

**AVALIAÇÃO DO POTENCIAL MUTAGÊNICO DO INSETICIDA
FORMULADO AMPLIGO, POR MEIO DO TESTE DO MICRONÚCLEO EM
*Tradescantia pallida***

EVALUATION OF THE MUTAGENIC POTENTIAL OF THE FORMULATED
INSECTICIDE AMPLIGO, BY MEANS OF THE MICRONUCLEUS TEST IN
Tradescantia pallida

Andressa Cistina Onofre Medeiros¹

Cássio Resende de Moraes^{2*}

RESUMO: Ampligo® é um inseticida formulado pela combinação de Lambda-cialotrina (piretróide) e clorantraniliprole (antranilamidas). Embora seja autorizada a utilização no campo, a combinação de ingredientes ativos em um único produto formulado não passa pelos ensaios ecotoxicológicos pelos órgãos competentes. Neste sentido, avaliar os efeitos de inseticidas formulados a base de mais de um ingrediente ativo é de suma importância no intuito de prevenir doenças associadas a instabilidade genética. O presente trabalho teve como objetivo, avaliar o efeito mutagênico do inseticida comercial ampligo, por meio do Teste do Micronúcleo em *Tradescantia pallida* (Trad-MN). Após aclimatização (24h) em solução de Hoagland, *T. pallida* foram submetidas ao tratamento por 24 h as concentrações de 2,66; 1,33; 0,665; 0,332 e 0,166 mL/L de Ampligo®. Em seguida as hastes de *T. pallida* foram submetidas a solução de Hoagland para recuperação. As inflorescências jovens das hastes foram colhidas e fixadas em solução Carnoy e, após 24 horas, foram conservadas em etanol 70% até o momento das análises. As anteras obtidas dos botões coletados foram maceradas sobre lâminas para microscopia, coradas com corante carmim acético e em seguida cobertas com lamínulas e analisadas em microscopia óptica. Nas concentrações de 2,66 e 1,33 mL/L foi observado diferença estatisticamente significativa (Tukey, $p < 0,05$) quando comparado ao controle negativo. Nas condições experimentais testadas, nas concentrações de 2,66 e 1,33 mL/L, Ampligo® incrementou aumento na frequência de MN em *T. pallida*, apresentando por tanto, atividade mutagênica. Mais estudos dever ser conduzidos, objetivando mais dados pautados na genética toxicológica sobre os efeitos do produto formulado no DNA de espécies não alvas de combate.

Palavras-chave: Pesticida; Genotoxicidade; Danos no DNA.

1- Licenciado em Ciências Biológicas pelo Centro Universitário Mário Palmério – UIFUCAMP, Monte Carmelo, MG, Brasil.

2- Doutor em Genética e Bioquímica pela Universidade Federal de Uberlândia – UFU, Uberlândia, MG, Brasil. Docente no Centro Universitário Mário Palmério – UNIFUCAMP, Monte Carmelo, MG, Brasil.

* Autor de correspondência: cassio.1015@hotmail.com

ABSTRACT: Ampligo® is an insecticide formulated by combining Lambda-cyhalothrin (pyrethroid) and chlorantraniliprole (antranilamides). Although it is authorized for use in the field, the combination of active ingredients in a single formulated product does not undergo ecotoxicological testing by the competent agencies. In this sense, evaluating the effects of insecticides formulated based on more than one active ingredient is of utmost importance in order to prevent diseases associated with genetic instability. The present study aimed to evaluate the mutagenic effect of the commercial insecticide Ampligo, through the Micronucleus Test in *Tradescantia pallida* (Trad-MN). After acclimatization (24h) in Hoagland's solution, *T. pallida* were subjected to treatment for 24 h with concentrations of 2.66; 1.33; 0.665; 0.332 and 0.166 mL/L of Ampligo®. Then, the *T. pallida* stems were subjected to Hoagland's solution for recovery. The young inflorescences of the stems were collected and fixed in Carnoy's solution and, after 24 hours, were preserved in 70% ethanol until the time of analysis. The stems of *T. pallida* were then subjected to Hoagland's solution for recovery. The young inflorescences of the stems were collected and fixed in Carnoy's solution and, after 24 hours, were preserved in 70% ethanol until the time of analysis. The anthers obtained from the collected buds were macerated on microscope slides, stained with acetic carmine dye and then covered with coverslips and analyzed under optical microscopy. At concentrations of 2.66 and 1.33 mL/L, a statistically significant difference was observed (Tukey, $p < 0.05$) when compared to the negative control. Under the experimental conditions tested, at concentrations of 2.66 and 1.33 mL/L, Ampligo® increased the frequency of MN in *T. pallida*, therefore showing mutagenic activity. Further studies should be conducted, aiming at more data based on toxicological genetics on the effects of the formulated product on the DNA of non-target combat species.

Keywords: Pesticide; Genotoxicity; DNA damage.

1. INTRODUÇÃO

Pesticidas são moléculas químicas que objetivam controlar pragas. No primeiro momento, os inseticidas foram desenvolvidos como armas químicas, usadas durante a segunda Guerra Mundial, sendo atualmente usados no sistema agrícola objetivando o controle de insetos pragas, reduzindo a perda total da produção, garantindo assim, a demanda de alimento global (ECOBICHON, 2000).

Mesmo apresentando eficiência no sistema agrícola, os efeitos nocivos proporcionados por inseticidas clássicos (organofosforados, organoclorados, piretróides e carbamatos), têm levantado questionamento em relação a utilização destes produtos no campo, visto que o princípio ativo, bem como os seus metabólicos podem contaminar o meio ambiente e o ser humano, neste último caso, principalmente pela alimentação ((HOUK, 1992; MORAIS et al., 2016).

Além disso, o profissional das ciências agrárias precisa lidar com eventuais casos de resistência de pragas, sendo que em muitas das vezes, muitos optam por aumentar a dose do inseticida no campo. Disfunção nas vias bioquímicas e danos genéticos em organismos não alvos de combate já foram relatadas, como consequência da exposição em diferentes concentrações de pesticidas (ÇELIK et al., 2014).

Visando reduzir a quantidade de inseticidas no campo, bem como os casos de resistência, atualmente é comum a comercialização de produtos fitossanitários formulados a base de 2 ou mais ingredientes ativos em uma única formulação. Ampligo® por exemplo é um inseticida desenvolvido pela Syngenta e possui na sua formulação a combinação de Lambda-cialotrina (piretróide) e clorantraniliprole (Antranilamidas).

O(R)- α -cyano-3-phenoxybenzyl(1S,3S)-3-[(Z)-2-chloro-3,3,3 trifluoropropenyl]-2,2-dimethylcyclopropanecarboxylate and (S)- α -cyano-3phenoxybenzyl(1R,3R)-3-[(Z)-2-chloro-3,3,3 trifluoropropenyl]2,2dimethylcyclopropanecarboxylate, conhecido como Lambda-cialotrina é um inseticida neurotóxico de classificação toxicológica III (ANVISA, 2018) e exerce atividade tóxica ao se ligar nos canais de sódio, deixando os abertos por mais tempo. Devido a este mecanismo de ação, o neurônio fica despolarizado por um tempo maior a partir de um único estímulo, levando os insetos expostos a episódios de excitação, paralisia e finalmente a morte (SODERLUND; BLOOMQUIST, 1989).

O 3-bromo-4'-chloro-1-(3-chloro-2-pyridyl)-2'-methyl-6' (methylcarbamoyl)pyrazole5-carboxanilide, conhecido como clorantraniliprole é um inseticida neurotóxico de classificação toxicológica III pertencente ao grupo das Antranilamidas (ANVISA, 2018). A toxicidade seletiva está associada a disfunção neural e dos músculos, visto que o inseticida age ao ativar os receptores de rianodina, estimulando a liberação das reservas internas de cálcio (Ca²⁺), o que afeta a homeostase, levando os insetos a disfunções neurais e musculares, por quadros de hiperexcitação, paralisia e morte (CÓRDOVA et al., 2006; LAVTIZAR et al., 2015).

Os efeitos da exposição prolongada aos pesticidas, em baixas doses, na saúde humana são difíceis de avaliar, uma vez que os sintomas muitas vezes não são manifestados clinicamente (HERNANDEZ *et al.*, 2005). Informações sobre a toxicidade dos pesticidas não são suficientes para prever o risco ocupacional, uma

vez que algumas formulações podem apresentar compostos nocivos em nível molecular e serem genotóxicos e mutagênicos (BOLOGNESI, 2003; 2014).

Muitas pesquisadas pautadas na toxicologia e ecotoxicologia, já relacionaram pesticidas com doenças associadas a instabilidade genética (câncer) e outras doenças crônicas, tais como malformações congênitas e doenças degenerativas (BOLOGNESI, 2003; VIDAU *et al.*, 2009; BHALLI *et al.*, 2009; BOLOGNESI; MORETTO, 2014).

O uso de pesticidas no Brasil segue regulamentação e avaliação toxicológica de três órgãos (IBAMA, MAPA e ANVISA). Os testes toxicológicos são realizados apenas com o ingrediente ativo isolado, não sendo, portanto, incluído nas análises toxicológicas os produtos formulados a base de ingredientes ativos em mistura (2 ou mais ingrediente ativo).

Neste sentido, avaliar os efeitos de inseticidas formulados a base de mais de um ingrediente ativo é de suma importância no intuito de prevenir doenças associadas a instabilidade genética.

Dentre os diferentes organismos modelos usados no rastreamento da genotoxicidade de diferentes xenobióticos, destaca-se a *Tradescantia pallida*, uma planta pertencente à família Commelinaceae, de origem mexicana, de aspecto herbáceo e com caule suculento, com coloração roxa (BIASIBETTI; ROSIN; HOSSANI, 2014). *T. pallida* é amplamente utilizado no rastreamento da genotoxicidade de diferentes xenobióticos ambientais (XISTO; MORGAN; FREITAS, 2017; RODRIGUEZ, 2016), por meio do Teste do Micronúcleo (Trad-MN). Este teste é eficiente no rastreamento de danos genéticos aberrantes, como quebra cromossômica e/ou não disjunção mitótica.

No intuito de contribuir com dados baseados na genética toxicológica, o presente trabalho teve como objetivo, avaliar o efeito mutagênico do inseticida comercial ampligo, por meio do Teste do Micronúcleo em *Tradescantia pallida*.

2. MATERIAL E MÉTODOS

2.1 Agentes químicos

Ampligo® foi obtido da empresa Syngenta, São Paulo, Brasil. Ampligo apresenta na sua formulação 50 g/L de Lambda-Cialotrina (CAS 91465-08-6), 100 g/L de clorantraniliprole (CAS 500008-45-7) e 930 g/L de ingredientes inertes.

A **Figura 1 (A)** mostra a estrutura química do Lambda-Cialotrina e **1(B)** do clorantraniliprole. Formaldeído (CAS 50-00-0) (**Figura 1C**) foi obtido da **Figura 1 (C)** apresenta a estrutura química da molécula.

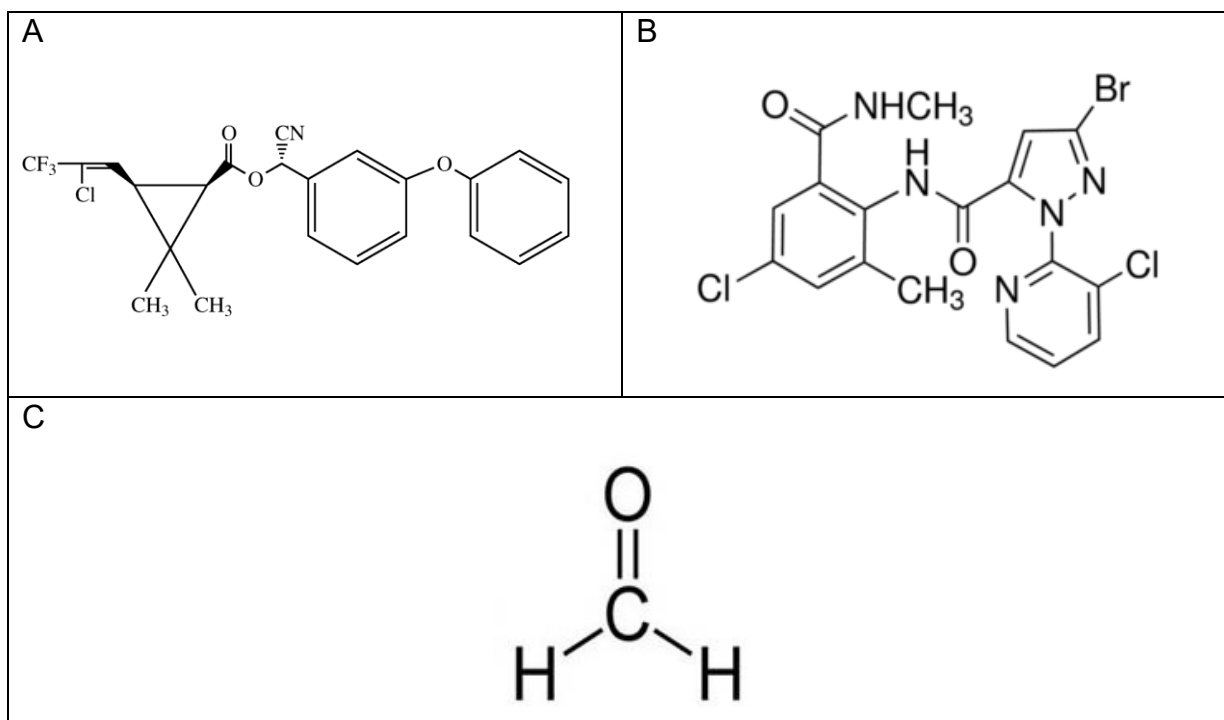


Figura 1. Estrutura química dos compostos. A. Fipronil; B: Formaldeído.

2.2 Material biológico

Tradescantia pallida (Rose) D.R. Hunt var. *purpurea* foram cultivadas em casa de vegetação na Universidade Federal de Uberlândia – UFU. A temperatura foi de 16°C durante a noite e 26°C durante o dia. A temperatura foi monitorada durante todo o experimento, não podendo apresentar temperatura inferior a 11°C. Na casa de vegetação, as *T. pallida* foram condicionadas a uma umidade relativa do ar entre 60-80%.

O cultivo de plantas foi feito em vasos com capacidade volumétrica de 1L. As plantas receberam fertilizante 10 dias antes do experimento e foram irrigadas duas vezes ao dia até o momento da coleta de hastes para os tratamentos.

A taxa de mutação espontânea foi avaliada mensalmente, não podendo estas apresentar mais que 2 MN por 100 tétrades analisadas.

2.3 Exposição de plantas

No experimento, foram utilizadas plantas derivadas de uma única planta mãe (reprodução assexuada). A utilização de plantas clones garantiu a isogenicidade das amostras, conforme descrito por Ma et al (1994).

Floreiras com no mínimo 15 plantas foram utilizadas no bioensaio. Hastes de 15 centímetros, com inflorescências jovens foram cortadas e submetidas à solução de Hoagland (HOAGLAND; ARNON, 1950) por 24 horas para aclimatização, seguido do tratamento por 24 horas.

As hastes foram expostas ao inseticida Ampligo nas concentrações de 2,66; 1,33; 0,665; 0,332 e 0,166 mL/L de solução. A escolha das concentrações foi baseada nas concentrações recomendadas pelo fabricante (1,33 mL/L), para o tratamento de cana-de-açúcar contra um amplo espectro de pragas. Sendo assim foi selecionada a concentração recomendada e três concentrações abaixo do recomendado. Adicionalmente foi usado a concentração de 2,66 mL/L objetivando avaliar o uso indiscriminado do pesticida no campo. A exposição foi feita por 24 h.

Formaldeído 0,2% foi utilizado como controle positivo, conforme descrito por Campos et al (2015). Como controle negativo foram empregados tratamentos em água obtida por sistema de osmose reversa.

Após o período de exposição, as hastes foram transferidas para béqueres contendo água obtida por sistema de osmose reverse, onde permaneceram em etapa de recuperação por 24 h.

2.4 Teste do Micronúcleo

Após aclimatização, exposição e recuperação, as inflorescências jovens foram imediatamente fixadas em solução Carnoy (3:1 de etanol e ácido acético glacial) por 24 horas e posteriormente conservadas em etanol 70%, onde permaneceram a uma temperatura de $8 \pm 2^{\circ}\text{C}$, até o momento das análises.

No momento das análises, as anteras obtidas dos botões coletados foram maceradas sobre lâminas para microscopia, após gotejamento com o corante carmim acético. Após a maceração e limpeza (descarte dos fragmentos das anteras), as lâminas foram cobertas com lamínulas e rapidamente aquecidas a 80°C

por 4s para fixação do corante nas tétrades. A frequência de micronúcleos foi apresentada como número de micronúcleos por 100 tétrades analisadas.

Para cada concentração de Ampligo®, 20 botões florais com células de grão de pólen em estado de tétrades foram empregados. Para cada concentração, 5 lâminas foram confeccionadas, dentre as quais foram avaliadas 300 tétrades quanto à presença de micronúcleos em microscópio óptico de luz sob magnificação de 400 vezes, como proposto por Ma e colaboradores (1994). Para cada concentração foram analisadas 1500 tétrades.

2.5 Análise estatística

Análise de Variância (ANOVA) foi usada para determinar a significância entre as concentrações de Ampligo® avaliadas. Valores de p inferiores a 0,05 foram considerados estatisticamente significantes. O teste de Tukey foi aplicado para realizar comparações entre as concentrações do pesticida e os grupos controle.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

No presente trabalho foi avaliado a capacidade mutagênica de diferentes concentrações do inseticida Ampligo®. Nas concentrações de 2,66 e 1,33 mL/L foi observado diferença estatisticamente significativa (Tukey, $p < 0,05$) quando comparado ao controle negativo (**Tabela 1**). Neste sentido, as maiores concentrações avaliadas neste trabalho demonstraram apresentar atividade mutagênica em *T. pallida*.

Na literatura, não existe dados sobre a atividade mutagênica/genotóxica de Ampligo®. Este inseticida representa um dos produtos formulados a base de dois ingredientes ativos mais utilizados no mercado, Lambda-cialotrina e o clorantraniliprole.

Embora seja escasso o número de artigos pautados na genética toxicológica, sobre o efeito de Ampligo no DNA, um acervo considerável de trabalhos estão disponíveis sobre os ingredientes ativos e seus efeitos de maneira isolada (CAVUSOGLU et al., 2011; ABDALLAH et al., 2012).

Tabela 1. Frequência de Micronúcleos em *Tradescantia pallida* tratadas com diferentes concentrações do inseticida Ampligo®

| Tratamentos mL/L | Tétrades analisadas | Frequência de micronúcleos/100 ± SD | Diagnóstico estatístico ^a |
|---------------------|------------------------|--|---|
| Controle negativo | 1500 | 1,00 ± 0,70 | |
| Controle positivo | 1500 | 23,90 ± 2,64 | + |
| Ampligo | | | |
| 0,166 | 1500 | 1,80 ± 0,44 | - |
| 0,332 | 1500 | 2,80 ± 0,83 | - |
| 0,665 | 1500 | 3,00 ± 1,58 | - |
| 1,33 | 1500 | 3,60 ± 1,67 | + |
| 2,66 | 1500 | 5,00 ± 1,87 | + |

^a Diagnóstico estatístico: + Médias com diferença estatisticamente significativa quando comparado ao controle negativo de acordo com o Teste de Tukey ($p < 0,05$); - Médias que não diferiram do controle negativo.

Ampligo (mL/L); Controle negativo: água obtida por sistema de osmose reverse; Controle Positivo: Formaldeído (0,2%).

Vieira e Reis Martinez (2018) avaliaram o efeito do piretróide Lambda-cialotrina sobre uma variedade de complexos enzimáticos e a integridade do material genético de *Prochilodus lineatus*, expostos por 96 h a 5, 50, 250 e 500 ng/L-1. Foi observado a mudança da atividade de enzimas em diferentes tecidos (esterases e acetilconisterase), sobretudo de enzimas com atividade antioxidante. Além disso, foi verificado peroxidação lipídica nas brânquias e nos rins dos peixes, decréscimo de cálcio e magnésio e aumento de sódio e potássio, resultando em desordem na osmorregulação do plasma. Além disso, foi observado danos no DNA em peixes expostos a todas as concentrações analisadas. Genotoxicidade em peixes expostos ao Lambda-cialotrina, já foram apresentados por Çavas e Ergene-Goçukara, 2003 e Gokalp-Muranli (2011).

Sallem et al (2014) avaliaram o efeito de Endosulfan e Lambda-cialotrina de maneira isolada e combinada, por meio do Teste Ames em diferentes linhagens de *Salmonella* (TA98 e TA100) antes e após (S9) metabolização. Os resultados revelaram atividade mutagênica nas maiores doses avaliadas dos inseticidas de

maneira isolada, principalmente após metabolização. Doses não mutagênicas de Endosulfan e Lambda-cialotrina quando combinadas apresentaram efeito sinérgico, passando a causar danos no material genético das diferentes linhagens de *Salmonella*.

Aumento do estresse oxidativo em ratos pela formação excessiva de espécies reativas de oxigênio (ERO) já foram observados em ratos tratados com diferentes concentrações de Lambda-cialotrina, potencializando os efeitos mutagênicos indiretos (FETOUI et al., 2015; YAHIA e ALI, 2018). Além disso, já foi apresentado por diferentes autores, efeitos mutagênicos e genotóxicos proporcionados por Lambda-cialotrina em culturas de linfócitos humanos em diferentes concentrações (NARAVANENI e JAMIL, 2005; MURANLI, 2013).

Pouco mais de 290 artigos estão disponíveis sobre o clorantraniliprole. Embora exista um acervo considerável de dados bioquímicos de clorantraniliprole em diferentes espécies, não existe no momento dados sobre os efeitos do ingrediente ativo sobre o DNA, demonstrando claramente a necessidade de mais pesquisas com a molécula. Alguns autores mostram que clorantraniliprole é um forte indutor de ERO, os quais aumentam o estresse oxidativo (CUI et al., 2017; LIU et al., 2018), podendo gerar danos no DNA de espécies não alvas de combate.

T. pallida tem demonstrado ser um organismo modelo eficiente no rastreio da genotoxicidade induzida por diferentes xenobióticos ambientais (XISTO; MORGAN; FREITAS, 2017; RODRIGUEZ, 2016). Os resultados sobre os efeitos mutagênicos de Ampligo® em *T. pallida* são concordantes com os dados referente a genotoxicidade apresentadas por Lambda-cialotrina. Embora não tenha sido avaliado neste trabalho o mecanismo indutor de MN em *T. pallida*, os dados encontrados de Lambda-cialotrina e clorantraniliprole indicam que o inseticida Ampligo® causa alteração genética do tipo MN por meio do aumento do estresse oxidativo, via liberação ERO, conforme apresentado na literatura (FETOUI et al., 2015; CUI et al., 2017; LIU et al., 2018; YAHIA e ALI, 2018).

4. CONCLUSÃO

Nas condições experimentais testadas, nas concentrações de 2,66 e 1,33 mL/L, Ampligo® incrementou aumento na frequência de MN em *T. pallida*, apresentando por tanto, atividade mutagênica. Mais estudos dever ser conduzidos,

objetivando mais dados pautados na genética toxicológica sobre os efeitos do produto formulado no DNA de espécies não alvas de combate.

REFERÊNCIAS

AAJOUD, A.; RAVANEL, P., TISSUT, M. Fipronil metabolism and dissipation in a simplified aquatic ecosystem. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 51:1347-1352, 2003.

ABDALLAH, F. B.; FETOUI, H.; FAKHFAKH, F.; KESKES, L. Caffeic acid and quercetin protect erythrocytes against the oxidative stress and the genotoxic effects of lambda-cyhalothrin in vitro. *Hum Exp Toxicol*. V. 31, n.1, p. 92-100, 2012.

ANVISA – AGÊNCIA DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA. Consulta Pública. Disponível em: <http://portal.anvisa.gov.br/documents/111215/117782/C70%2B-%2BClorantraniliprole.pdf/d829201c-8410-4936-b8be-7301fc6c6d0d>. Acesso em 17/04/2018.

ANVISA – AGÊNCIA DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA. Consulta Pública. Disponível em: <http://portal.anvisa.gov.br/documents/111215/117782/C63%2B%25E2%2580%2593%2BLambda-Cialotrina.pdf/f869cb4d-767b-4e86-80b3-f7639f879b60>. Acesso em 17/04/2018.

BIASIBETTI, L., ROSIN, C. K., HOUSSANI, M. T. (2014). *MORFOLOGIA VEGETAL TRADESCANTIA PALLIDA PURPUREA*. ensaio teorico, universidade regional unijui, ciência, unijui. Acesso em 21 de maio de 2018, disponível em https://scholar.google.com.br/scholar?hl=pt-BR&as_sdt=0%2C5&q=MORFOLOGIA+VEGETAL+TRADESCANTIA+PALLIDA+PURPUREA&btnG=

CAVUSOGLU, K.; YAPAR, K.; ORUC, E.; YALCIN, E. The protective effect of royal jelly on chronic lambda-cyhalothrin toxicity: serum biochemical parameters, lipid peroxidation, and genotoxic and histopathological alterations in swiss albino mice. *J Med Food*. V. 14, n.10, p. 12229-1237, 2011.

CORDOVA, D., BENNER, E. A.; SACHER, M. D.; RAUH, J. J.; SOPA, J .S.; LAHM, G. P.; SELBY, T. P. Anthranilic diamides: a new class of insecticides with a novel mode of action, ryanodine receptor activation. *Pesticide Biochemistry Physiology, Maryland Heights*, v. 84, n.1, p.196-214. 2006.

BHALLI, J. A.; ALI, T.; ASI, M. R.; KHALID, Z. M.; CEPPI, M.; KHAN, Q. M. DNA damage in Pakistani agricultural workers exposed to mixture of pesticides. *Environmental and Molecular Mutagenesis*. 50: 37-45, 2009.

BOBÉ, A.; COOPER, J.; COSTE, C.M.; MULLER, M. Behavior of fipronil in soil under sahelian plain field conditions. *Pest Management Science*. 52: 275-281, 1998.

BOLOGNESI, C. Genotoxicity of pesticides: a review of human biomonitoring studies. *Mutation Research*. 543: 251-272, 2003.

BOLOGNESI, C.; MORETTO, A. Genotoxic risk in rubber manufacturing industry: a systematic review. *Toxicology Letters*. 230: 345-355, 2014.

CAMPOS, C.F.; PEREIRA, B.B.; CAMPOS JÚNIOR, E.O; SOUSA, E.G.; SOUTO, H.N.; MORELLI, S. Genotoxic evaluation of the River Paranaíba hydrographic basin in Monte Carmelo, MG, Brazil, by the *Tradescantia* micronucleus. *Genetics and Molecular Biology*. V. 38, n.4, 2015.

ÇAVAS, T.; ERGENE-GOZUKARA, S. Evaluation of the genotoxic potential of lambda-cyhalothrin using nuclear and nucleolar biomarkers on fish cells. *Mutat Res*. V. 534, n. 1-2, p. 94-99, 2003.

ÇELİK, A.; EKINCI, S. Y.; GULER, G.; YILDIRIM, S. *In vitro* genotoxicity of Fipronil sister chromatid exchange, cytokinesis block micronucleus test, and comet assay. *DNA and Cell Biology*. 33: 148-154, 2014.

COLE, L. M.; NICHOLSON, R. A.; CASIDA, J. E. Action of phenylpyrazole insecticides at the GABA-gated chloride channel. *Pesticide Biochemistry Physiology*: 46, 47-54, 1993.

CONNELLY, P. Environmental fate of fipronil. California environmental protection agency. Department of Pesticide Regulation. 01-17, 2001.

CUI, F.; CHAI, T.; QIAN, L.; WANG, C. Effects of three diamides (chlorantraniliprole, cyantraniliprole and flubendiamide) on life history, embryonic development and oxidative stress biomarkers of *Daphnia magna*. *Chemosphere*, v. 169, p. 10-116, 2017.

DAS, P. C., CAO, Y., CHERRINGTON, N., HODGSON, E., & ROSE, L. R. Fipronil induces CYP isoforms and cytotoxicity in human hepatocytes. *Chemical Biological Interactions*. 164, 200-214, 2006.

ECOBICHON, D.J. Our changing perspectives on the benefits and risks of pesticides: a historical overview. *Neurotoxicology*, 21, 211-218, 2000.

EL HASSANI, A.K.; DACHER, M.; GAUTHIER, M.; ARMENGAUD, C. Effect of sublethal doses of fipronil on the behavior of the honeybee (*Apis mellifera*). *Pharmacology Biochemistry and Behavior*. 82: 30-39, 2005.

EUROPEAN COMMISSION. EU Pesticides database. 2010. Disponível em: <http://ec.europa.eu/sanco_pesticides/public/index.cfm>. Acesso em: 18 setembro. 2014.

FETOUI, H.; FEKI, A.; SALAH, G. B.; KAMOUN, H.; FAKHFAKH, F.; GDOURA, R. Exposure to lambda-cyhalothrin, a synthetic pyrethroid, increases reactive oxygen species production and induces genotoxicity in rat peripheral blood. *Toxicol Ind Health*. V. 31, n. 5, p. 433-441, 2015.

GHISI NDE, C.; RAMSDORF, W. A.; FERRARO, M. V.; DE ALMEIDA, M. I.; RIBEIRO, C. A.; CESTARI, M. M. Evaluation of genotoxicity in *Rhamdia quelen* (Pisces, Siluriformes) after sub-chronic contamination with Fipronil. Environmental Monitoring Assessment. 180: 589-599, 2011.

GOKALP MURANLI, F. D.; GUNER, U. Induction of micronuclei and nuclear abnormalities in erythrocytes of mosquito fish (*Gambusia affinis*) following exposure to the pyrethroid insecticide lambda-cyhalothrin. Mutat Res. V. 726, n. 2, p. 104-108, 2011.

GUNASEKARA, A.; TROUNG, T. Environmental fate of fipronil. California Environmental Protection Agency. 1-28, 2007.

HERNANDEZ, A. F.; LOPEZ, O.; RODRIGO, L.; GIL, F.; PENA, G.; SERRANO, J. L.; PARRON, T.; ALVAREZ, J. C.; LORENTE, J. A.; PLA, A. Changes in erythrocyte enzymes in humans long-term exposed to pesticides: influence of several markers of individual susceptibility. Toxicology Letters. 159: 13-21, 2005.

HOUK, V.S. The genotoxicity of industrial wastes and effluents. Mutation Research. 277: 91-138, 1992.

LAVTIZAR, VESNA; HELMUS, R.; RICK, KOOLS S.A. E.; DOLENC, D.; VAN GESTEL, C.A.M. ; TREBSE, P.; WAAIJERS, S.L.; KRAAK, M.H.S. Daphnid Life Cycle Responses to the Insecticide Chlorantraniliprole and Its Transformation Products. ENVIRONMENTAL SCIENCE & TECHNOLOGY. Volume: 49 Edição: 6 . p. 3922-3929, 2015.

LE FAUDER, J.; BICHON, E.; BRUNSCHWIG, P.; LANDELLE, R.; ANDRE, F.; LE BIZEC, B. Transfer assessment of fipronil residues from feed to cow milk. Talanta. 1: 710-717, 2007.

LIU, T.; WANG, X.; CHEN, D.; LI, Y.; WANG, F. Growth, reproduction and biochemical toxicity of chlorantraniliprole in soil on earthworms (*Eisenia fetida*). Ecotoxicol Environ Saf. V. 150, p. 18-25, 2018.

LOURENÇO, C. T.; CARVALHO, S. M.; MALASPINA, O.; NOCELLI, R. C. Oral toxicity of Fipronil insecticide against the stingless bee *Melipona scutellaris* (Latreille, 1811). Bulletin Environmental Contamination Toxicology. 89: 921-924, 2012.

LEGHAIT, J.; VÉRONIQUE, G.; NICOLE, P.H.; MARION, C.; ELISABETH, P.; PIERRE-LOUIS, T.; CATHERINE, V. Fipronil induced disruption of thyroid function in rats is mediated by increased total and free thyroxine clearances concomitantly to increased activity of hepatic enzymes. Toxicology. 255: 38-44, 2009.

MA, T. H., CABRERA, G. L., CHEN, R., GILL, B. S., SANDHU, S. S., VANDENBERG, A. L., ALAMONE, M. F. 1994. Tradescantia micronucleus bioassay. Mutat. Res. 310: 221-230.

MORAIS, C.R.; BONETTI, A.M; CARVALHO, S.M; REZENDE, A.A.A; ARAÚJO, G.R; SPANÓ, M.A. Assessment of the mutagenic, recombinogenic and carcinogenic insecticide in somatic cells of *Drosophila melanogaster*. Chemosphere, v. 165, p. 342-351, 2016.

MORAIS, C.R; CARVALHO, S.M; NAVES, M.P.C; ARAÚJO, G; REZENDE, A.A.A; BONETTI, A.M; SPANÓ, M.A. Mutagenic, recombinogenic and carcinogenic potential of thiametoxam insecticide and formulated product in somatic cells of *Drosophila melanogaster*. Chemosphere, v. 187, p. 163-172, 2017.

MURANLI, F. D. Genotoxic and cytotoxic evaluation of pyrethroid insecticides lambda-cyhalothrin and alpha-cypermethrin on human blood lymphocyte culture. Bull Environ Contam Toxicol. V. 90, n. 3, p. 357-363, 2013.

NARAVANENI, R.; JAMIL, K. Evaluation of cytogenetic effects of lambda-cyhalothrin on human lymphocytes. J Biochem Mol Toxicol. V. 19, n. 5, p. 304-310, 2005.

OHI, M.; DALSENTER, P. R.; ANDRADE, A. J. M.; NASCIMENTO, A. J. Reproductive adverse effects of fipronil in winstar rats. Toxicology Letters. 146: 121-127, 2004.

RODRIGUES, A. C.; GRAVATO, C.; QUINTANEIRO, C.; GOLOVKO, O.; ZLABEK, V.; BARATA, C.; SOARES, A. M.; PESTANA, J. L. Life history and biochemical effects of chlorantraniliprole on *Chironomus riparius*. Sci Total Environ. V. 508, n. 1, p. 506-513, 2015.

RODRIGUEZ, Y. A. (2016). POTENCIAL TÓXICO E GENOTÓXICO DO INSETICIDA IMIDACLOPRIDO EM ORGANISMOS NÃO ALVOS. Tese de Doutorado, Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho" Instituto de biociências Rio Claro, Biologia Celular e Molecular, Rio Claro. Acesso em 06 de Maio de 2018, disponível em https://scholar.google.com.br/scholar?hl=pt-BR&as_sdt=0%2C5&q=POTENCIAL+T%3%93XICO+E+GENOT%3%93XICO+D O+INSETICIDA+IMIDACLOPRIDO+EM+ORGANISMOS+N%3%83O+ALVOS&btn G=

SALEEM, U.; EJAZ, S.; ASHRAF, M.; OMER, M. O.; ALTAF, I.; BATOOL, Z.; FATIMA, R.; AFZAL, M. Mutagenic and cytotoxic potential of Endosulfan and Lambda-cyhalothrin - in vitro study describing individual and combined effects of pesticides. J Environ Sci (China). V. 27, n. 7, p. 1471-1479, 2014

SODERLUND, D.M; BLOOMQUIST, J.R. Neurotoxic action of pyrethroid insecticides. Ann. Ver. Entomol., v. 34, p. 77-96, 1989.

STENERSEN, J. Chemical pesticides: Modes of action and toxicology. CRC PRESS. 1: 1-271, 2004.

STENERSEN, J. Chemical pesticides: Modes of action and toxicology. CRC PRESS. 1: 1-271, 2004.

TSUTSUI, T.; MAIZUMI, H.; BARRETI, J.C. Colcemid-induced neoplastic transformation and aneuploidy in Syrian hamster embryo cells. *Carcinogenesis*. 5: 89-93, 1984.

VIDAU, C.; BRUNET, J.; BADIOU, A.; BELZINCES, L.P. Phenylpyrazole insecticides induce cytotoxicity by altering mechanisms involved in cellular energy supply in the human epithelial cell mode Caco-2. *Toxicology in Vitro*. 23: 589-597, 2009.

VIEIRA, C. E. D.; Dos REIS MARTINEZ, C. B. The pyrethroid lambda-cyhalothrin induces biochemical, genotoxic, and physiological alterations in the teleost *Prochilodus lineatus*. *Chemosphere*. V. 210, n. 958-967, 2018.

XISTO, Luana Aparecida DUARTE; MORGAN, Nicolle MARTINS TEBET; FREITAS, Nobel PENTEADO DE. UTILIZAÇÃO DA ESPÉCIE *Tradescantia pallida* cv. *purpurea* COMO BIOINDICADORA DA QUALIDADE DO AR, ATRAVÉS DE BIOENSAIO DE MICRONÚCLEO. *Revista da Universidade Vale do Rio Verde, Três Corações*, v. 15, n. 2, p. 812-821, ago./dez. 2017.

YAHIA, D.; ALI, M. F. Assessment of neurohepatic DNA damage in male Sprague-Dawley rats exposed to organophosphates and pyrethroid insecticides. *Environ Sci Pollut Res Int*. v. 25, n. 16, p. 15616-15629, 2018.