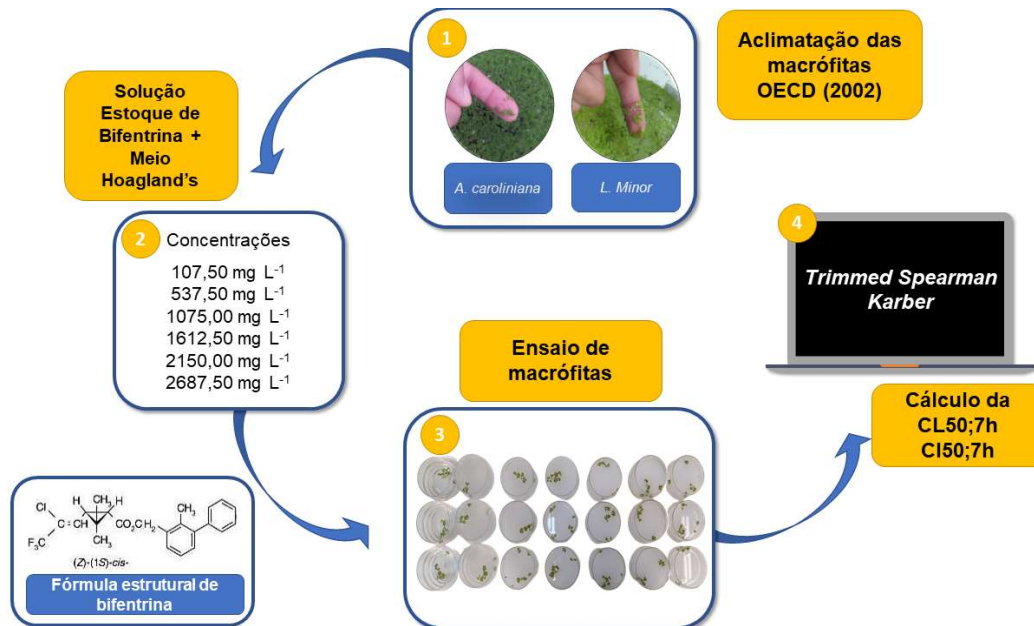
### 5.1.1 Ensaio de macrófitas: *Azolla caroliniana* e *Lemna minor*

As macrófitas aquáticas (*L. minor*, *A. caroliniana* e *W. brasiliensis*) foram cultivadas em recipientes de 60 L com água desclorada contendo um substrato (terra, areia e matéria orgânica, em medidas iguais), e adubo químico.

Após o estágio de crescimento vegetativo, as macrófitas foram aclimatadas em solução de Hoagland (água destilada reconstituída com nutrientes e pH  $5,8 \pm 0,2$ ) durante sete dias em uma sala de bioensaio a  $25,0 \pm 2,0$  °C, com fluxo contínuo de ar, intensidade de luz de 6.500 Lux e fotoperíodo de 12 horas de luz para 12 horas de escuridão.

Os ensaios de ecotoxicidade para macrófitas foram realizados de acordo com os procedimentos da Diretriz para testes de produtos químicos - Inibição de crescimento de *L. minor* da OECD (2002), com algumas adaptações para *A. caroliniana*. Nos ensaios, foram selecionadas macrófitas com bom aspecto sanitário e tamanho homogêneo. Os testes foram conduzidos em uma sala aclimatada (nas mesmas condições de aclimatização) com duração de sete dias, conforme apresentado na figura 1.

Figura 1 – Ilustração metodológica do ensaio de macrófitas.



Fonte: Elaboração do próprio autor.

O ensaio para *L. minor* foi conduzido com três réplicas para cada concentração testada. Para cada réplica, foram escolhidas quatro colônias, cada uma com 3 frondes ("folhas"), totalizando 12 frondes por réplica. Para *A. caroliniana*, foram utilizadas cinco réplicas para cada concentração testada, com cinco plantas saudáveis em cada réplica.

A toxicidade para *L. minor* foi avaliada pela inibição do crescimento das plantas, ocorrência de necrose e clorose. A toxicidade para *A. caroliniana* foi avaliada pela porcentagem de necrose e clorose.

Antes de realizar os ensaios de toxicidade com o inseticida, a saúde e a sensibilidade das macrófitas foram avaliadas por meio de testes com a substância de referência cloreto de sódio (NaCl). Os testes de sensibilidade foram realizados nas mesmas condições de aclimatização (OECD, 2002).

O ensaio de sensibilidade, concentração de inibição do crescimento (IC50;7d) de NaCl para *L. minor* foi realizada nas seguintes concentrações: 0,0 (controle) 0,09; 0,80; 1,40; 2,45; 4,20 e 7,50 g L<sup>-1</sup> (fator de diluição 1,75). Obtendo CI50;7d de 0,23 g L<sup>-1</sup>, com 0,16 mg L<sup>-1</sup> como limite inferior (LI) e 0,29 mg L<sup>-1</sup> como limite superior (LS). O ensaio de concentração letal (CL50;7d) de NaCl para *A. caroliniana* foi realizada nas seguintes concentrações: 0,0 (controle) 0,50; 1,12; 2,53; 5,69; 12,81; 28,83 g L<sup>-1</sup> (fator de diluição 2,25). Obtendo CL50;7d de 3,64 g L<sup>-1</sup> (LI 3,21 e LS 4,14 g L<sup>-1</sup>). Esses

valores confirmam que as macrófitas estavam em condições normais de saúde e sensibilidade, de acordo com o a carta controle do laboratório.

Os ensaios de ecotoxicidade de bifentrina em *L. minor* e *A. caroliniana* foram realizados expondo as macrófitas a diferentes concentrações do inseticida diluído na água de cultivo (solução de Hoagland). As concentrações foram determinadas em testes preliminares de ecotoxicidade em uma sala nas mesmas condições de aclimatização.

No ensaio definitivo macrófitas foram expostas às seguintes concentrações: 0,0 (controle), 107,50; 537,50; 1075,00; 1612,50; 2150,00 e 2687,50 mg L<sup>-1</sup> por sete dias. A avaliação foi feita nos períodos de 3, 5, e 7 dias. Foi quantificado o número de frondes e se havia necrose ou clorose. Por fim, foi feito o cálculo da CI<sub>50;7d</sub> com base no percentual de letalidade no software *Trimmed Spearman Karber* (1976).

### 5.1.2 Ensaio de caramujo: *Pomacea canaliculata*

Os caramujos (*P. canaliculata*) foram cultivados em recipientes de 300,0 litros com água decolorada e substrato (terra, areia e matéria orgânica, em medidas iguais) até a reprodução. Foram alimentados com a macrófita aquática *Pistia stratiotes* e ração extrusada para peixes, contendo 28% de proteína.

Após a reprodução, as jovens crias com peso de 0,90 a 1,20g foram encaminhados para sala de bioensaios, em caixas de 60 L, com água descolorada, condutividade elétrica da água de 0,09 ± 0,02 mS.cm<sup>-1</sup>, pH de 8,80, temperatura de 25,00 ± 2,00 °C e 4,11 ± 1,00 mg L<sup>-1</sup>, fotoperíodo de 12 horas, durante 7 dias, com aeração constante e alimentação diária com a macrófita *Vallisneria americana*.

Em seguida, o período de aclimatação dos organismos foi realizado ensaio de sensibilidade com cloreto de potássio (KCl), nas concentrações de: 0,0(controle); 0,10; 0,25; 0,50; 0,90; 1,20; 2 g L<sup>-1</sup>. Os ensaios foram conduzidos em sistema estático (sem alimentação e renovação de água) por um período de 48 horas em aquários de três litros e com cinco caramujos por réplica. Obtendo a concentração efetiva de 50% (CE<sub>50;48h</sub>) de 1,11 g L<sup>-1</sup> com intervalo de confiança (95%) entre 0,86 e 1,43 g L<sup>-1</sup>, de acordo com a carta controle do laboratório. Os ensaios de ecotoxicidade de bifentrina em *P. canaliculata* foram realizados expondo os organismos a diferentes concentrações do inseticida diluído em água descolorada, como mostra na Figura 2.

Figura 2 – Ilustração metodológica do ensaio de caramujo.



Fonte: Elaboração do próprio autor.

O ensaio de toxicidade com os caramujos foi conduzido de acordo com a norma NBR 15088 (ABNT, 2016) para peixes, adaptado para caramujos, o que garantiu a padronização dos ensaios. Os caramujos não foram alimentados e não houve aeração nos aquários durante os ensaios de toxicidade (48 horas). O ensaio com os caramujos foi realizado com três repetições para cada concentração testada, e em cada repetição, foram utilizados cinco caramujos.

O ensaio definitivo foi realizado em triplicata nas concentrações de: 0,0 (controle) 1,15; 3,70; 12,00; 39,24 e 126,85 mg L<sup>-1</sup>. A imobilidade dos caramujos foi avaliada em 24 e 48 h de exposição, por meio de um toque mecânico com o auxílio de uma pinça no opérculo. As variáveis de oxigênio dissolvido, temperatura, condutividade elétrica e pH da água foram avaliados com sonda multiparâmetro YSI® durante os períodos de 0, 24 e 48 h de exposição ao inseticida (Figura 3).

Figura 3 – Monitoramento das variáveis de qualidade de água com sonda multiparâmetro YSI® nos ensaios com bifentrina.



Fonte: Elaboração do próprio autor.

### 5.1.3 Ensaio de camarão: *Macrobrachium acanthurus*

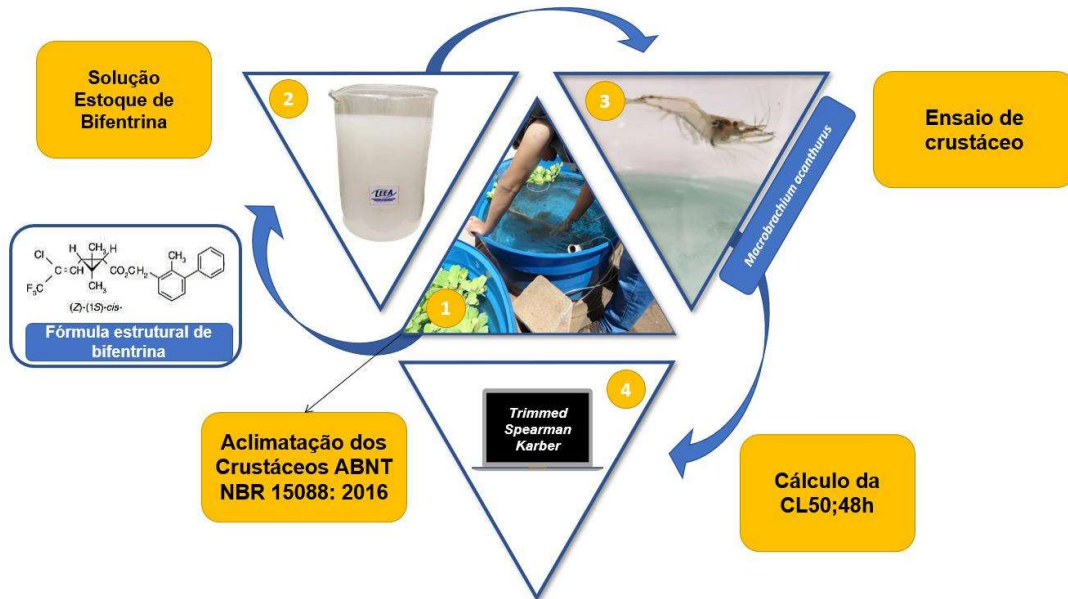
Os ensaios com *M. acanthurus* foram realizados de acordo com a ABNT NBR 15088: 2016 adaptada para camarão. Foi feita a aclimação dos organismos em sala para bioensaios com tanques de 300L aerados sob fluxo contínuo de água, à temperatura de  $25,0 \pm 1,0$  °C, fotoperíodo de 12 horas, no período de 7 dias em tanque de aclimação aerado e alimentados diariamente com ração extrusada úmida. A água utilizada nos ensaios foi coletada em sistema próprio do laboratório após a descloração, com as seguintes características: condutividade elétrica da água de  $0,19 \pm 0,10$  mS.cm<sup>-1</sup>, pH  $8,5 \pm 0,5$ , oxigênio dissolvido  $4,11 \pm 1,00$  mg L<sup>-1</sup> e temperatura de  $25,56 \pm 1,00$ .

Foram utilizados organismos em fase juvenil pesando entre 1 e 2 g, estes foram submetidos a avaliação de sanidade e sensibilidade, com KCl nas concentrações de 0,01; 0,1; 0,25; 0,5; 0,9; 1,5 g L<sup>-1</sup> mais o controle. Foram utilizados três camarão por concentração sendo 1 por aquário em sistema estático (sem renovação de água) no período de 48 horas, os organismos não foram alimentados

durante o ensaio. A CL<sub>50;48h</sub> de KCl foi de 0,09 g L<sup>-1</sup>, com intervalo de confiança (95%) entre 0,04 e 0,22 g L<sup>-1</sup>.

Os ensaios preliminares foram realizados nas mesmas condições de aclimação apresentadas.

Figura 4 – Ilustração metodológica do ensaio de camarão



Fonte: Elaboração do próprio autor.

O ensaio definitivo foi realizado nas concentrações de 0,000011; 0,00011; 0,00032; 0,00054; 0,0011 mg L<sup>-1</sup> de bifentrina mais o controle, com 6 indivíduos por concentração (1 indivíduo por aquário). A letalidade foi avaliada nos períodos de 24 e 48h após aplicação do produto e os organismos mortos foram retirados dos respectivos aquários. Em seguida foi calculado a concentração letal de 50% após 48h de exposição. A CL<sub>50; 48h</sub> e as variáveis físico-químicos de água foram monitorados nos períodos de 0, 24 e 48h de acordo com as normas estabelecidas pela ABNT NBR 15088: 2016 (ABNT, 2016).

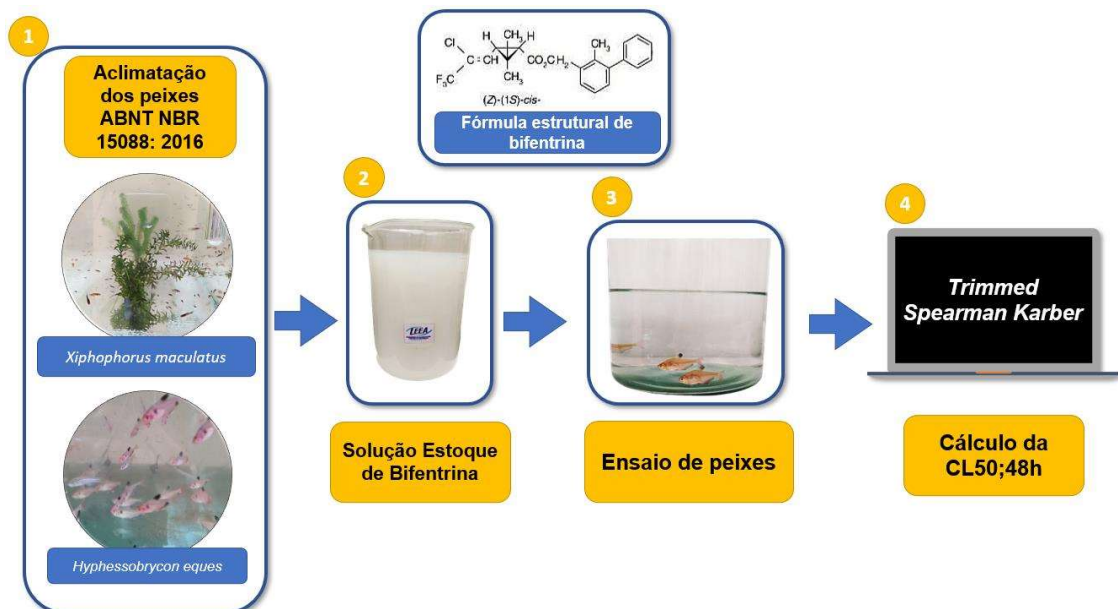
#### 5.1.4 Ensaio de peixes: *X. maculatus* e *H. eques*

Os ensaios ecotoxicológicos para peixes foram realizados de acordo com os procedimentos da ABNT NBR 15088 (2016). Os peixes *X. maculatus* utilizados nos ensaios, provém do cultivo próprio do laboratório enquanto o *H. eques* foi adquirido por meio de criação especializadas de boa procedência. A aclimação ocorreu no

período de sete a dez dias em sala de bioensaios, com caixas de 60 L, à temperatura de  $25,0 \pm 2,0$  °C, fotoperíodo de 12h, com aeração constante promovida por bomba aeradora e alimentação diária com ração floculada. A água utilizada para a aclimação foi desclorada em sistema próprio laboratório.

O ensaio de sensibilidade ao KCl em *X. maculatus* foi realizado com alevinos de até 1 cm de comprimento nas concentrações de: 0,01; 0,1; 0,56; 1; 1,56; 2,44 g L<sup>-1</sup> mais o controle. Foi obtida a CL50;48h de 0,59 g L<sup>-1</sup> com intervalo de confiança (95%) entre 0,39 (LI) e 0,9 (LS) g L<sup>-1</sup>. Os ensaios preliminares foram realizados com 5 indivíduos de (tamanho entre 1 e 2 cm) por aquário inicialmente com o volume de 1 L de água por um período de 24h. Em seguida foram aplicadas às concentrações testes e completadas com água até que se obtenha o volume total de 2 L por aquário. Neste experimento os organismos permanecem expostos a bifentrina durante o período de 48h, sem alimentação em sistema estático. A avaliação da letalidade e sinais de intoxicação são realizadas após 24 e 48h de exposição, foi observado natação errática, espasmos e dificuldade de arfagem. A Figura 5 mostra a metodologia utilizada.

Figura 5 – Ilustração metodológica do ensaio de peixes



Fonte: Elaboração do próprio autor.

Em seguida foram feitos os ensaios definitivos nas concentrações de 0,0011; 0,0054; 0,011; 0,054; 0,11; 0,32 mg L<sup>-1</sup> mais o controle em triplicata e 5 peixes por

réplica. Além disso, foram monitoradas as variáveis condutividade elétrica da água de  $0,19 \pm 0,02 \text{ mS.cm}^{-1}$ , pH 7,0 a 7,6, oxigênio dissolvido (OD)  $4,31 \pm 1 \text{ mg L}^{-1}$  e temperatura  $25,0 \pm 1,0 \text{ }^\circ\text{C}$ , nos períodos de 0, 24 e 48h de aplicação do produto de acordo com as normas estabelecidas pela ABNT NBR 15088: 2016 (ABNT, 2016).

Os ensaios realizados com *H. eques* seguiram os mesmos procedimentos de *X. maculatus*. Foram selecionados 3 indivíduos jovens com peso de 0,8 a 1 grama e acondicionados em aquários contendo o volume de 2L de água, pelo período de 24h. Após esse período foi aplicado KCl (para o ensaio de sensibilidade) nas concentrações de 0,01; 0,10; 0,56; 1,00; 1,56; 2,44  $\text{g L}^{-1}$  mais o controle, por fim, foi colocado água desclorada até completar o volume de 3 L. As variáveis de qualidade de água foram monitoradas de acordo com as normas estabelecidas pela ABNT NBR 15088:2016 (ABNT, 2016): condutividade elétrica da água de  $0,19 \pm 0,02 \text{ mS.cm}^{-1}$ , pH variando de 7,0 a 7,6, oxigênio dissolvido (OD) de  $4,31 \pm 1 \text{ mg L}^{-1}$  e temperatura mantida a  $25,0 \pm 1,0 \text{ }^\circ\text{C}$  nos períodos de 0, 24 e 48 horas após a aplicação do produto.

A CL50; 48h obtida foi de  $1,68 \text{ g L}^{-1}$ , com intervalo de confiança de 95% entre  $1,32$  e  $2,41 \text{ g L}^{-1}$ . Em seguida, foram realizados os experimentos preliminares e por fim o definitivo nas mesmas concentrações do ensaio de *X. maculatus*. A avaliação das variáveis de qualidade de água foi realizada no período de 0, 24 e 48h e a ecotoxicidade de bifentrina foi avaliada nos períodos de 24 e 48h conforme o experimento de *X. maculatus*.

## 5.2 ANÁLISE DOS DADOS E CLASSIFICAÇÃO DOS INSETICIDAS

Os valores de mortalidade foram submetidos a regressão linear e a concentrações efetiva, de inibição e letal estimados (CE50, CI50 e CL50) pelo *software Trimmed Spearman Karber* (Hamilton; Russo; Thurston, 1977) e o inseticida foi classificado (Tabela 1) quanto ao seu risco de intoxicação ambiental para cada espécie avaliada conforme categoriais da *Environmental Protection Agency* (EPA), 2022 (Tabela 2).

Tabela 2 – Classificação ecotoxicológica para organismos terrestres e aquáticos não-alvo

CE/CI/CL 50% (mg L <sup>-1</sup> )	CATEGORIAS
(CL50) ≤0,1	Extremamente tóxico
>0,1 (CL50) ≤1,0	Muito tóxico
>1,0 (CL50) ≤10,0	Moderadamente tóxico
>10,0 (CL50) ≤100,0	Pouco tóxico
(CL50) >100,0	Praticamente não-tóxico

Fonte: EPA (2022).

### 5.3 RISCO DE INTOXICAÇÃO AMBIENTAL

O risco de intoxicação ambiental causado pelo inseticida bifentrina foi determinado a partir do método do quociente (Q), onde o risco é calculado por meio da equação 1 e 2. Assim, o risco é classificado em categorias (Tabela 3), de acordo com os valores de RQ propostos por Goktepe, Portier, Ahmedna (2004).

$$CAE\ 100\% = \frac{MDR(mgL^{-1})}{V(L)} \quad \text{EQ. 1}$$

$$QR = \frac{CAE(mgL^{-1})}{CL50(mgL^{-1})} \quad \text{EQ. 2}$$

Sendo:

CAE = concentração ambiental estimada

V = volume dos supostos reservatórios

MDR = maior dose recomendada.

Para calcular a concentração ambiental estimada (CAE) foram considerados cenários de contaminação adaptados de procedimento propostos por Kokta *et al.*, (1992). Nesses cenários considerou-se que:

A) Inseticida bifentrina esteja uniformemente distribuído no espelho d 'água de um reservatório com área de um hectare (10.000 m<sup>2</sup>) nas profundidades de 0,30 e 2,0 m.

B) Densidade média da água de 1,0 g cm<sup>-3</sup>.

C) Quantidade do inseticida estudado aplicado na superfície do espelho d'água do reservatório seja equivalente às diluições de 100,00; 50,00; 25,00; 12,50; 6,25 e 3,125% da maior dose recomendada para uso domissanitário (MDR).

D) Cálculo do volume dos supostos reservatórios (V) com 0,30 e 2,0 m de profundidade.

Tabela 3 – Risco Ambiental de acordo com a concentração ambiental estimada.

Quociente de risco	Classes de risco
$RQ \geq 0,5$	Alto risco
$0,05 < RQ < 0,5$	Médio risco
$RQ \leq 0,05$	Baixo risco

Fonte: Goktepe, Portier, Ahmednal., (2004)

Para a avaliação do risco de bifentrina foi utilizada a maior dose de aplicação recomendada pela bula. O produto Bifentek® é indicado para aplicação domosanitária, com isso foi feito uma adaptação do método proposto por Kokta *et al*, (1992) e foi considerado a maior concentração de aplicação indicada na bula. Portanto, para fins de cálculo a concentração utilizada foi de 537,50 g i.a ha<sup>-1</sup>, recomendado para o controle de pulgas.

Deste modo as concentrações utilizadas são: 537,500; 268,750; 134,375; 67,186; 33,594; 17,922 g i.a ha<sup>-1</sup>.

#### 5.4 ENSAIO DE ECOTOXICIDADE CRÔNICA COM *H. eques*.

Os exemplares de *H. eques* com peso entre 0,80 e 1,00 g, foram aclimatados em sala de bioensaio dentro de aquários de 60 L, aerados, com temperatura de 25,00 ± 2,00 °C, fotoperíodo de 12 h e alimentados uma vez ao dia com ração floculada (28 a 32% de proteína) por dez dias.

Em seguida foi realizado o ensaio crônico com três réplicas por concentração, contendo 5 indivíduos por aquário. Os aquários foram aerados com bomba aeradora e continham o volume final de 5 L (considerando água + concentração do inseticida). Os organismos foram expostos ao inseticida bifentrina por 15 dias (Figura 6) de acordo com a ABNT NBR 15499:2016.

Figura 6 – Ensaio crônico com *H. eques*

Fonte: Elaboração do próprio autor.

As concentrações subletais foram definidas com base nas concentrações calculadas nos ensaios de ecotoxicidade aguda. A  $CL_{50;48h}$  encontrada ( $0,031 \text{ mg L}^{-1}$ ) foi submetida a quocientes de 100, 50, 10 e 5 determinando as concentrações de: 0,0003; 0,0006, 0,003,  $0,006 \text{ mg L}^{-1}$  mais o controle. As variáveis de qualidade de água, foram aferidas com medidor de oxigênio dissolvido de bolso - ASKO - mod. DO ECO, Medidor de Condutividade - ASKO -mod. AK51, Medidor de pH - ASKO - AK90 nos períodos de: 0, 1, 3, 5, 7, 9, 11, 13, e 15 dias após exposição. A avaliação dos sinais de intoxicação ocorreu no mesmo período, foram observados natação errática, dificuldade de arfagem, espasmos e hemorragia.

O experimento foi realizado em sistema semi-estático e a alimentação dos organismos teve início a partir do 3° dia e seguiu conforme os dias das avaliações. Foi utilizado 0,03 g de rações floculadas por aquário, sendo que cada aquário tinha cinco peixe com peso de 1g. Neste sentido foi calculado 0,6% do peso vivo para calcular o peso de ração por indivíduo. Todavia este percentual representa 0,03 g.

No 7° dia de ensaio foi feita a limpeza dos aquários, retirando os resíduos de fezes depositados ao fundo. O volume de água retirado dos aquários foi de 1 L de

água, sendo repostado em seguida com a reaplicação de bifentrina correspondente à concentração de cada aquário.

## 5.6 ANÁLISE HISTOPATOLÓGICA

Ao término do ensaio de toxicidade aguda e crônica com bifentrina em *H. eques* foram coletadas 5 amostras de brânquias, fígado e rim dos animais sobreviventes.

Os órgãos foram retirados, seccionados longitudinalmente e imersos em solução fixadora de formol (10%) por 24 horas, em seguida foi feita a troca da solução fixadora e colocado álcool 70%, após 24 e 48h.

Após a fixação, é feita a desidratação, diafanização e inclusão em Histosec® (Merck). Em seguida, a realização a microtomia em Micrótopo Lupetec Semi Automático Motorizado – MRP2016SA, obtendo cortes de 3 a 5 µm de espessura, por fim, corados com Hematoxilina-Eosina, PAS (ácido periódico de Schiff), Alcian Blue pH 2,5 e Alcian Blue + ácido periódico de Schiff (BEHMER *et al.*, 1976).

Para a análise das lâminas histológicas foi utilizado o microscópico de Luz de LED Panthera L- Motic®.

## 6 RESULTADOS E DISCUSSÕES

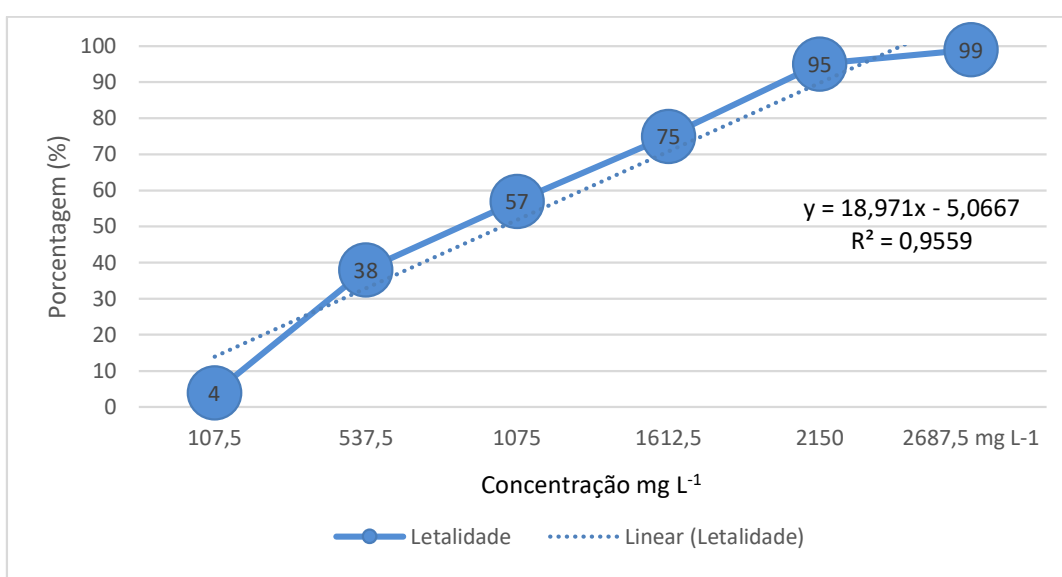
### 6.1 ECOTOXICIDADE AGUDA PARA OS ORGANISMOS AQUÁTICOS

Após a realização dos testes com bioindicadores aquáticos expostos ao bifentrina, foram observados efeitos ecotoxicológicos, classificados da seguinte forma, do menos tóxico para o mais tóxico: *L. minor*, *A. caroliniana* (macrófitas), *P. canaliculata* (caramujo), *X. maculatus*, *H. eques* (peixes) e *M. acanthurus* (camarão).

Os resultados de ecotoxicidade para *A. caroliniana* e *L. minor* revelaram CL50 (mediana de concentração letal) de 679,84 e 877,26 mg L<sup>-1</sup>, respectivamente. De acordo com a tabela 2 apresentada na metodologia, o inseticida foi classificado como praticamente não tóxico para ambas as macrófitas. Os resultados de LS (limite superior) e LI (limite inferior) podem ser encontrados na tabela 4.

No caso de *A. caroliniana*, o maior percentual de necrose foi observado na concentração de 2687,50 mg L<sup>-1</sup>, com necrose em 99% das frondes, enquanto o menor percentual foi de 4% nas frondes expostas a 107,50 mg L<sup>-1</sup> (Figura 7). Esses resultados indicam uma relação entre a concentração de bifentrina e o dano causado às macrófitas, com concentrações mais elevadas resultando em maior necrose das frondes.

Figura 7 – Gráfico de letalidade de *A. caroliniana*

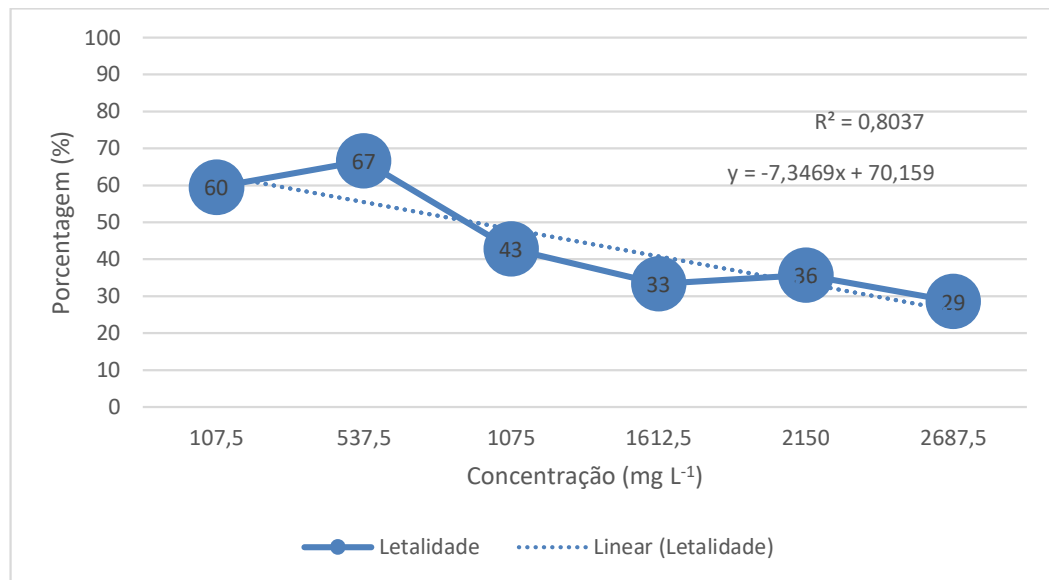


Fonte: Elaboração do próprio autor.

Legenda: Dados expressos em porcentagem

Em *L. minor*, observou-se um efeito inverso, onde o maior percentual de necrose foi registrado na concentração de 107,50 mg L<sup>-1</sup>, afetando 67% das frondes. Por outro lado, o menor percentual de necrose foi observado em 2150,00 mg L<sup>-1</sup>, com 29% dos indivíduos afetados, conforme ilustrado na figura 8. Esses resultados sugerem uma resposta diferenciada das macrófitas, com concentrações intermediárias de bifentrina causando mais danos nas frondes de *L. minor*. Os valores dos limites de confiança e a classificação ecotoxicológica estão disponíveis na Tabela 4.

Figura 8 – Gráfico de inibição de crescimento de *L. minor*.



Fonte: Elaboração do próprio autor.

Os resultados do ensaio com macrófitas demonstraram uma maior resistência ao bifentrina. Esses organismos parecem ser menos suscetíveis aos piretroides em comparação a outros organismos aquáticos, como peixes, moluscos e crustáceos (Campbell *et al.*, 2012). Isso ocorre devido ao mecanismo de ação dos piretroides, que envolve alterações na cinética dos canais de sódio de insetos (Yang *et al.*, 2018), e as macrófitas não possuem esses mecanismos (Brenner *et al.*, 2006).

Além disso, observou-se um aumento no número de frondes em concentrações mais elevadas do inseticida. Esses resultados indicam que as macrófitas podem ser mais eficazes como agentes de biorremediação do bifentrina. Em um estudo com *P. stratiotes* e *E. crassipes* expostas aos piretroides permetrina, cipermetrina, deltametrina e bifentrina, observou-se uma eficiência de remoção de

contaminantes de 70% (Riaz *et al.*, 2017). Além disso, é comum observar um aumento na biomassa vegetal após a exposição a inseticidas piretroides (Friberg-Jensen *et al.*, 2003), o que reduz a concentração do poluente no ambiente aquático (Mugni *et al.*, 2011). Os resultados de CL50;7d, CL50;7d, CE50;48h e CL50;48h dos organismos utilizados serão apresentados na Tabela 4.

Tabela 4 – Valores de CL, CE, CI 50 e classificação ecotoxicológica para os organismos de diversos níveis tróficos.

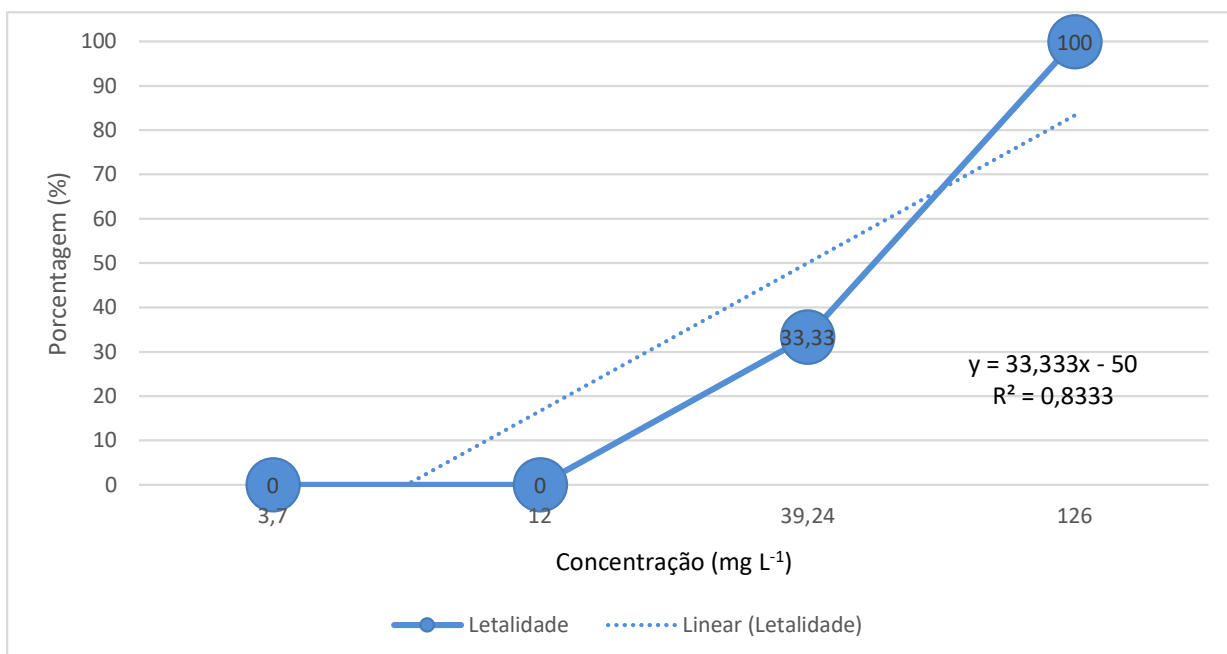
Organismos	Nível trófico	CL50;7d, CL50;7d, CE50;48h, CL50;48h (mg L <sup>-1</sup> )	Equação Linear	R <sup>2</sup>	Classificação de Ecotoxicidade (EPA, 2022)
<i>A. caroliniana</i>	Produtor/ Autótrofo	679,84 (588,99 – 784,7)*	$y = 18,971x - 5,0667$	R <sup>2</sup> = 0,96	Praticamente não-tóxico
<i>L. minor</i>	Produtor/ Autótrofo	877,26 (704,38 – 1092,55)*	$y = -7,3469x + 70,159$	R <sup>2</sup> = 0,80	Praticamente não-tóxico
<i>P. canaliculata</i>	Consumidor primário	47,62 (35,733 – 63,46)*	$y = 0,3333x - 0,5$	R <sup>2</sup> = 0,83	Pouco tóxico
<i>M. acanthurus</i>	Consumidor primário	0,00027 (0,00018 - 0,00038)*	$y = 1,6x - 1,8$	R <sup>2</sup> = 0,80	Extremamente tóxico
<i>X. maculatus</i>	Consumidor secundário	0,0065 (0,0043 - 0,0098)*	$y = 3,8x - 2$	R <sup>2</sup> = 0,92	Extremamente tóxico
<i>H. eques</i>	Consumidor secundário	0,031 (0,020 - 0,048)*	$y = 2,4x - 4$	R <sup>2</sup> = 0,86	Extremamente tóxico

Fonte: Elaboração do próprio autor.

Legenda: \* Intervalo de confiança

Os resultados do ensaio com o caramujo *P. canaliculata* classificou o inseticida bifentrina como pouco tóxico para essa espécie (Tabela 2). A CE50;48h obtida foi de 47,62 mg L<sup>-1</sup>, e foram observadas reduções nos reflexos e tentativas de fuga a partir da concentração de 12,00 mg L<sup>-1</sup>. Indivíduos expostos à concentração de 126,85 mg L<sup>-1</sup> apresentaram imobilidade/letalidade de 26,70% após 24 horas de exposição. No período de 48 horas, ocorreu letalidade de 33,33% dos organismos expostos à concentração de 39,24 mg L<sup>-1</sup> e 73,3% na concentração de 126,85 mg L<sup>-1</sup> (Figura 9).

Figura 9 – Gráfico de letalidade de *P. canaliculata*.



Fonte: Elaboração do próprio autor.

Além disso, houve uma redução significativa nos níveis de oxigênio dissolvido na água, de 4,2 mg L<sup>-1</sup> para 0,81 mg L<sup>-1</sup> após 48 horas de ensaio, em todos os aquários, incluindo o controle (sem mortalidade ou sinais de estresse). Esse fenômeno não interferiu nos resultados do ensaio, uma vez que organismos desse tipo tendem a aumentar sua taxa de respiração quando expostos a baixos níveis de oxigênio, o que leva à diminuição do oxigênio disponível na água (Lukowiak, 1996).

Em um estudo com o caramujo *Chilina parchappi* exposto ao piretroide cipermetrina, obteve-se uma CE<sub>50</sub> de 44,59 mg L<sup>-1</sup>, um resultado semelhante ao observado em *P. canaliculata*. Além disso, foram registrados efeitos neurotóxicos, como a perda da capacidade de aderir ao substrato (Fernández, *et al.*, 2020).

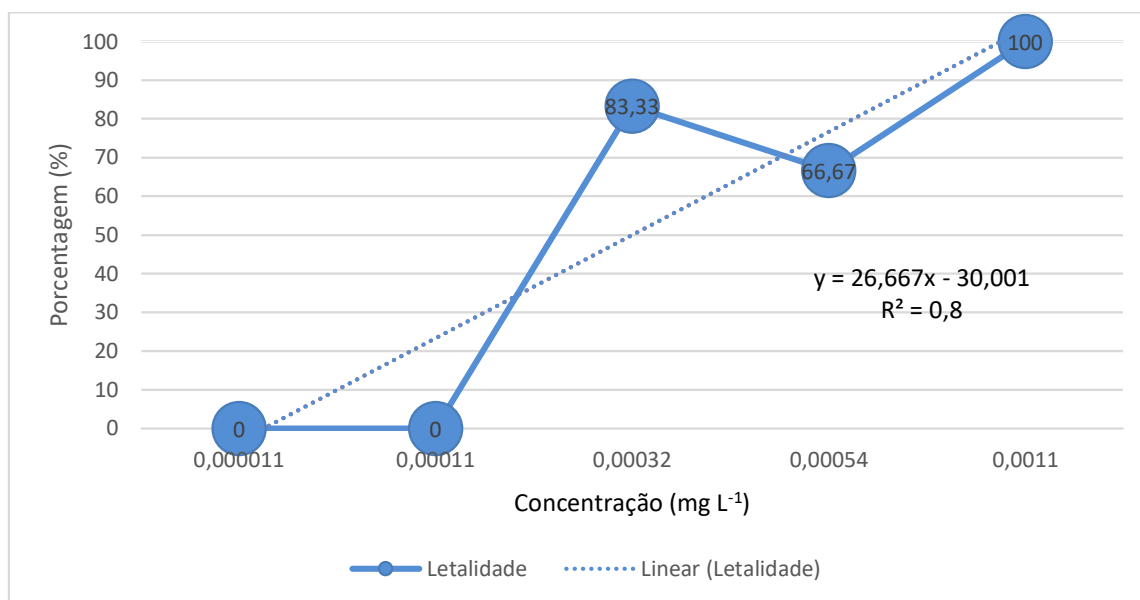
Já no caso do camarão-pitu-de-água-doce (*M. acanthurus*), observaram-se respostas mais sensíveis ao bifentrina. A CL<sub>50</sub>;48h obtida para esse organismo foi de 0,00027 mg L<sup>-1</sup>, classificando o inseticida bifentrina como extremamente tóxico para a espécie (EPA, 2022). Essa mesma classificação foi obtida em um estudo com o inseticida clorpirifós, onde a CL<sub>50</sub>;48h foi de 0,002 mg L<sup>-1</sup>, confirmando o *M. acanthurus* como um excelente bioindicador aquático para essas substâncias (Marques, *et al.*, 2021).

A concentração de  $0,00032 \text{ mg L}^{-1}$  resultou em uma taxa de mortalidade de 50% dos organismos em um período de 24 horas, enquanto todos os organismos expostos à concentração de  $0,0011 \text{ mg L}^{-1}$  de bifentrina apresentaram mortalidade até o final do ensaio, como ilustrado na Figura 10.

Em estudos de monitoramento ambiental realizados em rios e riachos urbanos, foram encontradas concentrações de bifentrina com valores de  $0,0000099 \text{ mg L}^{-1}$  na água (Weston, Chen e Lydy, 2015) e  $0,001211 \text{ mg g}^{-1}$  nos sedimentos suspensos (Weston, Holmes e Lydy, 2008). Esses resultados destacam a necessidade de um controle ambiental rigoroso dessas substâncias, uma vez que esses organismos têm a tendência de habitar o fundo de corpos d'água lútricos (Carvalho *et al.*, 1979), o que aumenta o risco de exposição aos sedimentos contaminados (Weston, Holmes e Lydy, 2008).

Além disso, a exposição subletal pode resultar em uma redução na capacidade de natação e na captura de presas, afetando o desenvolvimento e a sobrevivência da espécie, conforme descrito por Bechmann *et al.*, em 2018.

Figura 10 – Gráfico de letalidade de *M. acanthurus*.



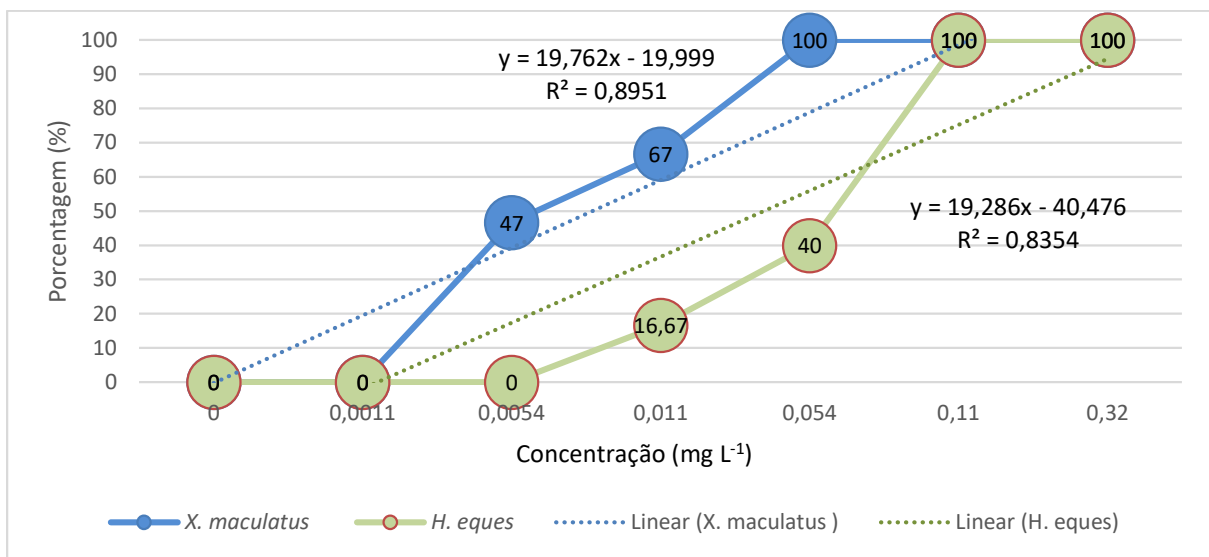
Fonte: Elaboração do próprio autor.

No ensaio com os peixes *X. maculatus* e *H. eques*, foram obtidas as CL<sub>50</sub>;48h de 0,0065 e 0,031 mg/L, respectivamente. Resultados semelhantes foram observados no peixe *O. niloticus* exposto ao bifentrina, com uma CL<sub>50</sub>;96h de  $0,00681 \text{ mg L}^{-1}$ .

Isso indica que este inseticida afeta peixes de forma semelhante, conforme relatado por Farag *et al.*, em 2021.

Os organismos expostos à concentração de 0,0011 mg L<sup>-1</sup> não apresentaram letalidade ou sinais de intoxicação. No entanto, na concentração de 0,0054 mg L<sup>-1</sup>, foi observada uma taxa de letalidade de 46,67% em *X. maculatus* após 48 h de exposição ao bifentrina, como mostrado na Figura 11.

Figura 11 – Gráfico de letalidade de *X. maculatus* / *H. eques*.



Fonte: Elaboração do próprio autor.

Os sinais de intoxicação, como permanência na superfície da coluna d'água e natação errática, ocorreram em 11,11% dos organismos de *H. eques* e 13,33% de *X. maculatus* na concentração de 0,01 mg L<sup>-1</sup> após 48 horas de exposição. Esses sinais de intoxicação revelaram alto grau de desconforto e implicam na redução da taxa de sobrevivência e ganho de peso corporal dos indivíduos, conforme relatado por Farag *et al.*, em 2021.

Na concentração de 0,05 mg L<sup>-1</sup>, 11,11% dos exemplares de *H. eques* apresentaram incapacidade de arfagem e natação errática após 24 horas de ensaio, sendo constatada a morte dos mesmos após 48 horas de exposição.

A resposta desses organismos após a exposição a contaminantes aquáticos pode ser usada para avaliar o impacto ambiental, destacando a importância desses estudos para informar estratégias de gestão e conservação desses ambientes, como mencionado por Mundy *et al.*, em 2020.

Vale ressaltar que as variáveis de qualidade da água permaneceram dentro das especificações da norma ABNT NBR 15088:2016 durante todos os experimentos.

## 6.2 ANÁLISE DE RISCO AMBIENTAL PARA ORGANISMOS AQUÁTICOS

Os resultados obtidos nesta simulação demonstraram um baixo risco para macrófitas e caramujos em todas as concentrações. No entanto, foi observado um risco ambiental acima de 0,5 (classificado como alto risco) para o camarão *M. acanthurus* em todas as concentrações simuladas.

As análises com os peixes (*X. maculatus* e *H. eques*) estão apresentadas nas Tabelas 5 e 6, simulando um reservatório com profundidades de 0,3 metros e 2 metros, respectivamente.

Tabela 5 – Calculo de Risco ambiental considerando um reservatório de 0,3m de profundidade.

Diluições da CAE	Espécies / CE, CI e CL50					
	<i>A. caroliniana</i> 679,84mg L <sup>-1</sup>	<i>L. minor</i> 877,26 mg L <sup>-1</sup>	<i>P. canaliculata</i> 47,62 mg L <sup>-1</sup>	<i>M. acanthurus</i> 0,00027 mg L <sup>-1</sup>	<i>X. maculatus</i> 0,0065 mg L <sup>-1</sup>	<i>H. eques</i> 0,031 mg L <sup>-1</sup>
<b>100% CAE</b>	<b>Baixo</b>	<b>Baixo</b>	<b>Baixo</b>	<b>Alto</b>	<b>Alto</b>	<b>Alto</b>
0,179	0,000264	0,000204	0,00376	663,580	27,564	5,780
<b>50% CAE</b>	<b>Baixo</b>	<b>Baixo</b>	<b>Baixo</b>	<b>Alto</b>	<b>Alto</b>	<b>Alto</b>
0,090	0,000132	0,000102	0,00188	331,79	13,782	2,89
<b>25% CAE</b>	<b>Baixo</b>	<b>Baixo</b>	<b>Baixo</b>	<b>Alto</b>	<b>Alto</b>	<b>Alto</b>
0,0448	0,000066	0,000051	0,000094	165,895	26,891	1,445
<b>12,5% CAE</b>	<b>Baixo</b>	<b>Baixo</b>	<b>Baixo</b>	<b>Alto</b>	<b>Alto</b>	<b>Alto</b>
0,0224	0,000033	0,0000255	0,00047	82,948	3,446	0,723
<b>6,25% CAE</b>	<b>Baixo</b>	<b>Baixo</b>	<b>Baixo</b>	<b>Alto</b>	<b>Alto</b>	<b>Médio</b>
0,0112	0,000017	0,0000158	0,00024	41,474	1,723	0,361
<b>3,12% CAE</b>	<b>Baixo</b>	<b>Baixo</b>	<b>Baixo</b>	<b>Alto</b>	<b>Alto</b>	<b>Médio</b>
0,00560	0,00000825	0,00000638	0,000118	20,737	0,861	0,181

Fonte: Elaboração do próprio autor.

Os resultados da simulação em peixes mostram um maior risco ambiental para os alevinos de *X. maculatus*. O risco ambiental obtido para a concentração letal (CAE100%) foi 476% maior do que o valor observado para *H. eques*. Além disso, foi 13,2 vezes maior do que o limite considerado como de alto risco, de acordo com Goktepe, Portier e Ahmedna (2004).

Tabela 6 – Calculo de Risco ambiental considerando um reservatório de 2m de profundidade.

Diluições da CAE	Espécies / CE, CI e CL50					
	<i>A. caroliniana</i> 679,84mg L <sup>-1</sup>	<i>L. minor</i> 877,26 mg L <sup>-1</sup>	<i>P. canaliculata</i> 47,62 mg L <sup>-1</sup>	<i>M. acanthurus</i> 0,00027 mg L <sup>-1</sup>	<i>X. maculatus</i> 0,0065 mg L <sup>-1</sup>	<i>H. eques</i> 0,031 mg L <sup>-1</sup>
<b>100% CAE</b>	<b>Baixo</b>	<b>Baixo</b>	<b>Baixo</b>	<b>Alto</b>	<b>Alto</b>	<b>Alto</b>
0,0279	0,0000410	0,0000306	0,00586	103,33	4,292	0,9
<b>50% CAE</b>	<b>Baixo</b>	<b>Baixo</b>	<b>Baixo</b>	<b>Alto</b>	<b>Alto</b>	<b>Médio</b>
0,0134	0,0000205	0,0000153	0,00293	51,67	2,146	0,45
<b>25% CAE</b>	<b>Baixo</b>	<b>Baixo</b>	<b>Baixo</b>	<b>Alto</b>	<b>Alto</b>	<b>Médio</b>
0,00672	0,0000103	0,00000765	0,00146	25,83	1,073	0,225
<b>12,5% CAE</b>	<b>Baixo</b>	<b>Baixo</b>	<b>Baixo</b>	<b>Alto</b>	<b>Alto</b>	<b>Médio</b>
0,00336	0,00000513	0,00000383	0,00073	12,917	0,537	0,113
<b>6,25% CAE</b>	<b>Baixo</b>	<b>Baixo</b>	<b>Baixo</b>	<b>Alto</b>	<b>Médio</b>	<b>Médio</b>
0,00168	0,00000256	0,00000191	0,00037	6,458	0,268	0,056
<b>3,12% CAE</b>	<b>Baixo</b>	<b>Baixo</b>	<b>Baixo</b>	<b>Alto</b>	<b>Médio</b>	<b>Baixo</b>
0,000840	0,00000128	0,00000096	0,00018	3,229	0,134	0,028

Fonte: Elaboração do próprio autor.

Na simulação com os peixes *X. maculatus* e *H. eques*, considerando um reservatório de 2 metros de profundidade, observou-se um menor risco ambiental em comparação com o reservatório anterior. A maioria dos valores obtidos classifica-se como de médio e baixo risco ambiental. Resultados semelhantes foram observados por Marques et al. (2021) após simular a aplicação de clorpirifós em reservatórios com as mesmas medidas e comparar com os resultados ecotoxicológicos de *X. maculatus* e *H. eques* obtidos em seu ensaio.

O camarão *M. acanthurus* é o bioindicador mais suscetível aos efeitos ambientais do inseticida bifentrina, seguido pelos peixes *X. maculatus* e *H. eques*. Esses organismos desempenham um papel crucial na ecotoxicologia e no monitoramento de inseticidas devido à sua alta sensibilidade (Marques et al., 2021).

A presença dessas substâncias no ambiente é uma grande preocupação devido ao risco de poluição ambiental, especialmente em ecossistemas mais vulneráveis (Castillo et al., 1997). Além disso, alguns desses organismos têm importância econômica, e a contaminação pode resultar em prejuízos significativos na região.

Além do risco ambiental, a contaminação por piretróides pode ser particularmente perigosa quando afeta a aquicultura, uma vez que essa atividade está diretamente relacionada ao consumo humano. Isso cria um risco para a saúde pública

(Wongmaneepratip; Leong; Yang, 2022). Em casos de contaminação humana, podem ocorrer sintomas agudos de envenenamento, como náuseas, vômitos, depressão respiratória, alterações mentais e lesões renais agudas (Deng *et al.*, 2020).

### 6.3 ECOTOXICIDADE CRÔNICA DE *H. eques* sinais de intoxicação

O ensaio de ecotoxicidade crônica permitiu observar vários sinais de intoxicação nos indivíduos, como dificuldade de movimentação, agitação e espasmos musculares em todas as concentrações testadas. Os organismos nos aquários controle não apresentaram sinais de intoxicação. Além disso, ao longo do experimento, ocorreu a morte de 3 indivíduos. Os resultados observados durante o ensaio estão apresentados no Quadro 3 e na Figura 12. As variáveis de qualidade da água não sofreram alterações durante o ensaio.

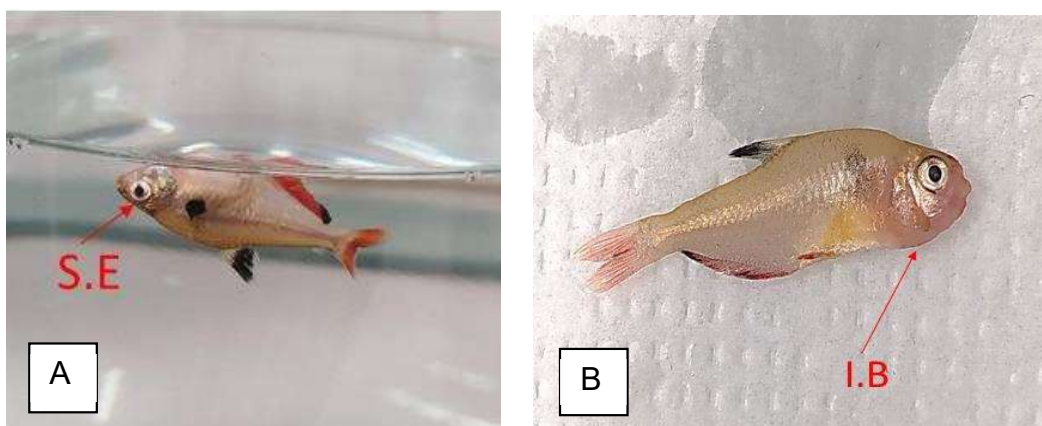
Quadro 3 – Sinais de intoxicação de *H. eques* durante a exposição a bifentrina em concentrações subletais

<b>Dia de exposição</b>	<b>Arfagem</b>	<b>Natação errática</b>	<b>Morte</b>	<b>Outros efeitos</b>
<b>1°</b>	Sem efeito	Sem efeito	Sem efeito	Sem efeito
<b>3°</b>	66,7% dos indivíduos expostos a concentração de 0,006 mg L <sup>-1</sup> .	66,7% dos indivíduos expostos a concentração de 0,006 mg L <sup>-1</sup> .	13,3% dos indivíduos expostos a concentração de 0,006 mg L <sup>-1</sup>	26,6% dos indivíduos expostos 0,006 mg L <sup>-1</sup> apresentaram corrosão na nadadeira dorsal e hemorragia nos olhos.
<b>5°</b>	66,7% dos indivíduos expostos a concentração de 0,0056 mg L <sup>-1</sup> .	66,7% dos indivíduos expostos a concentração de 0,0056 mg L <sup>-1</sup> .	Sem efeito	20% dos indivíduos expostos 0,006 mg L <sup>-1</sup> apresentaram espasmos agitação.  Perda de apetite e permanência no fundo do aquário (0,0003 a 0,006 mg L <sup>-1</sup> ).
<b>7°</b>	Sem efeito	Sem efeito	6,66% dos indivíduos expostos a concentração de 0,006 mg L <sup>-1</sup> (apresentava sinais de hemorragia e inchaço nas brânquias)	33,3 % dos indivíduos da concentração 0,0006 mg L <sup>-1</sup> , apresentaram agitação.  33,3 % dos indivíduos da concentração 0,0003 e 0,006 mg L <sup>-1</sup> , apresentaram perda de apetite e permanência no fundo do aquário.
<b>9°</b>	Sem efeito	Sem efeito	Sem efeito	33,3 % dos indivíduos da concentração 0,0003 mg L <sup>-1</sup> ,

				33,3 % em 0,0006 mg L <sup>-1</sup> e 66,7 % em 0,006 mg L <sup>-1</sup> apresentaram agitação
11°	Sem efeito	Sem efeito	Sem efeito	13,3% dos indivíduos da concentração 0,0003 mg L <sup>-1</sup> e 20% de 0,003 mg L <sup>-1</sup> , apresentaram espasmos e 26,7 % na concentração de 0,006 mg L <sup>-1</sup> apresentaram agitação.
13°	6,66% dos indivíduos expostos a concentração de 0,0006 mg L <sup>-1</sup> , 6,66% em 0,003 mg L <sup>-1</sup> e 13,3% em 0,006 mg L <sup>-1</sup>	Sem efeito	Sem efeito	20% dos indivíduos expostos a concentração de 0,006 mg L <sup>-1</sup> , 60% em 0,0006 mg, apresentaram agitação. 20% em 0,0006 mg e 13,3% em 0,0028 mg apresentaram espasmos.
15°	Em 60% dos indivíduos expostos na concentração de 0,0006 mg L <sup>-1</sup> , e todos 73,3% em 0,006 mg L <sup>-1</sup>	Sem efeito	Sem efeito	Todos os indivíduos na concentração de 0,0006 mg apresentaram agitação. 13,3% em 0,0003, 0,003, 0,006 mg L <sup>-1</sup> apresentaram espasmos.

Fonte: Elaboração do próprio autor.

Figura 12 – Sinais de intoxicação observados em peixes da espécie *H. eques* após 15 dias de exposição ao inseticida. A Natação errática, sinais de hemorragia (S.E). B - Inchaço nas brânquias (I.B)



Fonte: Elaborado pelo autor.

O inseticida bifentrina atua como um desregulador endócrino com atividade antiestrogênica, levando a deficiências neurocomportamentais. Isso ocorre devido às alterações na regulação dos neurotransmissores, estresse oxidativo e inflamação

(Ullah *et al.*, 2019; Farag *et al.*, 2021). A exposição dos peixes a esse inseticida pode ocorrer por sorção branquial ou por meio da cadeia alimentar (Alonso *et al.*, 2012), e a exposição a longo prazo pode causar efeitos tóxicos nos sistemas nervoso, imunológico, cardiovascular e genético (Ma, 2009). Além disso, podem ser observadas alterações histológicas nas brânquias, fígado e músculos dos peixes (Yang *et al.*, 2020).

#### 6.4 ANÁLISE HISTOPATOLÓGICA DE *H. eques*

Após a exposição crônica ao inseticida bifentrina, alguns órgãos não estavam em condições de serem coletados e analisados para a confecção das lâminas. No entanto, entre as lâminas obtidas, foi possível observar e analisar os sinais de intoxicação resultantes da exposição.

##### 6.4.1 Ensaio agudo de brânquias de *H. eques*

A estrutura branquial de *H. eques* é composta por tecido cartilaginoso, vasos sanguíneos e revestida por células mucosas, células de sustentação, células de cloreto e células caliciformes. Ao longo das lamelas primárias, as lamelas secundárias são emitidas em intervalos regulares. As lamelas secundárias têm uma composição celular semelhante à das primárias. No grupo controle, a estrutura lamelar apresenta positividade para o PAS (Periodic Acid-Schiff), indicando a presença de secreção de muco com substâncias neutras produzidas pelas células caliciformes

Após a exposição ao inseticida bifentrina por 48 horas, as brânquias de *H. eques* foram coradas com Hematoxilina-Eosina e PAS (ácido periódico de Schiff). Nas concentrações de 0,0011 e 0,0054 mg L<sup>-1</sup>, não foram observadas alterações significativas nos resultados histopatológicos. No entanto, nas concentrações de 0,011 e 0,054 mg L<sup>-1</sup>, foram identificados sinais de intoxicação. Para obter mais detalhes, os resultados estão apresentados na tabela 7 e na figura 13.

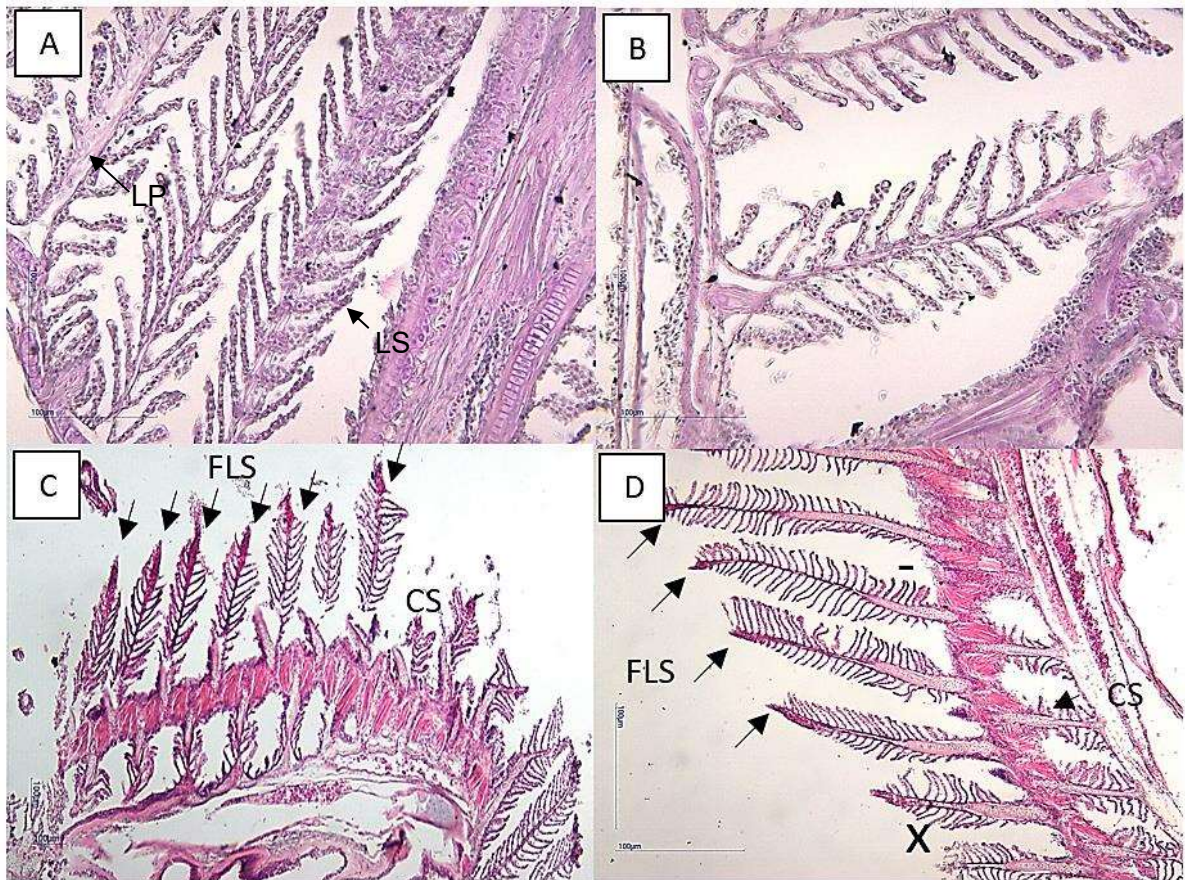
Tabela 7 – Sinais de intoxicação histopatológicos de brânquias de *H. eques*, após exposição aguda.

Alterações	Concentração (mg L <sup>-1</sup> )				
	Controle	0,0011	0,0054	0,011	0,054
Congestão sanguínea	-	-	-	-	X
Aumento de secreção celular caliciforme	-	-	-	-	X
Desarranjo da estrutura lamelar	-	-	-	X	X
Fusão das lamelas secundárias	-	-	-	X	X

Fonte: Elaboração do próprio autor.

Legenda: **(Controle)** Peixes não expostos ao inseticida. **(X)** Presença da alteração. **(-)** Ausência de alteração.

Figura 13: Fotomicrografias de brânquias de *H. eques* após exposição aguda.



Fonte: Elaboração do próprio autor.

Legenda: **A** Controle, com coloração PAS, sem sinais de intoxicação (25  $\mu\text{m}$  = 200x), (LS) lamelas secundárias, (LP) Lamelas primárias. **B** Concentração de 0,0054  $\text{mg L}^{-1}$ , com coloração PAS, sem sinais de intoxicação (25  $\mu\text{m}$  = 200x). **C** Concentração de 0,011  $\text{mg L}^{-1}$ , com coloração HE (50  $\mu\text{m}$  = 100x) **D** Concentração de 0,054  $\text{mg L}^{-1}$ , com coloração HE (50  $\mu\text{m}$  = 100x), apresentam (FLS) Fusão das lamelas secundárias. (-) Aumento de secreção celular calciforme, (x) Desarranjo da estrutura laminar, (CS) Congestão sanguínea.

Quanto ao ensaio de ecotoxicidade crônica, foram observados sinais de intoxicação em todas as concentrações, conforme apresentado na tabela 8 e na figura 14.

#### 6.4.2 Ensaio crônico de brânquias de *H. eques*

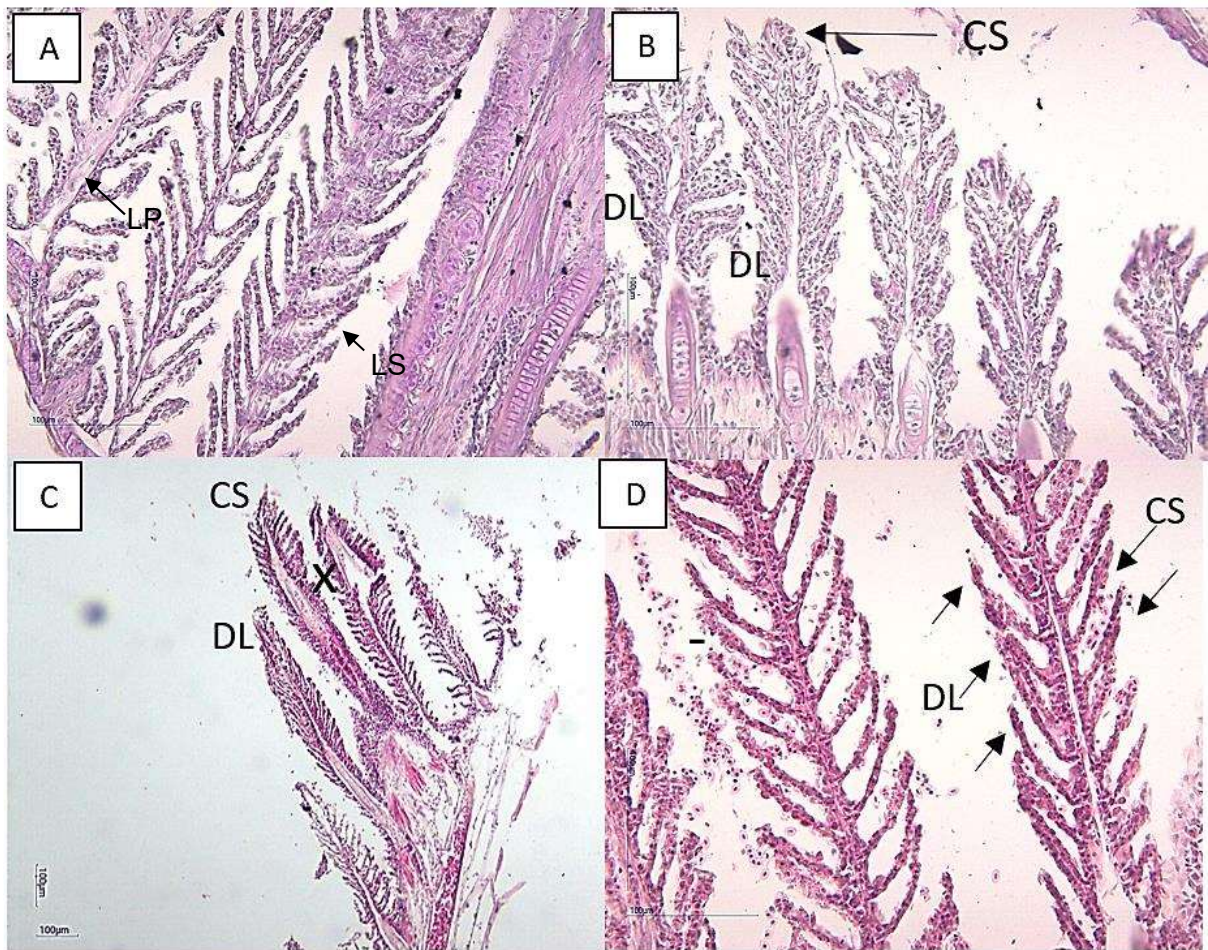
Tabela 8: Sinais de intoxicação histopatológicos de brânquias de *H. eques*, após 15 dias de exposição à bifentrina.

Alterações	Concentração (mg L <sup>-1</sup> )				
	Controle	0,0003	0,0006	0,003	0,006
Congestão sanguínea	-	X	X	X	-
Desarranjo da estrutura lamelar	-	-	X	-	-
Fusão das lamelas secundárias	-	-	-	-	-
Aumento das células laminares	-	-	-	X	-
Hemorragia	-	-	-	-	X

Fonte: Elaboração do próprio autor.

Legenda: **(Controle)** Peixes não expostos ao inseticida. **(X)** Presença da alteração. **(-)** Ausência de alteração.

Figura 14: Fotomicrografias de brânquias de *H. eques* após exposição crônica.



Fonte: Elaboração do próprio autor.

Legenda: **A** Controle, com coloração PAS, sem sinais de intoxicação, (LS) lamelas secundárias, (LP) Lamelas primárias (25  $\mu\text{m}$  = 200x). **B** Concentração de 0,0003  $\text{mg L}^{-1}$ , com coloração PAS, apresenta (DL) Desarranjo da estrutura laminar (25  $\mu\text{m}$  = 200x). **C** Concentração de 0,0006  $\text{mg L}^{-1}$ , com coloração HE, apresenta (CS) Congestão sanguínea (50  $\mu\text{m}$  = 100x) e (x) Aumento das células laminares. **D** Concentração de 0,003  $\text{mg L}^{-1}$ , com coloração HE, apresenta (-) Hemorragia (25  $\mu\text{m}$  = 200x).

Como evidenciado, no ensaio agudo de 48h de exposição ao bifentrina, os organismos expostos apresentaram alterações na estrutura lamelar, incluindo congestão sanguínea, aumento na secreção de células caliciformes, desarranjo da estrutura lamelar e fusão das lamelas secundárias, nas concentrações mais elevadas deste ensaio (0,011 e 0,052  $\text{mg L}^{-1}$ ). No entanto, no ensaio crônico de 15 dias, observaram-se modificações que incluíram congestão sanguínea, desarranjo da estrutura lamelar, fusão das lamelas secundárias, aumento das células lamelares e hemorragia, em todas as concentrações testadas.

No estudo realizado por Cengiz (2006) com carpa comum, (*Cyprinus carpio*) exposta ao piretóide deltametrina (50% da CL50;96h), observou alterações como edema, hiperplasia epitelial e fusão de lamelas secundárias em todas as concentrações do ensaio. Em outro estudo, as brânquias de *H. eques* revelaram alterações consideráveis no tecido branquial após exposição ao bifentrina, como necrose, fusão de lamelas secundárias e hiperplasia. Esses efeitos sugerem que a bifentrina afeta a estrutura e funcionamento das brânquias em *H. eques* (Gonçalves, Rojas e Gonçalves-de-Freitas (2017).

As mudanças observadas, como fusão lamelar, elevação do epitélio, hiperplasia e necrose em *H. eques*, indicam danos significativos no tecido branquial (Ferreira, Segatto e Silva De Assis 2018). Além disso, a atividade enzimática alterada e o estresse oxidativo sugerem um comprometimento da função respiratória e um desequilíbrio nas defesas antioxidantes desses peixes devido à exposição à bifentrina (Souza, Martins e Fernandes 2020). Esses resultados ressaltam a importância de considerar os efeitos adversos da bifentrina nas brânquias de *H. eques* e sua possível influência na saúde e no bem-estar desses organismos aquáticos (Araújo, Fernandes 2022).

Esses resultados enfatizam a importância da proteção das brânquias contra a exposição à bifentrina e a necessidade de medidas adequadas de controle e regulamentação do uso desse pesticida, a fim de evitar efeitos adversos na saúde dos peixes e na função respiratória em ambientes aquáticos. Além disso, destaca-se a necessidade de realizar estudos adicionais sobre os efeitos da bifentrina em outras espécies de peixes e em diferentes contextos ambientais, a fim de aprimorar a compreensão dos efeitos e desenvolver técnicas de manejo mais eficazes (Silva, Oliveira e Martinez 2021).

#### **6.4.2 Ensaio agudo e crônico do fígado de *H. eques*.**

O fígado de *H. eques* apresenta estrutura de organização cordonal, com os hepatócitos arranjados em cordão a partir das vias centrais que podem ou não conter áreas exócrinas ao seu redor.

Os hepatócitos são organizados à margem dos capilares sinusóides, possuem núcleos centrais levemente destacados para a periferia celular e citoplasma altamente basófilo.

Na reação de PAS, foi detectado alta intensidade de reação de grânulos de constituição neutra no interior dos linfócitos.

Durante o ensaio os organismos-controle mantiveram-se saudáveis, com citoplasma claro, núcleo e nucléolo evidente, grânulos de glicogênio no citoplasma dos hepatócitos. Presença de arranjo cordonal dos capilares organizados, com formato levemente arredondado.

Porém os resultados histológicos de fígado de *H. eques*, observados nas demais concentrações apresentaram sinais de intoxicação (Tabela 9) e na figura 17.

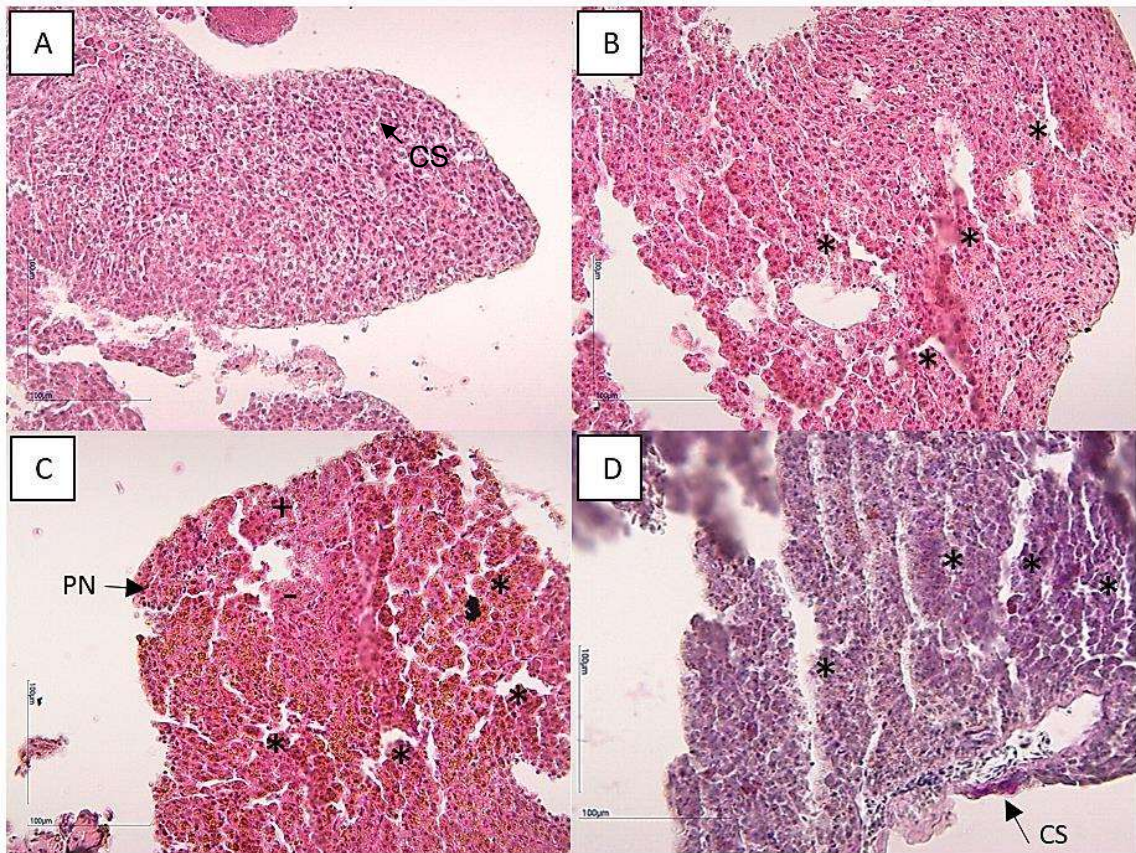
Tabela 9 – Resultados histopatológicos de fígado em *H. eques*, após 48h de exposição à bifentrina.

Alterações	Concentração (mg L <sup>-1</sup> )				
	Controle	0,0011	0,0054	0,011	0,054
Congestão sanguínea	-	-	-	-	X
Aumento dos capilares sinusóides	-	X	X	X	X
Desarranjo cordonal dos capilares sinusóides	-	-	X	X	X
Hipertrofia	-	-	X	-	-
Picnose no núcleo	-	-	X	X	-
Aumento do citoplasma	-	-	-	X	-

Fonte: Elaboração do próprio autor.

Legenda: **(Controle)** Peixes não expostos ao inseticida. **(X)** Presença da alteração. **(-)** Ausência de alteração.

Figura 15 – Fotomicrografias de fígado de *H. eques* após exposição aguda.



Fonte: Elaboração do próprio autor.

Legenda: **A** Controle, com coloração HE, sem sinais de intoxicação, (CS) Capilares sinusóides (25  $\mu\text{m}$  = 200x). **B** Concentração de 0,0011  $\text{mg L}^{-1}$ , com coloração HE, apresenta (\*) Aumento dos capilares sinusoidal (25  $\mu\text{m}$  = 200x). **C** Concentração de 0,0054  $\text{mg L}^{-1}$ , com coloração HE, apresentam (PN) Picnose no núcleo, (+) Hipertrofia, (-) Desarranjo cordonal dos capilares sinusoidais (25  $\mu\text{m}$  = 200x). **D** Concentração de 0,054  $\text{mg L}^{-1}$ , com coloração PAS, apresentam (CS) Congestão sanguínea (25  $\mu\text{m}$  = 200x).

Além disso, nos organismos expostos a concentração de 0,005  $\text{mg L}^{-1}$ , foi observado hipertrofia nas células distantes das veias, enquanto as células próximas às veias mantiveram-se saudáveis.

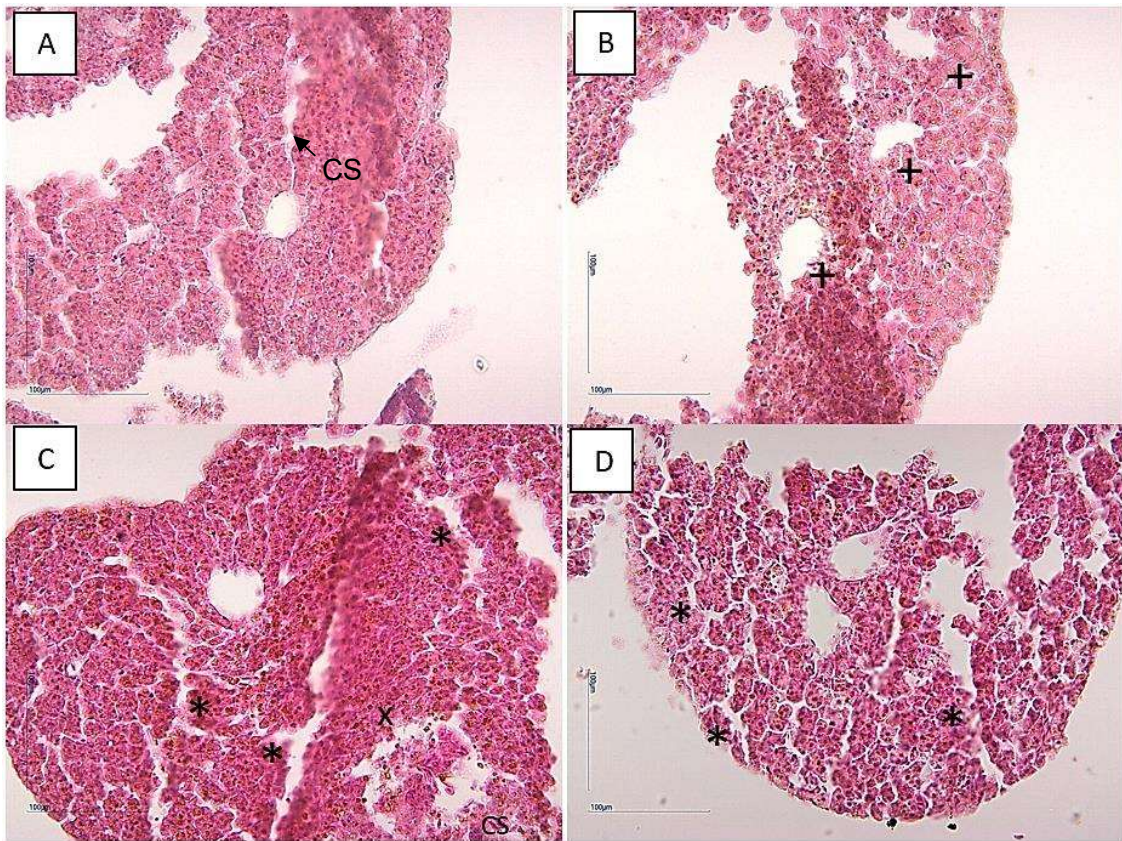
Tabela 10 – Resultados histopatológicos de fígado de *H. eques*, após 15 dias de exposição à bifentrina.

Alterações	Concentração (mg L <sup>-1</sup> )				
	Controle	0,0003	0,0006	0,003	0,006
Congestão sanguínea	-	-	-	-	X
Aumento dos capilares sinusóides	-	X	X	-	X
Desarranjo cordonal dos capilares sinusóides	-	-	-	X	X
Arranjo cordonal desorganizado com atrofia	-	-	-	-	X

Fonte: Elaboração do próprio autor.

Legenda: **(Controle)** Peixes não expostos ao inseticida. **(X)** Presença da alteração. **(-)** Ausência de alteração.

Figura 16 – Fotomicrografias de fígado de *H. eques* após exposição crônica.



Fonte: Elaboração do próprio autor.

Legenda: **A** Controle, com coloração HE, sem sinais de intoxicação (CS) Capilares sinusóides, (25  $\mu\text{m}$  = 200x). **B** Concentração de 0,0003  $\text{mg L}^{-1}$ , com coloração HE, apresenta (+) Aumento dos capilares sinusóides (25  $\mu\text{m}$  = 200x). **C** Concentração de 0,003  $\text{mg L}^{-1}$ , com coloração HE, apresentam (CS) Congestão sanguínea, (50  $\mu\text{m}$  = 100x), (X) Arranjo cordonal desorganizado com atrofia (25  $\mu\text{m}$  = 200x). **D** Concentração de 0,006  $\text{mg L}^{-1}$ , com coloração HE, apresentam (\*) Desarranjo cordonal dos capilares sinusóides (25  $\mu\text{m}$  = 200x)

Os resultados histopatológicos obtidos no ensaio agudo 48h e crônico 15d, mostraram alterações em todas as concentrações de ambos os ensaios. As alterações hepáticas são após a exposição ao bifentrina, são mais evidentes em *H. eques*, com relação aos outros órgãos avaliados neste estudo.

O fígado é o principal órgão responsável pela desintoxicação do organismo, portanto é notável as alterações morfológicas após exposições a inseticidas (Dutta *et al.* 1993). Essas perturbações evidenciam que o fígado tenta realizar a desintoxicação da cipermetrina, resultando em danos celulares. No entanto, esses danos podem ser recuperados se a exposição à cipermetrina foi de baixa magnitude e por um curto período (Majumder e Kaviraj, 2022).

Em estudo realizado com inseticida piretróide deltametrina, com o peixe tambaqui (*Colossoma macropomum*), foi observado efeitos histopatológicos após 6h de exposição em concentração de 0,193 mg L<sup>-1</sup>, além disso, em maior período de exposição (96h) geraram danos irreversíveis aos órgãos, como necrose (Cunha *et al.* 2018).

Em estudo realizado por Araújo, Pinto e Fernandes (2018) e Ferreira, Segatto e Silva de Assis (2019) com *H. eques*, constataram alterações como vacuolação de hepatócitos, degeneração citoplasmática, congestão sinusoidal e infiltração de células inflamatórias, evidenciando lesões hepáticas causadas pela bifentrina. Além disso, o estudo de Gonçalves, Rojas e Gonçalves-de-Freitas (2019) observou congestão sinusoidal, infiltração de células inflamatórias e necrose de hepatócitos no fígado dos peixes expostos.

#### **6.4.3 Ensaio agudo e crônico do rim de *H. eques*.**

O tecido renal de *H. eques* é formado por túbulos contorcidos (distais e proximais) e por glomérulos filtrantes, localizados na cápsula glomerular. O interstício renal é composto por tecido conjuntivo e em algumas regiões ocorre a presença de tecido hematopoiético. A luz dos túbulos proximais e distais são PAS positivo.

As estruturas renais dos organismos-controle mantiveram-se saudáveis durante todo o ensaio. Não houve sinais de intoxicação na concentração de 0,0011 mg L<sup>-1</sup>. Nas demais concentrações foram observados desprendimento da cápsula, aumento dos glomérulos filtrantes e aumento da hipertrofia (Tabela 11) e figura 22.

Além disso, na concentração de 0,011 mg L<sup>-1</sup> foi observado a presença da porção espessa da alça de Henle e capilares renais com hemácias dentro.

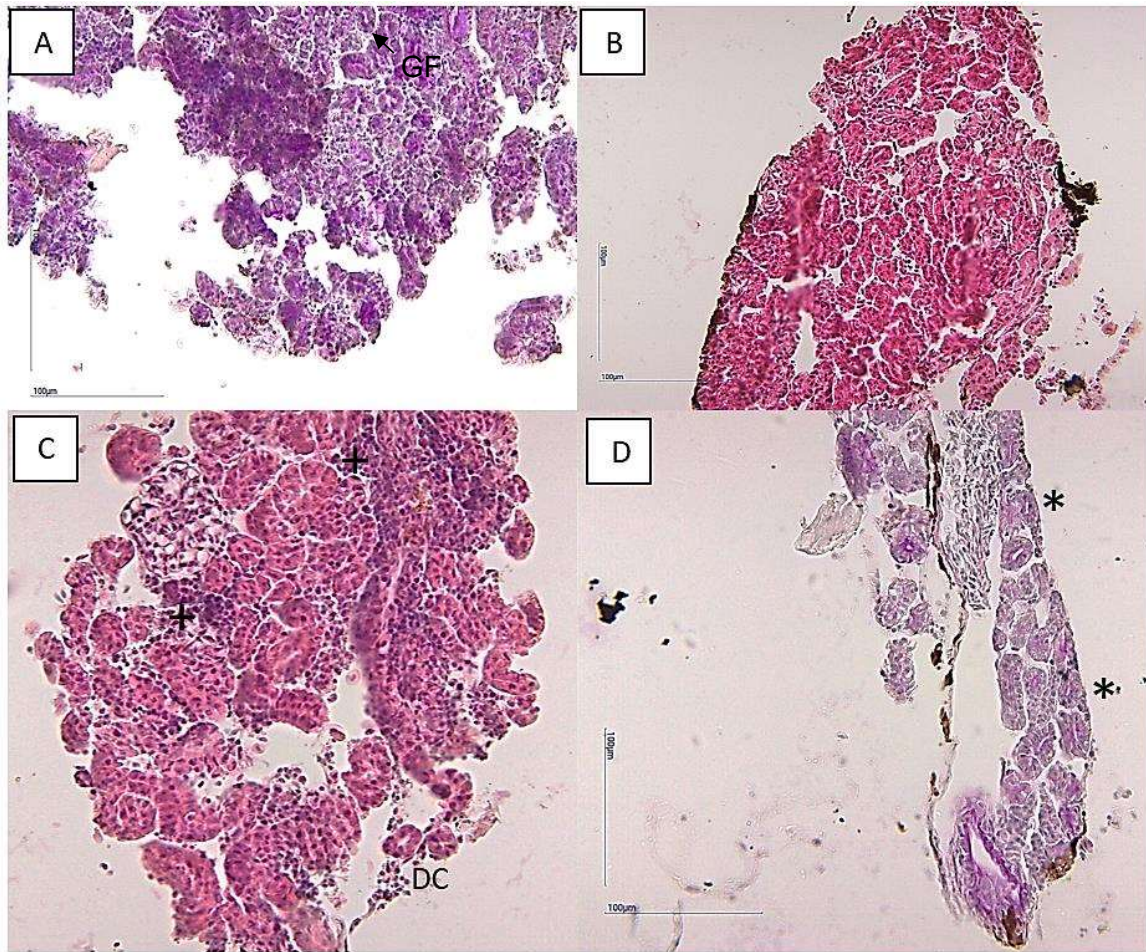
Tabela 11 – Resultados histopatológicos de rim de *H. eques*, após 48h de exposição à bifentrina.

Alterações	Concentração (mg L <sup>-1</sup> )				
	Controle	0,0011	0,0054	0,011	0,054
Aumento dos glomérulos filtrantes	-	-	X	-	-
Desprendimento da cápsula	-	-	-	X	X
Hipertrofia	-	-	-	X	X

Fonte: Elaboração do próprio autor.

Legenda: **(Controle)** Peixes não expostos ao inseticida. **(X)** Presença da alteração. **(-)** Ausência de alteração.

Figura 17 – Fotomicrografias de rim de *H. eques* após exposição aguda.



Fonte: Elaboração do próprio autor.

Legenda: **A** Controle, com coloração PAS, sem sinais de intoxicação, (GF) Glomérulos filtrantes (25  $\mu\text{m}$  = 200x). **B** Concentração de 0,0011  $\text{mg L}^{-1}$ , com coloração HE, sem sinais de intoxicação (12,5  $\mu\text{m}$  = 400x). **C** Concentração de 0,011  $\text{mg L}^{-1}$ , com coloração HE, apresentam (DC) Desprendimento da cápsula. (+) Hipertrofia. **D** Concentração de 0,054  $\text{mg L}^{-1}$ , com coloração PAS, apresentam (\*) Aumento dos glomérulos filtrantes.

No ensaio crônico, foram observados sinais de intoxicação hepática em todas as concentrações. Dentre as observadas estão: Aumento dos glomérulos filtrantes, Desprendimento da cápsula glomerulares e hipertrofia, conforme apresentado na tabela 12 e na figura 21.

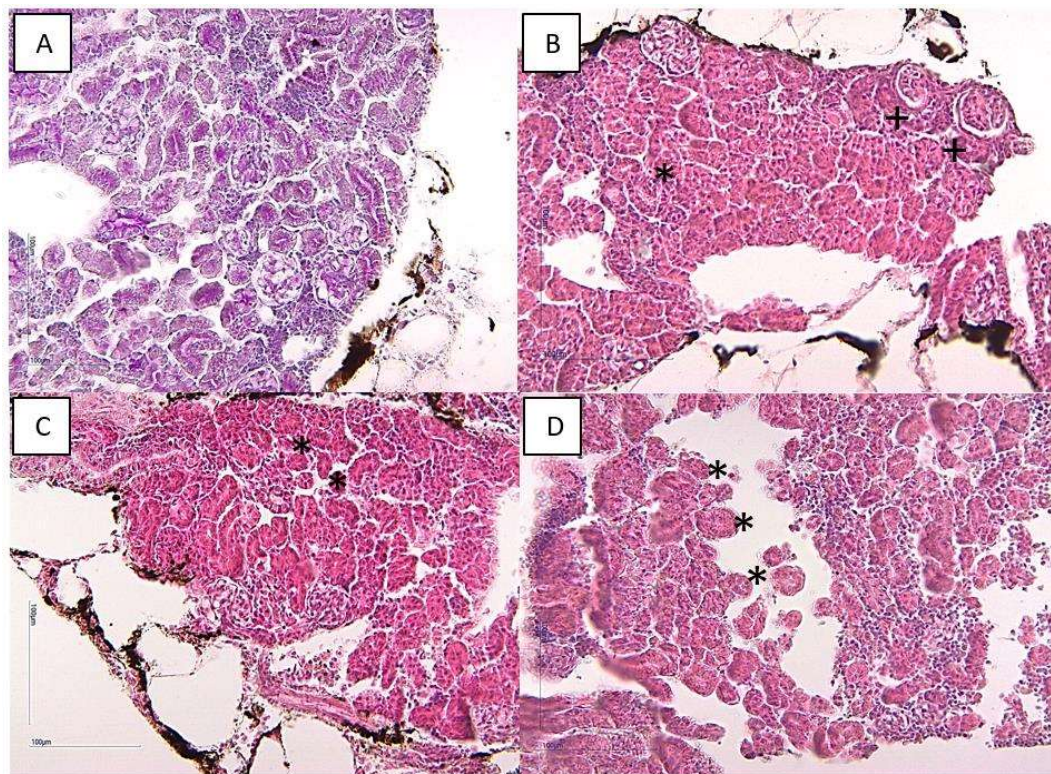
Tabela 12 – Sinais de intoxicação histopatológicos de rim de *H. eques*, após 15 dias de exposição à bifentrina.

Alterações	Concentração (mg L <sup>-1</sup> )				
	Controle	0,0003	0,0006	0,003	0,006
Desprendimento da cápsula glomerulares	-	X	X	X	X
Hipertrofia	-	X	-	-	-

Fonte: Elaboração do próprio autor.

Legenda: **(Controle)** Peixes não expostos ao inseticida. **(X)** Presença da alteração. **(-)** Ausência de alteração.

Figura 18 – Fotomicrografias de rim de *H. eques* após exposição crônica.



Fonte: Elaboração do próprio autor.

Legenda: **A** Controle, com coloração PAS, sem sinais de intoxicação (25 µm = 200x). **B** Concentração de 0,0003 mg L<sup>-1</sup>, com coloração HE, apresentam (+) Hipertrofia (25 µm = 200x). **C** Concentração de 0,0006 mg L<sup>-1</sup>, com coloração HE, apresentam, (\*) Desprendimento da cápsula glomerulares.

**D** Concentração de 0,003 mg L<sup>-1</sup>, com coloração HE (25 µm = 200x).

Os resultados obtidos no ensaio agudo de 48 horas mostraram alterações na estrutura renal, incluindo aumento dos glomérulos filtrantes, desprendimento da cápsula e hipertrofia, a partir da concentração de 0,0054 mg L<sup>-1</sup>. No entanto, no ensaio crônico de 15 dias, observaram-se alterações, como desprendimento da cápsula glomerular, em todas as concentrações testadas.

Em estudo realizado por Gonçalves, Rojas e Gonçalves-de-Freitas (2018), foram examinadas as alterações morfológicas nos rins de *H. eques* expostos a níveis subletais de bifentrina. Os resultados revelaram danos graves no tecido renal, incluindo a alteração da estrutura dos glomérulos e a degeneração das células tubulares.

O rim recebe a maior proporção de sangue após a passagem pelas brânquias, tornando as lesões renais um indicador valioso de poluição ambiental (Ortiz *et al.* 2003). Estes pesticidas podem apresentar danos significativos nos tecidos renais, como o desenvolvimento de cistos, inflamação e necrose tubular. Essas alterações destacam o efeito prejudicial da bifentrina nos rins dos peixes e sugerem potenciais danos renais decorrentes da exposição a pesticidas (Silva, Oliveira e Martinez; 2019).

No estudo conduzido por Araújo, Pinto e Fernandes (2021), foram analisadas as alterações histológicas provocadas pela exposição subcrônica à bifentrina no tecido renal de *H. eques*. Os resultados revelaram danos significativos, como degeneração tubular, aumento das lacunas intercelulares e infiltração inflamatória, demonstram um impacto negativo duradouro da bifentrina nos rins desses peixes e ressaltam a importância de considerar a exposição crônica a pesticidas.

## 7 CONCLUSÃO

Em conclusão, este estudo revelou importantes descobertas sobre os efeitos de bifentrina em organismos aquáticos, destacando sua alta toxicidade para *X. maculatus* e *H. eques*, com destaque para a sensibilidade de *M. acanthurus* ao produto.

Além disso, observou-se que mesmo concentrações mínimas de bifentrina podem causar danos e alterações significativas em peixes e macrófitas aquáticas, afetando sua saúde e capacidade de sobrevivência a longo prazo. A análise de risco ambiental apontou preocupações a estes organismos, considerando a simulação de aplicação direta desse pesticida em corpos d'água.

Com relação as análises histopatológicas, todas indicaram que a exposição a concentrações subletais de bifentrina causam efeitos destrutivos nos tecidos branquiais, hepáticos e renais de *H. eques*.

Portanto, este estudo ressalta a necessidade premente de regulamentações mais rigorosas e medidas de controle eficazes para o uso da bifentrina como pesticida, visando proteger a vida aquática e a saúde dos ecossistemas aquáticos.

## REFERÊNCIAS

AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA - ANVISA. **Monografia de Agrotóxicos Permitidos no Brasil**. 2016. Disponível em:

<https://www.gov.br/anvisa/pt-br/setorregulado/regularizacao/agrotoxicos/monografias/monografias-autorizadas/b/4191json-file-1/view> . Acesso: 07 de ago. 2023

AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA - ANVISA. **Resolução nº 336**, de 22 de julho de 1999. Disponível em:

[https://bvsms.saude.gov.br/bvs/saudelegis/anvisa/1999/res0336\\_22\\_07\\_1999.html](https://bvsms.saude.gov.br/bvs/saudelegis/anvisa/1999/res0336_22_07_1999.html). Acesso: 28 de ago. 2023.

AGUINAGA, J. Y.; CLAUDIANO, G. S.; MARCUSSO, P. F.; IKEFUTI, C.; ORTEGA, G. G.; ETO, S. F.; CRUZ, C.; MORAES, J. R. E.; MORAES, F. R.; FERNANDES, J. B. K.. Acute Toxicity and Determination of the Active Constituents of Aqueous Extract of *Uncaria tomentosa* Bark in *Hyphessobrycon eques*. **Journal Of Toxicology**, [S.l.], v. 2014, p. 1-5, 2014. Hindawi Limited. <http://dx.doi.org/10.1155/2014/412437>

ALI, M. A.; KIM, P.J.; INUBUSHI, K.. Mitigating yield-scaled greenhouse gas emissions through combined application of soil amendments: a comparative study between temperate and subtropical rice paddy soils. **Science Of The Total Environment**, [S.l.], v. 529, p. 140-148, out. 2015. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.scitotenv.2015.04.090>.

ALONSO, M. B.; FEO, M. L.; CORCELLAS, C.; VIDAL, L. G.; BERTOZZI, C. P.; MARIGO, J.; SECCHI, E. R.; BASSOI, M.; AZEVEDO, A. F.; DORNELES, P. R.. Pyrethroids: a new threat to marine mammals?, **Environment International**, [S.l.], v. 47, p. 99-106, out. 2012. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.envint.2012.06.010>

A MALDONADO, M.; MARTÍN, P. R. Dealing with a hyper-successful neighbor: effects of the invasive apple snail *Pomacea canaliculata* on exotic and native snails in south america. *Current Zoology*, [S.l.], v. 65, n. 3, p. 225-235, 14 jul. 2018. **Oxford University Press** (OUP). <http://dx.doi.org/10.1093/cz/zoy060>.

AMÉRICO, P.J.H.P. **Toxicidade de imidacloprid e carbofuran para organismos aquáticos de diferentes níveis tróficos**. 2015. 122 f. Tese (Doutor em aquicultura) – Centro de Aquicultura, Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal, 2015.

A PUTRA,; RITONGA, M Z. Effectiveness duckweed (*L. minor*) as an alternative native chicken feed native chicken (*Gallus domesticus*). **Iop Conference Series: Earth and Environmental Science**, [S.l.], v. 122, p. 012124, fev. 2018. IOP Publishing. <http://dx.doi.org/10.1088/1755-1315/122/1/012124>.

ARAÚJO, C. V. M.; PINTO, L. C.; FERNANDES, M. N. Bifenthrin-induced histopathological changes in the kidney tissue of *H. eques*: A subchronic exposure study. **Aquatic Toxicology Reports**, v. 21, p. 100809, 2021.

ARAÚJO, C. V. M.; PINTO, L. C.; FERNANDES, M. N. Histopatologia das brânquias de *H. eques* após exposição subcrônica à bifentrina: Implicações para a função

respiratória. **Ecotoxicologia e Contaminação Ambiental**, v. 34, n. 2, p. 297-305, 2022.

ARIAS, A. R. L.; VIANA, T. A. P.; INÁCIO, A. F.. Utilização de bioindicadores como ferramentas de monitoramento e avaliação ambiental: o caso de recursos hídricos. Centro de Estudos da Saúde do Trabalhador e Ecologia Humana-CESTEH e Fundação Oswaldo Cruz–FIOCRUZ. Rio de Janeiro, 2008.

ARIAS, A. R. L., Utilização de bioindicadores na avaliação de impacto e no monitoramento da contaminação de rios e córregos por agrotóxicos. **Ciência e Saúde Coletiva**, v. 12, p. 61-72, 2007.

ARRIGHETTI, F.; AMBROSIO, E.; ASTIZ, M.; CAPÍTULO, A. Rodrigues; LAVARÍAS, S.. Differential response between histological and biochemical biomarkers in the apple snail *Pomacea canaliculata* (Gasteropoda: amullariidae) exposed to cypermethrin. **Aquatic Toxicology**, [S.l.], v. 194, p. 140-151, jan. 2018. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.aquatox.2017.11.014>.

ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS - **ABNT NBR 15088**: ecotoxicologia aquática – toxicidade aguda – método de ensaio com peixes (Cyprinidae). Rio de Janeiro: ABNT, 2016.

ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS. **ABNT NBR 15499**: Ecotoxicologia aquática: Toxicidade crônica de curta duração: método de ensaio com peixes. Rio de Janeiro: ABNT 2016.

AMWEG E. L, WESTON D. P, UREDA N. M. Use and toxicity of pyrethroid pesticides in the Central Valley, California, USA. **Environ Toxicol Chem**, v. 24, n. 4, Apr, p. 966-72, 2005. doi: 10.1897/04-146r1.1.

BECHMANN, R. K.; LYNG, E.; WESTERLUND, S.; BAMBER, S.; BERRY, M.; ARNBERG, M.; KRINGSTAD, A.; CALOSI, P.; SEEAR, P. J.. Early life stages of Northern shrimp (*Pandalus borealis*) are sensitive to fish feed containing the anti-parasitic drug diflubenzuron. **Aquatic Toxicology**, [S.l.], v. 198, p. 82-91, maio, 2018. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.aquatox.2018.02.021>.

BEHMER, A. O.; TALOSA, C.M.E.; NETO, F.G.A.; **Manual De Técnicas Para Histologia Normal e Patológica**. EDART. Edit, 1976.

BOUDOUR-BOUCHEKER N, BOULO V, CHARMANTIER-DAURES M, ANGER K, CHARMANTIER G, Lorin-Nebel C. Osmoregulation in larvae and juveniles of two recently separated *Macrobrachium* species: Expression patterns of ion transporter genes. **Comp Biochem Physiol A Mol Integr Physiol**. v. 195, May, 2016, p. 39-45. DOI: 10.1016/j.cbpa.2016.02.005. Epub 2016 Feb 9. PMID: 26872994.

BOWNIK, A.; KOWALCZYK, M.; BAŃCZEROWSKI, Jan. Lambda-cyhalothrin affects swimming activity and physiological responses of *Daphnia magna*. **Chemosphere**, [S.l.], v. 216, p. 805-811, fev. 2019. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.chemosphere.2018.10.192>.

BRASIL. Relatório de comercialização de agrotóxicos, 2022. Disponível em <https://www.gov.br/ibama/pt-br/assuntos/quimicos-e-biologicos/agrotoxicos/relatorios-de-comercializacao-de-agrotoxicos/relatorios-de-comercializacao-de-agrotoxicos>. Acesso em: 17 de set. 2023.

BRASIL; Ministério da Agricultura e Meio Ambiente. **Lei nº7.802/1989**. Disponível em: <http://www.agricultura.gov.br/assuntos/insumos-agropecuarios/insumos-agricolas/agrotoxicos/legislacao/arquivos-de-legislacao/lei-7802-1989-lei-dos-agrotoxicos/view>. Acesso em 17 de dez. 2020.

BRASIL. **Resolução CONAMA nº 393 de 2007**. Disponível em: [https://www.cbhdoce.org.br/wp-content/uploads/2018/08/CONAMA\\_RES\\_CONS\\_2007\\_393.pdf](https://www.cbhdoce.org.br/wp-content/uploads/2018/08/CONAMA_RES_CONS_2007_393.pdf). Acesso em: 20 de jan. de 2021.

BRAUN, G.; BRAUN, M.; KRUSE, J.; AMELUNG, W.; RENAUD, F.G.; KHOI, C.M.; DUONG, M.V.; SEBESVARI, Z.. Pesticides and antibiotics in permanent rice, alternating rice-shrimp and permanent shrimp systems of the coastal Mekong Delta, Vietnam. **Environment International**, [S.l.], v. 127, p. 442-451, jun. 2019. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.envint.2019.03.038>

BRENNER, E.D.; STAHLBERG, R.; MANCUSO, S.; VIVANCO, J.; BALUSKA, F. and Van VOLKENBURG, E. Plant neurobiology: An integrated view of plant signaling. **Trends Plant Sci.** v.11, p. 413-419, 2006.

BROOKS A. C, FOUDOULAKIS M, SCHUSTER H. S, WHEELER J. R. Historical control data for the interpretation of ecotoxicity data: are we missing a trick? **Ecotoxicology**. v. 28, n. 10, Dec, p.1198-1209, 2019. DOI: 10.1007/s10646-019-02128-9. Epub 2019 Nov 6. PMID: 31696445; PMCID: PMC6872505.

CAMPOS J., E. O. de; SILVA, C. F.; SILVA, C. R. da; PEREIRA, B. B.; CAIXETA, E. S.; PAULA, M. B. C. de; SILVA, J. J. da; REIS, A. A. dos; CUNHA, F.; SOUZA, A. A., Validation of the species *Xiphophorus maculatus* for biological control of *Aedes aegypti* by comparing its larvae-eating potential with *Poecilia reticulata*. **Biological Control**, [S.l.], v. 117, p. 30-34, fev. 2018. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.biocontrol.2017.08.021>.

CARVALHO, H. A. de; GOMES, M. da G. S.; GONDIM, A. Q.; PEREIRA, M. C. G. Sobre a Biologia do Pitú - *Macrobranchium acanthurus* (Wiegmann, 1836) em populações naturais da Ilha de Itaparica. **Universitas**, [S. l.], n. 24, p. 25, 2007. Disponível em: <https://periodicos.ufba.br/index.php/universitas/article/view/80>. Acesso em: 5 abr. 2024.

CASTILLO, L. E.; LACRUZ, E. de; RUEPERT, Clemens. Ecotoxicology and pesticides in tropical aquatic ecosystems of Central America. **Environmental Toxicology And Chemistry**, [S.l.], v. 16, n. 1, p. 41-51, jan. 1997. Wiley. <http://dx.doi.org/10.1002/etc.5620160104>

CENGIZ, Elif Ipek. Gill and kidney histopathology in the freshwater fish *Cyprinus carpio* after acute exposure to deltamethrin. **Environmental Toxicology And**

**Pharmacology**, [S./], v. 22, n. 2, p. 200-204, set. 2006. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.etap.2006.03.006>.

CHANG, H.Y., YANG, W. C.; XUE, Y.-J.; TSAI, M. Y.; WANG, J. H.; CHANG, G. R. Phthalates and organophosphorus insecticide residues in shrimp determined by liquid/gas chromatography–Tandem mass spectrometry and a health risk assessment. **Marine Pollution Bulletin**, [S./], v. 144, p. 140-145, jul. 2019. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.marpolbul.2019.04.047>

CHAUDHARY, E.; SHARMA, P., Use of duckweed in wastewater treatment. **International Journal of Innovative Research in Science, Engineering and Technology**, v. 3, n. 6, p. 13622-13624, 2014.

CHENG, W., SAKAI, H., MATSUSHIMA, M., YAGI, K., HASEGAWA, T., Response of the floating aquatic fern *Azolla filiculoides* to elevated CO<sub>2</sub>, temperature, and phosphorus levels. **Hydrobiologia**, [S./], v. 656, n. 1, p. 5-14, 3 set. 2010. **Springer Science and Business Media LLC**. <http://dx.doi.org/10.1007/s10750-010-0441-2>.

CONSTANTINO, M.; LOUCA-CHRISTODOULOU, D.; AGAPIOU, Agapios. Method validation for the determination of 314 pesticide residues using tandem MS systems (GC–MS/MS and LC-MS/MS) in raisins: focus on risk exposure assessment and respective processing factors in real samples (a pilot survey). **Food Chemistry**, [S./], v. 360, p. 129964, out. 2021. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.foodchem.2021.129964>.

COWIE, R., ***P. canaliculata* Banco de dados global de espécies invasoras**, 12 jun. 2005. Disponível em: <http://www.sisg.org/database/spamys/ecology/aspp/3>. Acesso em: 11 jan. de 2021.

CRUZ, C., SILVIA, Patr Iacute Cia Carraschi; LIA, Sayuri Shiogiri Nat Aacute; ADILSON, Ferreira da Silva; ROBINSON, Antonio Pitelli; MARCIA, Rita Fernandes Machado. Sensitivity, ecotoxicity and histopathological effects on neotropical fish exposed to glyphosate alone and associated to surfactant. **Journal Of Environmental Chemistry And Ecotoxicology**, [S./], v. 8, n. 3, p. 25-33, 31 mar. 2016. Academic Journals. <http://dx.doi.org/10.5897/jece2015.0362>.

CRUZ, C., SILVA, A. F., SHIOGIRI, N. S., GARLICH, N., & PITELLI, R. A. Imazapyr herbicide efficacy on floating macrophyte control and ecotoxicology for non-target organisms. **Planta Daninha**, v. 33, n. 1, p. 103–108, 2015. <https://doi.org/10.1590/S0100-83582015000100012>

CRUZ, C.; CUBO, P.; GOMES, G.R.; VENTURINI, F.P.; GUILHERME, P.e.; PITELLI, R.A.. Sensibilidade de Peixes Neotropicais ao Dicromato de Potássio. **Journal Of The Brazilian Society Of Ecotoxicology**, [S./], v. 3, n. 1, p. 53-55, 2008. <http://dx.doi.org/10.5132/jbse.2008.01.008>.

CUNHA, F. D. S., SOUSA, N. D. C., SANTOS, R. F. B., MENESES, J. O., do COUTO, M. V. S., de ALMEIDA, F. T. C., e FUJIMOTO, R. Y. (2018). Deltamethrin-induced nuclear erythrocyte alteration and damage to the gills and liver of *Colossoma*

*macropomum*. **Environmental Science and Pollution Research**, v. 25, p.15102-15110.

DANNER, M. C.; ROBERTSON, A., BEHRENDTS, V., REISS, J., Antibiotic pollution in surface fresh waters: occurrence and effects. **Science Of The Total Environment**, [S./], v. 664, p. 793-804, maio 2019. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.scitotenv.2019.01.406>.

DENG, F.; SUN, J.; DOU, R.; YU, X.; WEI, Zi; YANG, C.; ZENG, X.; ZHU, L., Contamination of pyrethroids in agricultural soils from the Yangtze River Delta, China. **Science Of The Total Environment**, [S./], v. 731, p. 139181, ago. 2020. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.scitotenv.2020.139181>

DELLA VECHIA, J.F.; CRUZ, C.; SILVA, A.F.; CERVEIRA JR., W.R.; GARLICH, N.. MACROPHYTE BIOASSAY Applications for Monitoring Pesticides in the Aquatic Environment. **Planta Daninha**, [S./], v. 34, n. 3, p. 597-603, set. 2016. FapUNIFESP (SciELO). <http://dx.doi.org/10.1590/s0100-83582016340300021>.

DUTTA, H. M. *et al.* Histopathological changes induced by malathion in the liver of a freshwater catfish, *Heteropneustes fossilis*. **Bulletin of environmental contamination and toxicology**, v. 51, p. 895-900, 1993.

ENSMINGER, M. P., BUDD, R., KELLEY, K. C., e GOH, K. S. Pesticide occurrence and aquatic benchmark exceedances in urban surface waters and sediments in three urban areas of California, USA, 2008–2011. **Environmental monitoring and assessment**, v. 185, n.5, p. 3697-3710, 2013.

ESMAEILBEIGI, M.; KALBASSI, M. R.; SEYEDI, J.; TAYEMEH, M. B.; MOGHADDAM, J. A., Intra and extracellular effects of benzo [α] pyrene on liver, gill and blood of Caspian White fish (*Rutilus frissi kutum*): cyto-genotoxicity and histopathology approach. **Marine Pollution Bulletin**, [S./], v. 163, p. 111942, fev. 2021. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.marpolbul.2020.111942>.

ESTEBENET, A. L.; MARTÍN, P. R.. Shell Interpopulation Variation and it's Origin in *P. canaliculata* (Gastropoda) from southern pampas, argentina. **Journal Of Molluscan Studies**, [S./], v. 69, n. 4, p. 301-310, nov. 2003. Oxford University Press (OUP). <http://dx.doi.org/10.1093/mollus/69.4.301>.

EMMANUEL, O. .O.; OLUSOLA, K. O., Histopathology Studies of Selected Organs of *Hemichromis Fasciatus* [1] Inhabiting Igun Gold Mining and Opa Reservoirs, South Western Nigeria: a comparative study. **International Journal Of Advances In Life Science And Technology**, [S./], v. 4, n. 1, p. 1-10, 2020. Conscientia Beam. <http://dx.doi.org/10.18488/journal.72.2020.41.1.10>.

FAI, P. B. A, TSOBGNY K. J. S, TALA T. Y. J., Acute effects of binary mixtures of Type II pyrethroids and organophosphate insecticides on *Oreochromis niloticus*. **Ecotoxicology**. v. 26, n. 7, p. 889-901, Sep, 2017. DOI: 10.1007/s10646-017-1819-y. Epub 2017 Jun 7. PMID: 28593348.

FARAG, M. R.; MAHMOUD, H. K.; EL-SAYED, S. A.A.; AHMED, S. Y.A.; ALAGAWANY, M.; ABOU-ZEID, S. M., Neurobehavioral, physiological and inflammatory impairments in response to bifenthrin intoxication in *Oreochromis niloticus* fish: role of dietary supplementation with petroselinum crispum essential oil. **Aquatic Toxicology**, [S./], v. 231, p. 105715, fev. 2021. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.aquatox.2020.105715>.

FERGUSON, C. The invasion of apple snails (*P. canaliculata*) into Hawaii: A case study in environmental problem solving (On-line pdf). 2005. Disponível em: <http://www.ctahr.hawaii.edu/nrem/capstone/2005/applesnail2last.pdf>\_ Acesso: 20 de mar. 2020.

FERNANDES, M. N.; MARTINS, J. M.; FERREIRA, J. L. R. Histological alterations in the renal tissue of *H. eques* induced by acute exposure to bifenthrin. **Brazilian Journal of Biology**, v. 80, n. 2, p. 371-377, 2020

FERREIRA, D.; SEGATTO, A. D. M.; SILVA DE ASSIS, H. C. Alterações histopatológicas branquiais em *H. eques* (Characiformes: Characidae) expostos a concentrações subletais de bifentrina. **Patologia Clínica Comparada**, v. 27, n. 4, p. 1059-1065, 2018.

FREIRE, C. A.; RIOS, L. de P.; GIARETA, E. P.; CASTELLANO, G. C., Oxygen consumption remains stable while ammonia excretion is reduced upon short time exposure to high salinity in *Macrobrachium acanthurus* (Caridae: palaemonidae), a recent freshwater colonizer. **Zoologia**, [S./], v. 34, p. 1-9, 1 set. 2017. FapUNIFESP (SciELO). <http://dx.doi.org/10.3897/zoologia.34.e20173>.

FRIBERG-JENSEN, U.; WENDT-RASCH, L.; WOIN, P.; CHRISTOFFERSEN, K.. Effects of the pyrethroid insecticide, cypermethrin, on a freshwater community studied under field conditions. I. Direct and indirect effects on abundance measures of organisms at different trophic levels. **Aquatic Toxicology**, [S./], v. 63, n. 4, p. 357-371, maio 2003. Elsevier BV. [http://dx.doi.org/10.1016/s0166-445x\(02\)00201-1](http://dx.doi.org/10.1016/s0166-445x(02)00201-1).

GIRONES, L.; ARIAS, A. H.; OLIVA, A. L.; RECABARREN-VILLALON, T.; MARCOVECCHIO, J. E., Occurrence and spatial distribution of organochlorine pesticides in the southwest Buenos Aires using the freshwater snail *Chilina parchappii* as environmental biomonitor. **Regional Studies In Marine Science**, [S./], v. 33, p. 100898, jan. 2020. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.rsma.2019.100898>.

GHAYYUR, S.; KHAN, M. Fiaz; TABASSUM, S.; AHMAD, M. S.; SAJID, M.; BADSHAH, K.; KHAN, M. A.; SAIRA; GHAYYUR, S.; KHAN, N. A.. A comparative study on the effects of selected pesticides on hemato-biochemistry and tissue histology of freshwater fish *Cirrhinus mrigala* (Hamilton, 1822). **Saudi Journal Of Biological Sciences**, [S./], v. 28, n. 1, p. 603-611, jan. 2021. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.sjbs.2020.10.049>.

GHATTAS, A. K; FISCHER, F.; WICK, A.; TERNES, T. A.. Anaerobic biodegradation of (emerging) organic contaminants in the aquatic environment. **Water Research**,

[S.I.], v. 116, p. 268-295, jun. 2017. Elsevier BV.  
<http://dx.doi.org/10.1016/j.watres.2017.02.001>

GIL-GARCÍA, M. D.; BARRANCO-MARTÍNEZ, D.; MARTÍNEZ-GALERA, M.; PARRILLA-VÁZQUEZ, P. Simple, rapid solid-phase extraction procedure for the determination of ultra-trace levels of pyrethroids in ground and sea water by liquid chromatography/electrospray ionization mass spectroscopy. **Rapid Communications In Mass Spectrometry**, [S.I.], v. 20, n. 16, p. 2395-2403, 2006. Wiley. <http://dx.doi.org/10.1002/rcm.2600>

GOKHALE, S. **Pharmacognosy**, S Pragati Books Pvt. Ltd., 7 de ago de 2008 - 340 páginas.

GOKTEPE, I.; PORTIER, R.; AHMEDNA, M., Ecological Risk Assessment of Neem-Based Pesticides. **Journal Of Environmental Science And Health, Part B**, [S.I.], v. 39, n. 2, p. 311-320, jan. 2004. <http://dx.doi.org/10.1081/pfc-120030244>

GONÇALVES, D. B.; ROJAS, P.; GONÇALVES-DE-FREITAS, E. Morphological alterations in the kidneys of *H. eques* exposed to sublethal concentrations of bifenthrin. **Ecotoxicology and Environmental Contamination**, v. 30, n. 2, p. 145-154, 2018.

GONÇALVES, D. B.; ROJAS, P.; GONÇALVES-DE-FREITAS, E. Alterações histopatológicas nas brânquias de *H. eques* expostos a concentrações subletais de bifentrina. **Environmental Toxicology and Pharmacology**, v. 55, p. 67-73, 2017.

HAMILTON, Martin A.; RUSSO, Rosemarie C.; THURSTON, Robert V. Trimmed Spearman-Kärber method for estimating median lethal concentrations in toxicity bioassays. **Environmental science e technology**, v. 11, n. 7, p. 714-719, 1977.

HELLOU, J., Behavioural ecotoxicology, an “early warning” signal to assess environmental quality. **Environmental Science And Pollution Research**, [S.I.], v. 18, n. 1, p. 1-11, 8 jul. 2010. Springer Science and Business Media LLC. <http://dx.doi.org/10.1007/s11356-010-0367-2>

HECKMANN, Richard. Nonindigenous Fishes Introduced into Inland Waters of the United States. Pam L. Fuller , Leo G. Nico , James D. Williams. **The Quarterly Review Of Biology**, [S.I.], v. 76, n. 1, p. 99-100, mar. 2001. University of Chicago Press. <http://dx.doi.org/10.1086/393821>

HOOK, S. E.; MONDON, J.; REVILL, A. T.; GREENFIELD, P. A.; SMITH, R. A.; TURNER, R. D.R.; CORBETT, P. A.; WARNE, M. St J. Transcriptomic, lipid, and histological profiles suggest changes in health in fish from a pesticide hot spot. **Marine Environmental Research**, [S.I.], v. 140, p. 299-321, set. 2018. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.marenvres.2018.06.020>

JUAN, M.R. F. S; CORTELEZZI, A.; ALBORNOZ, C.B.; LANDRO, S.M.; ARRIGHETTI, F.; NAJLE, R.; LAVARIAS, S.M.L. Toxicity of pyrethroid cypermethrin on the freshwater snail *Chilina parhappii*: lethal and sublethal

effects. **Ecotoxicology And Environmental Safety**, [S.I.], v. 196, p. 110565, jun. 2020. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.ecoenv.2020.110565>

JAIN, S; VASUDEVAN, P; JHA, N. *Azolla pinnata* r.br. and *L. minor* l. for removal of lead and zinc from polluted water. **Water Research**, [S.I.], v. 24, n. 2, p. 177-183, fev. 1990. Elsevier BV. [http://dx.doi.org/10.1016/0043-1354\(90\)90100-k](http://dx.doi.org/10.1016/0043-1354(90)90100-k)

KALLMAN, K. D., The platyfish, *X maculatus*., **Handbook of genetics**. Springer, Boston, MA, 1975. p. 81-132.

KIMANI, S. M.; CHENG, W.; KANNO, T.; NGUYEN-SY, T.; ABE, R.; OO, A. Z.; TAWARAYA, K.; SUDO, S., *Azolla* cover significantly decreased CH<sub>4</sub> but not N<sub>2</sub>O emissions from flooding rice paddy to atmosphere. **Soil Science And Plant Nutrition**, [S.I.], v. 64, n. 1, p. 68-76, 10 nov. 2017. Informa UK Limited. <http://dx.doi.org/10.1080/00380768.2017.1399775>.

KONDO, M.; KOBAYASHI, M.; TAKAHASHI, E. Effect of phosphorus on *Azolla* and its utilization in rice culture in Niger. **Plant and soil**, v. 120, n. 2, p. 165-170, 1989.

KOKTA, C.; ROTHERT, H.A. Hazard and risk assessment scheme for evaluating effects on earthworms: the approach in the Federal Republic of Germany. In: GREIG-SMITH, P.W.; BECKER, H.; EDWARDS, P.J.; HEIMBACH, F. (eds.). **Ecotoxicology of earthworm**. Andover: Intercept, 1992. p.169-176.

KRUATRACHUE, M.; SUMRITDEE, C.; POKETHITIYOOK, P.; SINGHAKAEW, S.. Histopathological Effects of Contaminated Sediments on Golden Apple Snail (*Pomacea canaliculata*, Lamarck 1822). **Bulletin Of Environmental Contamination And Toxicology**, [S.I.], v. 86, n. 6, p. 610-614, 23 abr. 2011. Springer Science and Business Media LLC. <http://dx.doi.org/10.1007/s00128-011-0265-4>

LANDOLT, E. **Biosystematic investigations in the duckweed family (Lemnaceae)**: a monographic study: (phytochemistry, physiology). Zürich: Geobotanischen Instituts der ETH, 1987. p. 2-4.

LEE, S.; GAN, J.; KIM, J. S.; KABASHIMA, J. N.; CROWLEY, D. E.. Microbial Transformation Of Pyrethroid Insecticides In Aqueous And Sediment Phases. **Environmental Toxicology And Chemistry**, [S.I.], v. 23, n. 1, p. 1, 2004. Wiley. <http://dx.doi.org/10.1897/03-114>.

LI, S.; ZOU, Z., Toxicity of *Chimonanthus nitens* flower extracts to the golden apple snail, *Pomacea canaliculata*. **Pesticide Biochemistry And Physiology**, [S.I.], v. 160, p. 136-145, out. 2019. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.pestbp.2019.07.015>.

LUKOWIAK, K. *et al.* Operant conditioning of aerial respiratory behaviour in *Lymnaea stagnalis*. **Journal of Experimental Biology**, [s. I.], v. 199, n. 3, p. 683–691, 1996.

MA, X., Research progress on analytical technique of pyrethroid pesticide residue **Journal of Anhui Agricultural Sciences**, v. 28, p. 13775-13777, 2009.

MAJUMDER, R., e KAVIRAJ, A. (2022). Histopathological alterations of gills, liver and kidney of freshwater fish, *Oreochromis niloticus*, exposed to cypermethrin. **Journal of Aquatic Biology e Fisheries**, v. 10, n. 1, p. 1-5.

MARQUES, M. B. L.; BRUNETTI, I. AI.; FALEIROS, C. A.; CRUZ, C. da; IQBAL, H. M. N.; BILAL, M.; AMÉRICO-PINHEIRO, J. H. P., Ecotoxicological Assessment and Environmental Risk of the Insecticide Chlorpyrifos for Aquatic Neotropical Indicators. **Water, Air, e Soil Pollution**, [S.l.], v. 232, n. 10, p. 428-436, out. 2021. Springer Science and Business Media LLC. <http://dx.doi.org/10.1007/s11270-021-05369-9>.

MAUND, S. J., CAMPBELL, P. J., GIDDINGS, J. M., HAMER, M. J., HENRY, K., PILLING, E. D., e WHEELER, J. R. Ecotoxicology of synthetic pyrethroids. **Pyrethroids: From Chrysanthemum to Modern Industrial Insecticide**, p. 137-165. 2012.

MERWE, J. P.; NEALE, P. A.; MELVIN, S. D.; LEUSCH, F. D.L.. In vitro bioassays reveal that additives are significant contributors to the toxicity of commercial household pesticides. **Aquatic Toxicology**, [S.l.], v. 199, p. 263-268, jun. 2018. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.aquatox.2018.03.033>

MOJIRI, A.; ZHOU, J. L.; ROBINSON, B.; OHASHI, A.; OZAKI, N.; KINDAICHI, T.; FARRAJI, H; VAKILI, M.. Pesticides in aquatic environments and their removal by adsorption methods. **Chemosphere**, [S.l.], v. 253, p. 126646, ago. 2020. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.chemosphere.2020.126646>.

MUGNI, H.; DEMETRIO, P.; BULUS, G.; RONCO, A.; BONETTO, C.. Effect of Aquatic Vegetation on the Persistence of Cypermethrin Toxicity in Water. **Bulletin Of Environmental Contamination And Toxicology**, [S.l.], v. 86, n. 1, p. 23-27, 25 nov. 2010. Springer Science and Business Media LLC. <http://dx.doi.org/10.1007/s00128-010-0143-5>.

MUNDY, P. C.; C., M. F.; BRANDER, S. M.; HUNG, T. C.; FANGUE, N.; CONNON, R. E.. Bifenthrin exposure causes hyperactivity in early larval stages of an endangered fish species at concentrations that occur during their hatching season. **Aquatic Toxicology**, [S.l.], v. 228, p. 105611, nov. 2020. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.aquatox.2020.105611>.

ORGANIZAÇÃO MUNDIAL DA SAÚDE E ORGANIZAÇÃO DAS NAÇÕES UNIDAS PARA AGRICULTURA E ALIMENTAÇÃO – OMA. **Situação Global da Gestão de Pesticidas na Agricultura e Saúde Pública: Relatório da Pesquisa da OMS-FAO de 2018**. Genebra: OMS, 2019.

ORGANIZATION FOR ECONOMIC COOPERATION AND DEVELOPMENT – OECD. *Lemna sp.* Growth inhibition test. In: **GUIDELINE for testing of chemicals**. Paris: OECD, 2002.

ORGANIZATION FOR ECONOMIC COOPERATION AND DEVELOPMENT – OECD. **Chemicals Testing Guideline: Section 2 Test No.221: Lemna Sp. Growth Inhibition Test**. Paris: OECD, 2006.

ORTIZ, J. B.; DE CANALES, M. L. G.; SARASQUETE, C., Histopathological changes induced by lindane (?-HCH) in various organs of fishes. **Scientia Marina**, v. 67, n. 1, p. 53-61, 2003.

OOSTERVEER, Peter. Globalization and sustainable consumption of shrimp: consumers and governance in the global space of flows. **International Journal Of Consumer Studies**, [S.l.], v. 30, n. 5, p. 465-476, set. 2006. Wiley. <http://dx.doi.org/10.1111/j.1470-6431.2006.00535.x>.

PANDEY, Vimal Chandra. Phytoremediation of heavy metals from fly ash pond by *Azolla caroliniana*. **Ecotoxicology And Environmental Safety**, [S.l.], v. 82, p. 8-12, ago. 2012. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.ecoenv.2012.05.002>.

PESTICIDE PROPERTIES DATABASE (PPDB). **Agriculture e Environment Research United (AERU)**. University of Hertfordshire, 2021. Disponível em: <http://sitem.herts.ac.uk/aeru/ppdb/en/atoz.htm>. Acesso em: 18 fev. 2021.

PENNINGTON, P. L.; HARPER-LAUX, H.; SAPOZHNIKOVA, Y.; FULTON, M. H.. Environmental effects and fate of the insecticide bifenthrin in a salt-marsh mesocosm. **Chemosphere**, [S.l.], v. 112, p. 18-25, out. 2014. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.chemosphere.2014.03.047>.

PIMPAO, C; A ZAMPRONIO,; SILVADEASSIS, H. Exposure of *Ancistrus multispinis* (Regan, 1912, Pisces, Teleostei) to deltamethrin: effects on cellular immunity. **Fish e Shellfish Immunology**, [S.l.], v. 25, n. 5, p. 528-532, nov. 2008. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.fsi.2008.07.012>.

PRODOCIMO, V., e FREIRE, C. A., Máximos e mínimos térmicos críticos do platyfish *X. maculatus* Günther (*Poecillidae*, *Cyprinodontiformes*) - uma espécie tropical de peixes ornamentais de água doce. **Revista Brasileira de Zoologia**, v. 18, p. 97-106, 2001.

RIAZ, G., TABINDA, A. B., IQBAL, S., YASAR, A., ABBAS, M., KHAN, A. M., ... e BAQAR, M. Phytoremediation of organochlorine and pyrethroid pesticides by aquatic macrophytes and algae in freshwater systems. **International journal of phytoremediation**, v. 19, n. 10, p. 894-898, 2017.

SANTOS, MAT D.; AREAS, M. A; REYES, Felix Guillermo Reyes. Piretróides—uma visão geral. **Alimentos e Nutrição**, Araraquara, v. 18, n. 3, p. 339-349, 2008.

SASMAZ, M.; TOPAL, E. I. A.; OBEK, E.; SASMAZ, A., The potential of *L gibba* and *L. minor* to remove Cu, Pb, Zn, and As in gallery water in a mining area in Keban, Turkey. **Journal Of Environmental Management**, [S.l.], v. 163, p. 246-253, nov. 2015. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.jenvman.2015.08.029>

SILVA, A.F.; CRUZ, C.; N. NETO, A.; PITELLI, R.A.. Ecotoxicidade de herbicidas para a macrófita aquática (*Azolla caroliniana*). **Planta Daninha**, [S.l.], v. 30, n. 3, p. 541-546, set. 2012. FapUNIFESP (SciELO). <http://dx.doi.org/10.1590/s0100-83582012000300009>

SILVA, L. C.; OLIVEIRA, F.; MARTINEZ, C. B. R. Histopathological changes in the kidneys of *H. eques* exposed to environmentally relevant concentrations of bifenthrin. **Environmental Science and Pollution Research**, v. 26, n. 8, p. 7766-7774, 2019.

SILVA, L. C.; OLIVEIRA, F.; MARTINEZ, C. B. R. Alterações histopatológicas nas brânquias de *H. eques* expostos a concentrações ambientalmente relevantes de bifentrina. **Ecotoxicologia e Segurança Ambiental**, v. 207, p. 111580, 2021.

SHIOGIRI, N. S.; CARRASCHI, S. P.; CUBO, P.; SCHIAVETTI, B. L.; CRUZ, C.; PITELLI, R. A. Ecotoxicity of glyphosate and aterbane sup e reg; sup br surfactant on guaru (*Phalloceros caudimaculatus*). **Acta Scientiarum Biological Sciences**, v. 32, n. 3, p. 285-289, 14 set. 2010. DOI: 10.4025/actascibiolsoci.v32i3.6795

SHUKLA, R; BHAT, Anuradha. Morphological divergences and ecological correlates among wild populations of zebrafish (*Danio rerio*). **Environmental Biology of Fishes**, [S.l.], v. 100, n. 3, p. 251-264, 16 jan. 2017. Springer Science and Business Media LLC. <http://dx.doi.org/10.1007/s10641-017-0576-3>

SIDDIG, A. A.H.; ELLISON, A. M.; OCHS, A.; VILLAR-LEEMAN, C.; LAU, M. K.. How do ecologists select and use indicator species to monitor ecological change? Insights from 14 years of publication in Ecological Indicators. **Ecological Indicators**, [S.l.], v. 60, p. 223-230, jan. 2016. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.ecolind.2015.06.036>

SILVA, CMMS; FAY, E. F. **Agrotóxicos e ambiente**. v. 1. Brasília: Embrapa Informação Tecnológica, 2004.

SOARES, M. P.; JESUS, F.; ALMEIDA, A. R.; ZLABEK, V.; GRABIC, R.; DOMINGUES, I.; HAYD, L.. Endemic shrimp *Macrobrachium pantanalense* as a test species to assess potential contamination by pesticides in Pantanal (Brazil). **Chemosphere**, [S.l.], v. 168, p. 1082-1092, fev. 2017. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.chemosphere.2016.10.100>.

SODERLUND, D. M; CLARK, J. M; SHEETS, L. P; MULLIN, L. s; PICCIRILLO, V. J; SARGENT, D.; STEVENS, J. T; WEINER, M. L. M. of pyrethroid neurotoxicity: implications for cumulative risk assessment. **Toxicology**, [S.l.], v. 171, n. 1, p. 3-59, fev. 2002. Elsevier BV. [http://dx.doi.org/10.1016/s0300-483x\(01\)00569-8](http://dx.doi.org/10.1016/s0300-483x(01)00569-8)

SOUSA, E. L.; BARROS, V. C. F.; FERNANDES, M. N. Histopatologia hepática de *H. eques* expostos à bifentrina: Implicações para a função metabólica. **Aquatic Toxicology Reports**, v. 20, p. 100792, 2021.

SOUZA, E. L.; MARTINS, M. L.; FERNANDES, M. N. Histopatologia das brânquias de *H. eques* expostos à bifentrina: Efeitos nas defesas antioxidantes e atividades enzimáticas branquiais. **Environmental Science and Pollution Research**, v. 27, n. 35, p. 44075-44084, 2020.

SRIVASTAV, A. K.; SRIVASTAVA, S. K.; SRIVASTAV, S. K. Impact of deltamethrin on serum calcium and inorganic phosphate of freshwater catfish, *Heteropneustes*

fossilis. **Bulletin of environmental contamination and toxicology**, v. 59, n. 5, p. 841-846, 1997.

SUN, K., X., Z. M., e S., X. Y. Spatial heterogeneity estimation of the impacts of human factors on environmental pollution in Chinese provinces. **Acta Ecologica Sinica**, v. 37, n. 8, p. 2588-2599, 2017.

SYED, F.; AWASTHI, K. K.; CHANDRAVANSI, L. P.; VERMA, R.; RAJAWAT, N. K.; KHANNA, V. K.; JOHN, P. J.; SONI, Inderpal. Bifenthrin-induced neurotoxicity in rats: involvement of oxidative stress. **Toxicology Research**, [S.l.], v. 7, n. 1, p. 48-58, 2018. Oxford University Press (OUP). <http://dx.doi.org/10.1039/c7tx00205j>

TALLARICO, L. F. (2015). Freshwater gastropods as a tool for ecotoxicology assessments in Latin America. **American Malacological Bulletin**, v. 33, n. 2, p. 1–7. <https://doi.org/10.4003/006.033.0220>.

TAKEDA, A. M.; FUJITA, D. S.; KOMATSU, E. H.; BRAGA, C. P.; OLIVEIRA, D. P.; ROSIN, G. C.; IBARRA, J. A. A.; SILVA, C. P. e ANSELMO, S. F. Influence of environmental heterogeneity and water level on distribution of Zoobenthos in the upper Paraná River floodplain (Baía and Paraná Rivers). *In*: AGOSTINHO, A. A.; RODRIGUES, L.; GOMES, L. C.; THOMAZ, S. M.; MIRANDA, L. E. (Eds.). **Structure and functioning of the Paraná River and its floodplain: LTER - Site 6 (PELD - Sítio 6)**. Maringá: EDUEM, 2004. p. 91-96.

UNITED STATES ENVIRONMENTAL PROTECTION AGENCY (USEPA). ENVIRONMENTAL PROTECTION AGENCY – EPA. **Technical overview of ecological risk assessment: analysis phase: ecological effects characterization**. Washington: USEPA, 2022. Disponível em: <https://www.epa.gov/pesticide-science-and-assessing-pesticide-risks/technical-overview-ecological-risk-assessment-0>. Acesso 27 de jan. de 2022.

ULLAH, S.; AHMAD, S.; ALTAF, Y.; DAWAR, F. U.; ANJUM, S. I.; BAIG, M. M. F. A.; FAHAD, S.; AL-MISNED, F.; ATIQUE, U.; GUO, X.. Bifenthrin induced toxicity in *Ctenopharyngodon idella* at an acute concentration: a multi-biomarkers based study. **Journal Of King Saud University - Science**, [S.l.], v. 34, n. 2, p. 101752, fev. 2022. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.jksus.2021.101752>.

ULLAH, S.; LI, Z.; ARIFEEN, M. Z. UI; KHAN, S. U.; FAHAD, S.. Multiple biomarkers based appraisal of deltamethrin induced toxicity in silver carp (*Hypophthalmichthys molitrix*). **Chemosphere**, [S.l.], v. 214, p. 519-533, jan. 2019. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.chemosphere.2018.09.145>

VALENCIA, Diego M.; CAMPOS, Martha R. Freshwater prawns of the genus *Macrobrachium* Bate. **Zootaxa**, v. 1456, n. 1, p. 1-44, 2007.

VARELA-GRANADOS, Y.; FRÍAS-GÓMEZ, S. A.; HERNÁNDEZ-HERNÁNDEZ, L. H.; POWELL, M. S.; VEGA-VILLASANTE, F., Effects of mannan oligosaccharides and fructooligosaccharides on the growth and nonspecific immune responses of juvenile freshwater prawn *M. acanthurus*. **Latin American Journal Of Aquatic**

**Research**, [S./], v. 49, n. 2, p. 299-306, 3 maio 2021. Pontificia Universidad Catolica de Valparaiso. <http://dx.doi.org/10.3856/vol49-issue2-fulltext-2586>.

WANG, F.; WU, H.; WU, W.; WANG, L.; LIU, J.; AN, L.; XU, Q.. Microplastic characteristics in organisms of different trophic levels from Liaohe Estuary, China. **Science Of The Total Environment**, [S./], v. 789, p. 148027, out. 2021. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.scitotenv.2021.148027>

WANG, J. Z.; BAI, Y. S.; WU, Y.; ZHANG, S.; CHEN, T. H.; PENG, S. C.; XIE, Y W.; ZHANG, X. W., Occurrence, compositional distribution, and toxicity assessment of pyrethroid insecticides in sediments from the fluvial systems of Chaohu Lake, Eastern China. **Environmental Science And Pollution Research**, [S./], v. 23, n. 11, p. 10406-10414, 26 nov. 2015. Springer Science and Business Media LLC. <http://dx.doi.org/10.1007/s11356-015-5831-6>.

WAGNER, G.M., *Azolla*: A review of its biology and utilization. **The Botanical Review**, v. 63, n. 1, p. 1-26., 1997., <https://doi.org/10.1007/BF02857915>

WESTON, D. P.; MOSCHET, C.; YOUNG, T. M.; JOHANIF, N.; POYNTON, H. C.; MAJOR, K. M.; C., Richard E.; HASENBEIN, S., Chemical and Toxicological Impacts to Cache Slough Following Storm-Driven Contaminant Inputs, **San Francisco Estuary and Watershed Science** v. 17, n. 3, p. 1-29, (2019), DOI:10.15447/sfews.2019v17iss3art3

WESTON, Donald P.; CHEN, Da; LYDY, Michael J.. Stormwater-related transport of the insecticides bifenthrin, fipronil, imidacloprid, and chlorpyrifos into a tidal wetland, San Francisco Bay, California. *Science Of The Total Environment*, [S.L.], v. 527-528, p. 18-25, set. 2015. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.scitotenv.2015.04.095>.

WESTON, D.P.; HOLMES, R.W.; LYDY, M.J.. Residential runoff as a source of pyrethroid pesticides to urban creeks. *Environmental Pollution*, [S.L.], v. 157, n. 1, p. 287-294, jan. 2009. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.envpol.2008.06.037>.

WILDER, M. N; IKUTA, K.; ATMOMARSONO, M.; HATTA, T.; KOMURO, K., Changes in osmotic and ionic concentrations in the hemolymph of *Macrobrachium rosenbergii* exposed to varying salinities and correlation to ionic and crystalline composition of the cuticle. **Comparative Biochemistry And Physiology Part A: Molecular e Integrative Physiology**, [S./], v. 119, n. 4, p. 941-950, abr. 1998. Elsevier BV. [http://dx.doi.org/10.1016/s1095-6433\(98\)00008-7](http://dx.doi.org/10.1016/s1095-6433(98)00008-7)

WENNER, E. L.; WILLIAMS, A. B., Shrimps, Lobsters, and Crabs of the Atlantic Coast of the Eastern United States, Maine to Florida. **Estuaries**, [S./], v. 8, n. 1, p. 77, mar. 1985. Springer Science and Business Media LLC. <http://dx.doi.org/10.2307/1352125>

WONGMANEERPRATIP, W.; LEONG, M.; YANG, H., Quantification and risk assessment of pyrethroid residues in seafood based on nanoparticle-extraction approach. **Food Control**, [S./], v. 133, p. 108612, mar. 2022. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.foodcont.2021.108612>.

XIE, Y.; BUDD, R.; TEERLINK, J.; LUO, Y.; SINGHASEMANON, N., Assessing pesticide uses with potentials for down-the-drain transport to wastewater in California. **Science Of The Total Environment**, [S.I.], v. 773, p. 145636, jun. 2021. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.scitotenv.2021.145636>.

YANG, Y.; WU, N.; WANG, C., Toxicity of the pyrethroid bifenthrin insecticide. **Environmental Chemistry Letters**, [S.I.], v. 16, n. 4, p. 1377-1391, 14 jun. 2018. Springer Science and Business Media LLC. <http://dx.doi.org/10.1007/s10311-018-0765-0>.

YANG, C.; ZHANG, Y.; ZHOU, Y.; CHEN, H.; LV, T.; LUO, L.; QIU, X.; ZHANG, M.; QIN, G.; GONG, G., Screening and functional verification of the target protein of pedunsaponin A in the killing of *Pomacea canaliculata*. **Ecotoxicology And Environmental Safety**, [S.I.], v. 220, p. 112393, set. 2021. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.ecoenv.2021.112393>.

YANG, C.; LIM, W.; SONG, G., Mediation of oxidative stress toxicity induced by pyrethroid pesticides in fish. **Comparative Biochemistry And Physiology Part C: Toxicology e Pharmacology**, [S.I.], v. 234, p. 108758, ago. 2020. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.cbpc.2020.108758>.

YOO, Minsang; LIM, Youn-Hee; KIM, Taeshik; LEE, Dongwook; HONG, Yun-Chul. Association between urinary 3-phenoxybenzoic acid and body mass index in Korean adults: 1st korean national environmental health survey. **Annals Of Occupational And Environmental Medicine**, [S.L.], v. 28, n. 1, p. 2-8, 13 jan. 2016. Korean Society of Occupational and Environmental Medicine. <http://dx.doi.org/10.1186/s40557-015-0079-7>.

Yoo M, Lim YH, Kim T, Lee D, Hong YC. Association between urinary 3-phenoxybenzoic acid and body mass index in Korean adults: 1(st) Korean National Environmental Health Survey. *Ann Occup Environ Med*. 2016 Jan 13;28:2. doi: 10.1186/s40557-015-0079-7. PMID: 26767115; PMCID: PMC4711175.

ZHANG, W.; CHEN, L.; DIAO, J.; ZHOU, Z., Effects of cis-bifenthrin enantiomers on the growth, behavioral, biomarkers of oxidative damage and bioaccumulation in *Xenopus laevis*. **Aquatic Toxicology**, [S.I.], v. 214, p. 105237, set. 2019. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.aquatox.2019.105237>

ZHANG, J. J.; YANG, H., Metabolism and detoxification of pesticides in plants. **Science Of The Total Environment**, [S.I.], v. 790, p. 148034, out. 2021. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.scitotenv.2021.148034>.

ZHAO, X.; MOATES, G.K.; WELLNER, N.; COLLINS, S.R.A.; COLEMAN, M.J.; WALDRON, K.W., Chemical characterisation and analysis of the cell wall polysaccharides of duckweed (*Lemna minor*). **Carbohydrate Polymers**, [S.L.], v. 111, p. 410-418, out. 2014. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.carbpol.2014.04.079>.

ZHENG, X. Y.; SHEN, J., Research on Life Cycle Monitoring of Long Distance Diversion Tunnel Based on NFC Context-Awareness. **Geotechnical And Geological**

**Engineering**, [S.L.], v. 33, n. 4, p. 947-958, 26 mar. 2015. Springer Science and Business Media LLC. <http://dx.doi.org/10.1007/s10706-015-9877-5>.

ZHOU, Hailong; XIANG, Nan; XIE, Jia; DIAO, Xiaoping. Ecotoxicology: the history and present direction. **Encyclopedia Of Ecology**, [S.L.], p. 415-423, 2019. Elsevier. <http://dx.doi.org/10.1016/b978-0-12-409548-9.10888-7>.