UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO
CENTRO DE TECNOLOGIA E GEOCIÊNCIAS
DEPARTAMENTO DE OCEANOGRAFIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM OCEANOGRAFIA

JÉSSICA ALESSANDRA DA SILVA MOURA

# AVALIAÇÃO DA ECOTOXICIDADE EM ORGANISMOS AQUÁTICOS DE DOIS LARVICIDAS PARA CONTROLE DO *AEDES AEGYPTI*: Dodecanol (natural) × Piriproxifeno (sintético)

Recife
2019

**JÉSSICA ALESSANDRA DA SILVA MOURA**

# AVALIAÇÃO DA ECOTOXICIDADE EM ORGANISMOS AQUÁTICOS DE DOIS LARVICIDAS PARA CONTROLE DO *AEDES AEGYPTI*: Dodecanol (natural) × Piriproxifeno (sintético)

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Oceanografia da Universidade Federal de Pernambuco, como requisito parcial para a obtenção do título de mestre em Oceanografia.

**Área de concentração:** Oceanografia Biológica.

**Orientadora:** Profª Drª Lília Pereira de Souza Santos

**Coorientadora:** Profª Drª Daniela do Amaral Ferraz Navarro

**Recife**

**2019**

Catalogação na fonte
Bibliotecária Maria Luiza de Moura Ferreira, CRB-4 / 1469

M929a Moura, Jéssica Alessandra da Silva.
Avaliação da ecotoxicidade em organismos aquáticos de dois larvicidas para controle do Aedes Aegypti: Dodecanol (natural) × Piriproxifeno (sintético) / Jéssica Alessandra da Silva Moura. - 2019.
73 folhas, il., tab., abr. e sigl.

Orientadora: Profª. Drª. Lília Pereira de Souza Santos.
Coorientadora: Profª. Drª. Daniela do Amaral Ferraz Navarro.

Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal de Pernambuco. CTG. Programa de Pós-Graduação em Oceanografia, 2019.
Inclui Referências.

1. Oceanografia. 2. Pesticida. 3. Piriproxifeno. 4. Dodecanol. 5. Toxicidade aquática. 6. Risco ambiental. 7. Índice de periculosidade química. I. Santos, Lilia Pereira de Souza (Orientadora). II. Navarro, Daniela do Amaral Ferraz (Coorientadora). III. Título.

UFPE

551.46 CDD (22. ed.) BCTG/2019-473

**Jéssica Alessandra da Silva Moura**

**AVALIAÇÃO DA ECOTOXICIDADE EM ORGANISMOS AQUÁTICOS DE DOIS LARVICIDAS PARA CONTROLE DO *AEDES AEGYPTI*: Dodecanol (natural) × Piriproxifeno (sintético)**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Oceanografia da Universidade Federal de Pernambuco, como requisito parcial para a obtenção do título de mestre em Oceanografia.

Defendida e aprovada em 30 de agosto de 2019.

**Folha de Aprovação - Banca Examinadora:**

_____

Profa. Dra. Lília Pereira de Souza Santos
(Orientadora e presidente da banca)

_____

Profa. Dra. Monica Ferreira da Costa
(Titular interna - Universidade Federal de Pernambuco)

_____

Prof. Bruno Mendes Tenorio
(Titular externo - Universidade Federal da Paraíba)

Aos meus pais, Maria do Carmo e João;

e à minha avó Nair (*in memoriam*).

## AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus, que foi meu grande e principal companheiro nessa jornada, aquele que me ama incondicionalmente e não me deixa sozinha nem um segundo, inclusive que me inspira a trabalhar visando o bem maior. Obrigada mãe e pai por serem meus exemplos mais próximos de amor e superação; pelo carinho, cuidado e ensinamentos ricos em simplicidade e verdade. Amo-os demais e farei o possível para vê-los bem. A minha vó Nair (*in memoriam*) por ter moldado a minha personalidade e por todo bem que fez enquanto esteve ao nosso lado.

Agradeço a minha orientadora, Profª Lília Santos, pelo apoio e compreensão nos momentos difíceis e pela oportunidade e aprendizado que me proporcionou no LACE. Obrigada a minha coorientadora, Profª Daniela Navarro, pela cordialidade e materiais fornecidos. Agradeço ao Profº Gilvan Yogui pela disposição em tirar dúvidas e sanar problemas metodológicos, pelos materiais fornecidos e por, juntamente com a Profª Mônica Costa, contribuírem no aprimoramento do projeto ao longo dos seminários internos do PPGO. Agradeço previamente aos demais membros da banca, Drº Bruno Tenório e Drª Beatriz Lavorante, pela contribuição nesse processo.

Um agradecimento especial ao CNPq pela concessão da bolsa de mestrado, sem esse auxílio provavelmente eu não estaria concluindo esse trabalho. Que este órgão seja mais reconhecido e valorizado pela atual gestão do país!

Aos meus familiares, especialmente os tios Geovanna (*in memoriam*), Ladjane, Givaldo e Zinho, agradeço pelo suporte oferecido e torcida de sempre. Rayan, meu filhinho do coração (afilhado), seu irmãozinho Raí e Nena, sou grata pela vida de vocês, pureza, alegria e luz irradiadas que contagiam todos. Aos meus irmãos, principalmente a Nado pela disposição e palavras de apoio e Del pelo incentivo nos estudos. Obrigada primas, Ray, Nally e Beca pelos momentos compartilhados, embora cada vez mais raros, devido aos compromissos diários, mas sempre regados de carinho e boa energia. Amo vocês!

Obrigada às minhas amigas mais próximas que me ajudaram muito nessa fase difícil... Wialla, Bárbara, Belle e tia Bete. Obrigada por me ouvirem e ajudarem a aliviar a pressão, por cada palavra, conselho, oração; as quero muito bem! A toda equipe do LACE, pelo companheirismo e energia positiva; em especial a Beta por partilhar boas conversas, conhecimentos, lanches (hahaha) e por estar sempre disposta a ajudar; Heitor e Lari por me

ajudarem muito com os experimentos e pelas boas risadas; a Nirvana, Carol, Loh, Elias, Cíntia, Bruno, Robertinha e Bea por todo apoio. Aos colegas do Loquim: Keyla, Jamerson, Breno e o Profº Manuel pela ajuda e materiais emprestados, além de Camilla e Ana Paula do Ladim, pelas vidrarias fornecidas. Aos professores e colegas de curso pela partilha de conhecimentos e experiências. Aos demais amigos... Amanda, Sayo, Rafa, Kleyton, Cris, Liza, Lílian, Ariane, D. Iraci, Branca, Seu Wilson e aos colegas do IBGE pelo apoio e torcida.

Não posso deixar de agradecer aos padres da Paróquia de São Lourenço Mártir, Pe. Valdemir e Pe. Severino, que com o serviço prestado fortaleceu a minha comunhão com Cristo, me ajudando a superar as adversidades; às minhas amigas de fé, Lio e Dani, pelas experiências compartilhadas e a Antônia da Comunidade Católica Shalom, pela acolhida e orações.

Agradeço ainda aos problemas que passei durante essa fase, pois sem eles certamente eu não teria colhido tantos frutos... Em tão pouco tempo, eles me impulsionaram a aprender o verdadeiro significado da fé, e ainda, aprimoraram em mim a paciência, criatividade, força, persistência. Tudo que é bom emana de Deus, o que é mal decorre da falta de Deus, assim como a escuridão é a falta da luz; mas Ele é tão bom que até do mal extrai para nós um bem maior!

Espero que este trabalho possa contribuir para a tomada de decisões nos poderes públicos e privados, visando o equilíbrio entre saúde pública, ambiental e desenvolvimento sustentável. E como disse Santo Agostinho: “A esperança tem duas filhas lindas, a indignação e a coragem; a indignação nos ensina a não aceitar as coisas como estão; a coragem, a mudá-las.”

**RESUMO**

O controle de pragas da agricultura e insetos vetores de doenças tem sido um constante desafio, devido principalmente à resistência desenvolvida pelos mesmos aos pesticidas utilizados e à preocupação com a segurança a saúde humana e ambiental. O controle da proliferação do *Aedes aegypti* no Brasil tem sido feito por um larvicida que utiliza o piriproxifeno (PPF) como princípio ativo. O piriproxifeno é um análogo ao hormônio juvenil, que inibe o desenvolvimento da larva de insetos até a fase adulta, atuando como desregulador endócrino. Porém, estudos apontam que o PPF pode atingir de maneira indesejada outros organismos. Foi realizado um levantamento bibliográfico de toxicidade aguda e crônica do PPF em organismos aquáticos não-alvo, além de contaminação em matrizes ambientais. Apesar de poucos estudos desenvolvidos, os resultados mostraram que concentrações ambientais de PPF podem afetar significativamente *Daphnia magna* apresentando alto risco a essa espécie, com prováveis efeitos na reprodução e risco de morte ocasional. Outras espécies que apresentaram efeitos significativos ao PPF foi um peixe dulcícola (*Xiphophorus maculatus*) e crustáceos estuarinos (*Eurytemora affinis* e *Leander tenuicornis*). A busca por substâncias com efeito larvicida que sejam mais efetivas e seguras deve ser constante. Nesse contexto, o dodecanol é uma substância natural, presente em alguns extratos vegetais, com eficiência contra larvas de *A. aegypti*. Apesar de natural, o dodecanol é considerado nocivo a organismos aquáticos devido ao elevado fator de hidrofobicidade, sugerindo afinidade por moléculas orgânicas e possibilidade de bioacumulação. Por esse motivo, a toxicidade sub-letal deste composto foi testada no desenvolvimento do copépodo marinho *Tisbe biminiensis*, da fase de náuplio para copepodito. O experimento foi replicado 4 vezes com diferentes proles sob exposição estática e um teste adicional com renovação diária dos meios de exposição. A partir dos percentuais de desenvolvimento foram estimados os valores de CENO (concentração de efeito não observado), CEO (concentração de efeito observado) e CE50 (concentração efetiva a 50%): 10,66, 15,99 e 26,65 mg $L^{-1}$, respectivamente. Os valores tóxicos do docecanol ao desenvolvimento de *T. biminiensis* estão na mesma ordem de grandeza que os valores efetivos para controle do *A. aegypti*, enquanto o piriproxifeno apresenta alta toxicidade para *D. magna* e *X. maculatus* em concentrações em ordem de grandeza inferior

à concentração efetiva para tratamento larvicida. Foi sugerido um novo índice para avaliar a periculosidade química de substâncias em ecossistemas aquáticos, com base na relação dos fatores físico-químicos do composto avaliado com uma substância de referência de baixa toxicidade. O índice sugere menor periculosidade do dodecanol em comparação com outros pesticidas testados. Visando aprimorar a avaliação de risco, sugerimos maior levantamento da contaminação em matrizes ambientais e estudos toxicológicos em organismos aquáticos não-alvo abrangendo diversos táxons para ambas as substâncias abordadas.

**Palavras-chave:** Pesticida. Piriproxifeno. Dodecanol. Toxicidade aquática. Risco ambiental. Índice de periculosidade química.

**ABSTRACT**

The control of agricultural pests and disease-bearing insects has been a constant challenge, mainly due to their resistance to the pesticides used and the concern with safety to human and environmental health. The control of *Aedes aegypti* proliferation in Brazil has been done by a larvicide that uses pyriproxyfen (PPF) as an active ingredient. Pyriproxyfen is a juvenile hormone analogue that inhibits the development of insect larvae into adult, acting as an endocrine disruptor. However, studies point out that PPF can unintentionally affect other organisms. A bibliographic research of acute and chronic toxicity of PPF in non-target aquatic organisms, as well as contamination in environmental matrices was performed. Despite the few studies developed, the results showed that environmental concentrations of PPF can significantly affect *Daphnia magna* presenting high risk to this species, with probable reproductive effects and risk of occasional survival risk. Other species that had significant effects on PPF were a freshwater fish (*Xiphophorus maculatus*) and estuarine crustaceans (*Eurytemora affinis* and *Leander tenuicornis*). The search for more effective and safe larvicidal substances should be constant. In this context, dodecanol is a natural substance present in some plant extracts with efficiency against *A. aegypti* larvae. Although natural, dodecanol is considered harmful to aquatic organisms due to the high hydrophobicity factor, suggesting affinity for organic molecules and possibility of bioaccumulation. For this reason, the sublethal toxicity of this compound was tested in the development of the marine copepod *Tisbe biminiensis*, from the nauplii to copepodite phase. The experiment was replicated 4 times with different offspring under static exposure and an additional test with daily renewal of exposure media. From the developmental percentages were estimated the values of NOEC (unobserved effect concentration), LOEC (observed effect concentration) and EC50 (50% effective concentration): 10.66, 15.99 and 26.65 mg $L^{-1}$, respectively. The toxic values of docecanol for *T. biminiensis* development are in the same order of magnitude as the effective values for the control of *A. aegypti*, while pyriproxyfen is highly toxic to *D. magna* and *X. maculatus* at concentrations below the effective concentration for larvicide treatment. A new index was suggested to evaluate the chemical hazardousness of substances in aquatic ecosystems based on the relationship of the physicochemical factors of the evaluated compound with a low toxicity reference

substance. The index suggests lower dodecanol hazard compared to other pesticides tested. In order to improve the risk assessment, we suggest further survey of contamination in environmental matrices and toxicological studies in non-target aquatic organisms covering several taxa for both substances approached.

**Keywords:** Pesticide. Pyriproxyfen. Dodecanol. Aquatic toxicity. Environmental risk. Chemical hazard index.

**LISTA DE FIGURAS**

**Artigo 1**

**Figura 1 -** Estrutura química do piriproxifeno. ..... 21

**Artigo 2**

**Figura 1 -** Percentual de desenvolvimento dos náuplios de *Tisbe biminiensis* expostos a concentrações de dodecanol. Os percentuais são valores médios relativos ao controle e as barras representam um desvio padrão. Os números de 1 a 4 presentes no canto inferior esquerdo de cada gráfico identificam os experimentos realizados com proles independentes. ..... 53

**Figura 2 -** Estimativa da CE50 do dodecanol no desenvolvimento de *Tisbe biminiensis* para os quatro experimentos independentes. A linha tracejada indica o valor médio da CE50 entre os experimentos. As barras de erro representam o intervalo de confiança a 95%. ..... 53

**Figura 3 -** Curvas do percentual de desenvolvimento nos experimentos com meio de exposição estática e com renovação diária. ..... 54

**LISTA DE TABELAS**

**Artigo 1**

**Tabela 1 -** Fatores fisico-químicos e degradabilidade do piriproxifeno. ..... 24

**Tabela 2 -** Contaminação por piriproxifeno em matrizes ambientais. ..... 25

**Tabela 3 -** Toxicidade aguda e crônica do piriproxifeno em organismos aquáticos não-alvo..... 30

**Tabela 4 -** Estimativa de risco do piriproxifeno para organismos aquáticos não-alvo. ..... 37

**Artigo 2**

**Tabela 1 -** Fatores fisico-químicos e índices de periculosidade química a ecossistemas aquáticos..... 56

**Tabela 2 -** Ecotoxicidade de substâncias químicas em Tisbe biminiensis. ..... 57

**Tabela 3 -** Toxicidade do dodecanol para espécies aquáticas. ..... 58

## LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

| | |
|---|---|
| **ANOVA** | Análise de variância |
| **APA** | Área de Proteção Ambiental |
| **CAS** | Chemical Abstracts Service |
| **CE50** | Concentração de efeito a 50% |
| **CE90** | Concentração de efeito a 90% |
| **CENO** | Concentração de efeito não observável |
| **CEO** | Concentração de efeito observável |
| **CEPENE** | Centro Nacional de Pesquisa e Conservação da Biodiversidade Marinha do Nordeste |
| **CL50** | Concentração letal a 50% |
| **DMSO** | Dimetilsulfóxido |
| **DDT** | Diclorodifeniltricloroetano |
| **dpf** | dias pós fertilização |
| **DT50** | Tempo de declínio a 50% |
| **EUA** | Estados Unidos da América |
| **FBC** | Fator de bioconcentração |
| **HJ** | Hormônio juvenil |
| **hpf** | horas pós fertilização |
| **IBAMA** | Instituto Brasileiro do Meio Ambiente e dos Recursos Naturais Renováveis |
| **$IPQ_{aqua}$** | Índice de periculosidade química em ecossistemas aquáticos |
| **IUPAC** | União Internacional de Química Pura e Aplicada |
| **$k_{oc}$** | Coeficiente de partição carbono orgânico-água |
| **$k_{ow}$** | Coeficiente de partição octanol-água |
| **LACE** | Laboratório de Cultivo e Ecotoxicologia |
| **LD** | Limite de detecção |
| **LQ** | Limite de quantificação |
| **MPS** | Material particulado em suspensão |
| **nd** | não detectado |
| **nq** | não quantificado |

| | |
|---|---|
| **OMS** | Organização Mundial de Saúde |
| **PressV** | Pressão de vapor |
| **PPF** | Piriproxifeno |
| **QR** | Quociente de risco |
| **S.A.** | Sistema aquático |
| **$T_{mv}$** | Tempo de meia vida |
| **EU** | União Europeia |
| **V/V** | volume/volume |

**SUMÁRIO**


**1 INTRODUÇÃO ..... 16**

**1.1 Objetivo geral ..... 17**

**1.2 Objetivos específicos ..... 17**

**2 ARTIGO 1 - ECOTOXICIDADE AGUDA E CRÔNICA DO PIRIPROXIFENO EM ANIMAIS AQUÁTICOS NÃO-ALVO ..... 19**

**3 ARTIGO 2 - ANÁLISE DA ECOTOXICIDADE DO DODECANOL NO COPÉPODO MARINHO *TISBE BIMINIENSIS:* SUBSTÂNCIA NATURAL COM EFEITO LARVICIDA PARA O CONTROLE DO *AEDES AEGYPTI* ..... 45**

**4 CONSIDERAÇÕES FINAIS ..... 64**

**REFERÊNCIAS ..... 65**

# 1 INTRODUÇÃO

Diariamente, mais de 200 mil produtos químicos sintéticos são introduzidos no ambiente visando melhorar a qualidade de vida das pessoas (MIRANDA FILHO *et al*., 2008). Estes compostos são amplamente utilizados como princípio ativo de fármacos e na formulação de pesticidas, com intuito inicial de acabar ou prevenir doenças. Porém, quando as suas atividades tóxicas não são bem conhecidas, acabam trazendo prejuízos à saúde ambiental e humana. Um exemplo clássico desse problema ocorreu com o DDT, pesticida sintético responsável por erradicar a malária em vários países (CLARK, 2001), mas que também trouxe efeitos desastrosos à vida em nível mundial, incluindo a incidência de câncer em humanos (MIRANDA FILHO *et al*., 2008). Portanto, a busca por substâncias naturais com menor toxicidade e maior biodegradabilidade para utilização como fármacos, larvicidas e cosméticos tem crescido nos últimos anos.

Atualmente, enfrentamos um problema desafiador: inibir a proliferação do *Aedes aegypti*, vetor de doenças pouco conhecidas como chikungunya e febre zika, associada à microcefalia em recém-nascidos (OLIVEIRA & VASCONCELOS, 2016), além de dengue e febre amarela (BROWN *et al.*, 2013). Os larvicidas mais utilizados na década passada para controlar o *A. aegypti* foram os organofosforados temefós, porém os organismos tem desenvolvido resistência aos mesmos (LIMA *et al*., 2011). Por isso, vem crescendo a busca por novos compostos que apresentem melhor eficácia no combate ao *A. aegypti* (ZARA *et al*. 2016).

Desde 2014, um larvicida sintético chamado SUMILARV®, que tem o composto piriproxifeno como princípio ativo, vem sendo utilizado para controlar a proliferação do *A. aegypti* no Brasil, sendo aplicado em forma de grânulos em reservatórios de água (BRASIL, 2014). Além deste, também é utilizado no Brasil o TIGER 100® em culturas de algodão, café, algumas frutas, legumes, grãos e flores, para controle de pragas (SUMITOMO CHEMICAL DO BRASIL, 2019). Porém, estudos recentes indicam efeitos tóxicos consideráveis em organismos aquáticos (GINJUPALLI & BALDWIN, 2013; LINTON *et al.*, 2009; VIEIRA-SANTOS *et al.*, 2017), e ainda a possibilidade do mesmo ser responsável pelo surgimento abrupto de vários casos de microcefalia em recém nascidos no país (PARENS *et al*., 2017). Portanto, a busca por novos compostos eficazes e menos agressivos ao meio ambiente é constante.

Nessa ótica, compostos naturais, principalmente extratos e óleos vegetais, vem sendo estudados para fim larvicida contra o *A. aegypti* (CHUNG *et al*., 2012; DIAS & MORAES, 2014). O dodecanol, substância natural extraída de extratos vegetais, apresentou eficácia contra larvas de *Aedes aegypti* e foi apontado como possível alternativa (BEZERRA-SILVA, 2012; TABANCA *et al*., 2014).

O mar é o receptor final de compostos químicos usados diariamente, provenientes de aportes diretos de efluentes em rios ou da lixiviação do solo contaminado. Isso tem causado sérios problemas ambientais, afetando todo o ecossistema. A maioria dos estudos ecotoxicológicos é feito em animais de água doce, poucos trabalhos são desenvolvidos em organismos marinhos e estuarinos. Para evitar danos nos diversos ecossistemas aquáticos, é importante que os compostos para fim pesticida sejam testados quanto a sua toxicidade em organismos aquáticos não-alvo e verificados os potenciais riscos antes de considerar seus usos em larga escala no controle do *A. aegypti*. Por meio de bioensaios ecotoxicológicos é possível obter a relação dose-resposta, ou seja, concentração do produto químico capaz de causar um efeito negativo no organismo estudado. O estudo toxicológico do piriproxifeno e do dodecanol em organismos aquáticos, aliado à análise de alguns parâmetros físico-químicos de ambos, permite fazer uma inferência inicial sobre a segurança do uso dos dois compostos próximo à regiões ribeirinhas e costeiras.

## 1.1 Objetivo geral

Avaliar as substâncias dodecanol (natural) e piriproxifeno (sintética) quanto à periculosidade e ecotoxicidade aquáticas.

## 1.2 Objetivos específicos

- Fazer um levantamento das características físico-químicas e toxicológicas do piriproxifeno e do dodecanol;
- Fazer uma revisão bibliográfica da ecotoxicidade do piriproxifeno em organismos aquáticos;

- Avaliar a toxicidade sub-letal do dodecanol no desenvolvimento de náuplios de *Tisbe biminiensis,* através de estimativas de CENO, CEO e CE50;
- Desenvolver uma análise de periculosidade química para ambientes aquáticos;
- Aplicar o índice de periculosidade química para ambientes aquáticos, comparando os dois compostos estudados.

# 2 ARTIGO 1 - ECOTOXICIDADE AGUDA E CRÔNICA DO PIRIPROXIFENO EM ANIMAIS AQUÁTICOS NÃO-ALVO

Esta seção apresenta uma revisão bibliográfica da ecotoxicidade aguda e crônica em animais aquáticos não-alvo por piriproxifeno. Apresenta ainda as principais características físico-químicas do piriproxifeno, a contaminação de matrizes ambientais aquáticas por este composto, e estimativas de risco associadas ao uso do mesmo como larvicida.

## 2.1 RESUMO

Piriproxifeno (PPF) é uma substância sintética, análoga ao hormônio juvenil, com efeito regulador do crescimento de insetos. Tem sido mundialmente utilizado como pesticida na agricultura e em campanhas de saúde pública, inclusive no controle da proliferação do *Aedes aegypti*. Possui baixa volatilidade, alto valor de Kow, elevada labilidade em sistemas aquáticos aeróbicos, porém é considerado persistente em sistemas anaeróbicos, com tempo de meia vida de 288,9 dias. Os estudos de quantificação de piriproxifeno em matrizes ambientais aquáticas são bastante escassos e pontuais, não representativos da contaminação a nível regional e mundial. A água do Rio Júcar (Espanha) apresentou a maior concentração de PPF (99,59 ng $L^{-1}$) entre as matrizes analisadas, valor equivalente a 1% da dose máxima permitida pela Organização Mundial de Saúde para uso em água potável. Os estudos de toxicidade aquática aguda e crônica que apresentaram valores de CL50, CE50, CENO e CEO do piriproxifeno foram compilados e interpretados a fim de avaliar possíveis riscos aos organismos. O piriproxifeno causou alto risco em concentrações ambientais a *Daphnia magna*, com prováveis efeitos na reprodução e risco ocasional na sobrevivência. Esta espécie foi a mais sensível ao pesticida, com os menores valores estimados de concentração de 50% de efeito, seguida por um peixe dulcícola (*Xiphophorus maculatus*) e crustáceos estuarinos (*Eurytemora affinis* e *Leander tenuicornis*). Os organismos mais resistentes ao piriproxifeno, dentro dos parâmetros abordados nessa revisão, foram *Danio rerio* (peixe-zebra) e *Capitella* sp. (poliqueta). A fim de obter estimativas de risco mais precisas, sugerimos avaliações ecotoxicológicas em outras espécies, abrangendo diversos táxons, com ênfase em microcrustáceos, devido ao papel fundamental na teia alimentar

aquática e proximidade taxonômica com os organismos alvo do pesticida. Além disso, é necessário o desenvolvimento de estudos abrangentes da contaminação em matrizes ambientais aquáticas, com especial atenção a ambientes dulcícolas e estuarinos, devido à proximidade com as fontes de piriproxifeno e características ambientais propícias à acumulação. Assim, será possível estimar os níveis de exposição e riscos realísticos em diferentes ambientes, contribuindo para a tomada de decisão eficaz e segura, integrando desenvolvimento, saúde pública e política ambiental.

**Palavras-chave:** Revisão. Pesticida. Contaminação aquática. Risco ambiental.

## 2.2 INTRODUÇÃO

O Piriproxifeno (em inglês: Pyriproxyfen), 2-[1-methyl-2-(4-phenoxyphenoxy)ethoxy]pyridine ($C_{20}H_{29}NO_3$), foi sintetizado pela Sumitomo Chemical Co., Ltd. na década de 1990 e registrado como KNACK®, SUMILARV®, TIGER 100®, ADMIRAL® (DHADIALLA, CARLSON & LE, 1998). A fórmula estrutural do piriproxifeno está representada na Figura 1. O piriproxifeno (PPF) é classificado como piretróide e é um análogo ao hormônio juvenil (HJ) que regula o crescimento de insetos, apresentando estrutura química levemente semelhante a um HJ, mas é muito mais estável quimicamente, competindo de forma eficaz pelos receptores do sítio de ligação ao HJ (SULLIVAN & GOH, 2008). Em condições naturais, quando a larva de inseto chega ao estágio de muda para pupa, a produção do hormônio juvenil cessa e se inicia a mudança na expressão gênica necessária para a metamorfose. Porém, quando existem fontes exógenas de hormônio juvenil ou análogos, ocorre uma interferência na homeostase prejudicando diretamente o desenvolvimento do inseto (DHADIALLA, CARLSON & LE, 1998). Sendo assim, quando o piriproxifeno é utilizado, ele atua como hormônio juvenil, ligando-se aos receptores, interrompendo a morfogênese do inseto e impedindo o desenvolvimento da fase larval para pupa e desta para a fase adulta. Portanto, o piriproxifeno é classificado como desregulador endócrino (SULLIVAN & GOH, 2008).

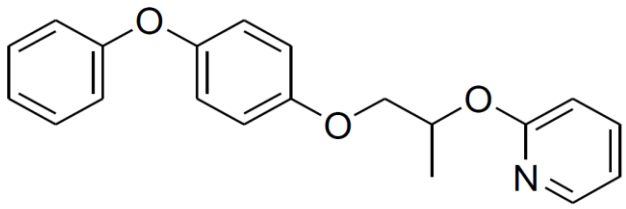


**Figura 1 -** Estrutura química do piriproxifeno.
**Fonte**: EFSA, 2009

O piriproxifeno tem sido utilizado para controle de pragas na agricultura em diversos países em culturas variadas como algodão, amendoim, hortaliças, laranja, amêndoas, maçã, abacate, mamão, manga, abacaxi, banana, café, entre outros (SULLIVAN & GOH, 2008). Além disso, vários estudos mostraram sua eficácia no controle de insetos vetores de doenças, como: *Anopheles arabiensis* (LWETOIJERA *et al*., 2014), *Anopheles gambiae* (JAFFER *et al*., 2015), *Culex quinquefasciatus* (JAMBULINGAM *et al.,* 2008), *Aedes albopictus* (SUMAN *et al*., 2018; OHBA *et al*., 2013) e *Aedes aegypti* (TSUNODA *et al*., 2013), transmissores de malária, filariose, febre amarela, dengue e chikungunya, respectivamente. Portanto, este composto vem sendo empregado mundialmente em programas de saúde pública, como alternativa para pesticidas organofosfatos e piretróides que estavam gerando resistência em populações de insetos em algumas regiões (LIMA *et al.*, 2011). Os efeitos observados nos insetos são variados, podendo, impedir a eclosão de ovos (OHBA *et al*., 2013) e o desenvolvimento de larvas (WANG *et al*., 2013), causar aberrações morfológicas e diminuição da fecundidade em adultos (MAOZ *et al*., 2017).

Recentemente, o Brasil e outros países da América latina enfrentaram uma epidemia de doenças causadas por vírus transmitidos pelo *Aedes aegypti*. Desde 2014, o Brasil implantou o uso do larvicida SUMILARV®, que tem o piriproxifeno como princípio ativo, para inibir a proliferação do *A. aegypti*, em substituição ao anterior, temefós, que gerou resistência na maioria dos municípios do país (BRASIL, 2014). Esse larvicida é apresentado na forma de grânulos e é adicionado nos reservatórios de água potável através de uma colher dosadora. A Organização Mundial de Saúde estabeleceu a concentração segura para aplicação em água potável de 0,01 mg $L^{-1}$ (a mesma adotada pelo Brasil) e instituiu o limite de ingestão por humanos a 100 mg kg peso corporal$^{-1}$ dia$^{-1}$ (BRASIL, 2014; WHO, 2011; WHO, 2007); porém, a falta de precisão da colher dosadora para adição do larvicida em água

potável pode acarretar em doses acima desse limite. Nesse contexto, surgiu a suspeita de que o uso do PPF em água potável poderia ter causado o surto de microcefalia em recém-nascidos em 2015 e 2016 no Brasil. Essa hipótese é justificada pelo tempo coincidente do uso em água potável em larga escala no país com o abrupto aumento de casos de microcefalia; e também pelas evidências de estudos feitos pelo fabricante do larvicida, apontando baixo peso cerebral em filhotes de ratos (PARENS *et al*., 2017). Porém, outros estudos apontam a causa da microcefalia como sendo infecção congênita pelo zika vírus, pelo fato do mesmo ter sido encontrado em tecido cerebral fetal (MLAKAR *et al*., 2017) e a evidência de uma mutação no vírus ter o tornado mais infeccioso para células progenitoras neurais de ratos e humanos, gerando microcefalia em fetos de camundongo (YUAN *et al*., 2017).

No Brasil, o piriproxifeno também é utilizado na formulação TIGER 100® para controle de pragas na agricultura. Esta formulação é mais concentrada que o SUMILARV® e se apesenta na forma de grânulos ou líquido concentrado emulsionável para pulverização (SUMITOMO CHEMICAL DO BRASIL, 2019). Apesar de ser considerado bastante eficaz no combate a pragas agrícolas e vetores de doenças, e apresentar baixa toxicidade a mamíferos e aves (SULLIVAN & GOH, 2008), o PPF apresentou toxicidade moderada a organismos aquáticos não-alvo (MAHARAJAN *et al*., 2018). Em alguns estudos foram observados efeitos tóxicos consideráveis em peixe (CAIXETA *et al*., 2016) e crustáceos (GINJUPALLI & BALDWIN, 2013; LEGRAND *et al*., 2017; LEGRAND *et al*., 2016; VIEIRA-SANTOS *et al*., 2017). Além disso, insetos e espécies terrestres não-alvo também podem ser afetadas, como demonstrado em alguns estudos com abelhas (FOURRIER *et al*., 2015) e caranguejos terrestres (LINTON *et al*., 2009). Desta forma o objetivo deste estudo é revisar os dados existentes sobre a relação dose-efeito do piriproxifeno em organismos aquáticos não-alvo (exceto insetos), discutindo o risco ambiental de sua entrada em ecossistemas aquáticos.

Rios, estuários e mares são os destinos de compostos sintéticos, inclusive agrotóxicos e pesticidas, que são transportados aos corpos de água através da lixiviação do solo. Dentre contaminantes, foi estimado que os pesticidas representam de 81 a 96 % dos compostos que excederam o limiar de toxicidade aguda em algas, peixes e invertebrados (LEGRAND *et al*., 2017). Sendo assim, a ampla utilização do piriproxifeno na agricultura e em campanhas de saúde pública pode apresentar potencial risco a organismos aquáticos. Portanto, torna-se

importante o levantamento bibliográfico de estudos ecotoxicológicos em organismos aquáticos, assim como da quantificação de PPF em matrizes ambientais aquáticas, a fim de interpretar de forma integrada os riscos a diferentes ecossistemas aquáticos e grupos biológicos. Além de identificar as carências no estudo da ecotoxicidade aquática do piriproxifeno para dar suporte às políticas públicas na gestão de uso seguro deste pesticida em regiões ribeirinhas e costeiras.

## 2.3 CARACTERÍSTICAS FÍSICO-QUÍMICAS DO PIRIPROXIFENO

Os principais fatores fisico-químicos e parâmetros de degradação ambiental aquática do piriproxifeno estão apresentados na Tabela 1. O piriproxifeno possui baixa solubilidade em água (0,37 mg $L^{-1}$) e elevado coeficiente de partição octanol/água (log $k_{ow}$ = 5,37), sugerindo hidrofobicidade e predisposição a adsorção em matéria orgânica e partículas sedimentares. Além disso, apresenta baixa pressão de vapor (0,01 mPa), o que o classifica como não volátil, indicando não haver dispersão significativa para a atmosfera. Em relação à degradabilidade na água, o PPF praticamente não sofre hidrólise, mas a fotólise aquática é uma rota de transformação significativa, com tempo de meia vida de 11,5 dias é considerada relativamente rápida (SULLIVAN & GOH, 2008). Porém, o tempo de meia-vida para sistemas aquáticos (água e sedimento) é variável dependendo das condições oxidantes no meio. Em sistemas aeróbicos, o tempo de meia-vida é de 20,8 dias, classificando-o como não persistente. Porém, em ambientes aquáticos anaeróbicos, como é o caso de muitos estuários, o tempo de meia-vida foi de 288,9 dias (considerando uma degradação bifásica), classificando-o, portanto, como persistente (SULLIVAN & GOH, 2008). Dessa forma, dependendo das características particulares de cada ambiente aquático, o piriproxifeno pode representar maior ou menor risco.

**Tabela 1 -** Fatores fisico-químicos e degradabilidade do piriproxifeno.

| Propriedade | Valor | Limiares[a] |
|---|---|---|
| Solubilidade em água à 25 °C (mg $L^{-1}$) | 0,37 | ≤ 50 = Baixa solubilidade<br>50 - 500 = Moderada solubilidade<br>> 500 = Alta solubilidade |
| log Kow à 25 °C | 5,37 | < 2,7 = Baixo<br>2,7 – 3,0 = Moderado<br>> 3,0 = Alto |
| Pressão de vapor à 23 °C (mPa) | 0,01 | < 5,0 = Baixa volatilidade<br>5,0 – 10,0 = Moderadamente volátil<br>> 10 = Altamente volátil |
| Constante da Lei de Henry à 20 °C (Pa $m^3$ $mol^{-1}$) | 0,01 | > 100 = Volátil<br>0,1 - 100 = Moderadamente volátil<br>< 0,1 = Não volátil |
| Fotólise aquática DT50 em pH 7 (dias) | 11,5[b] | < 1 = Rápida<br>1 -14 = Moderadamente rápida<br>14 - 30 = Lenta<br>> 30 = Estável |
| Hidrólise aquática DT50 à 20 °C e pH 7 (dias) | 241,2 a 1292,5 | < 30 = Não persistente<br>30 - 100 = Moderadamente persistente<br>100 - 365 = Persistente<br>> 365 = Muito persistente |
| Tempo de meia-vida em sistema água/sedimento (dias) | | < 30 = Não persistente |
| Sistema aeróbico | 20,8 | 30 - 100 = Moderadamente persistente |
| Sistema anaeróbico | 288,9[c] | 100 - 365 = Persistente<br>> 365 = Muito persistente |
| Koc (sedimento) | 4980 | < 15 = Muito móvel<br>15 - 75 = Móvel<br>75 - 500 = Moderadamente móvel<br>500 - 4000 = Ligeiramente móvel<br>> 4000 = Não móvel |

**Fonte**: Sullivan & Goh (2008) e EFSA (2009)

a: Limites propostos em PPDB (2019), consistentes com limiares regulamentares usados no Reino Unido, UE e EUA (quando disponíveis) e sistema arbitrário em uso comum.

b: Valor medido em solução tampão. Em água de rio a fotólise foi de 21 dias.

c: Valor baseado na presunção de degradação bifásica. O tempo de meia-vida na primeira fase foi de 750 dias e na fase seguinte de 105 dias.

## 2.4 CONTAMINAÇÃO DE AMBIENTES AQUÁTICOS POR PIRIPROXIFENO

Até o momento, poucos estudos foram desenvolvidos para quantificação de piriproxifeno em matrizes ambientais aquáticas. Os resultados encontrados na busca realizada no portal de periódicos da Capes Brasil (um portal de pesquisa científica que inclui bases como Scopus, Web of Science, ScienceDirect, ProQuest, entre outras) até fevereiro de 2019, estão sintetizados na Tabela 2. Belenguer *et al*. (2014) investigaram a presença de 40 pesticidas na água do Rio Júcar (Espanha Oriental), assim como a bioconcentração em peixes. O piriproxifeno esteve entre os pesticidas majoritários e foi encontrado em todas as estações de coleta, com valor médio de 89,66 ng $L^{-1}$ (mínimo: 82,92 ng $L^{-1}$, máximo: 99.59 ng $L^{-1}$). A fonte do PPF nessa região é devido ao uso como inseticida em plantações de azeitona e brócolis e para o controle de insetos na pecuária. Segundo o autor, o PPF foi banido na União Europeia em 22 de setembro de 2010. Como a amostragem foi realizada um mês após a proibição, a distribuição regular do pesticida ao longo do rio, indicou uso extensivo na bacia do Rio Júcar a cerca de um mês antes da amostragem (BELENGUER *et al*., 2014). Apesar de altas concentrações na água, Belenguer *et al*. (2014) detectaram concentrações traço (< 0,3 ng $g^{-1}$) em peixe.

**Tabela 2 –** Contaminação por piriproxifeno em matrizes ambientais.

| Local | Matriz | Conc. méd. (ng $L^{-1}$) | Conc. mín. e máx. (ng $L^{-1}$) | Referência |
|---|---|---|---|---|
| Rio Júcar (Espanha Oriental) | Água | 89,66 | 82,92 – 99,59 | Belenguer et al (2014) |
| Rio Júcar (Espanha Oriental) | Biota | nq | < LQ | Belenguer et al. (2014) |
| Rio Llobregat (Catalunha, Espanha) | Água | 0,12 | <LD - 1,72 | Masia et al, 2015 a |
| Rio Llobregat (Catalunha, Espanha) | Sedimento | nd | nd | Masia et al, 2015 a |
| Rio Llobregat (Catalunha, Espanha) | Biota | nd | nd | Masia et al, 2015 a |
| Rio Danúbio (Eslováquia) | Água | nd | nd | Purdešová (2017) |
| Rio Nilo, Al-Gharbiah, Egito | Água | nq | < 950 | Ghani & Hanafi (2016) |
| Rio Túria (Leste da Espanha) | Sedimento | nd | nd | Masia et al (2015) b |
| Costa Sul do Japão | Água | nq | <LD - 10 | Añasco et al 2010 |

**Fonte**: A autora
nd: não detectado
nq: não quantificado
LD: limite de detecção
LQ: limite de quantificação

Outro estudo, também desenvolvido na Espanha, investigou a presença de 50 pesticidas na água, sedimento e biota na bacia do rio Llobregat, localizado na Catalunha. Os principais afluentes do rio Llobregat recebem contaminantes de uma importante área agrícola, principalmente vinhedos, além de cultivo de alcachofras, alface e tomate, e também por aportes de efluentes da área urbana (MASIA *et al.*, 2015 a). As amostras foram coletadas nos anos 2010 e 2011. O piriproxifeno foi detectado apenas em 2010 na água com concentração média de 0,12 ng $L^{-1}$ com valor máximo de 1,72 ng $L^{-1}$; enquanto que em 2011 não foi detectado em nenhuma das matrizes ambientais (MASIA *et al*. 2015 a), provavelmente devido a sua proibição pela União Europeia em 2010. Purdešová (2017) que não encontrou a presença de PPF na água do Rio Danúbio (Eslováquia), enquanto Ghani & Hanafi (2016) analisaram amostras de água do Rio Nilo e conjeturaram a presença de PPF em concentrações abaixo do limite de quantificação do método de análise, isto é, abaixo de 950 ng $L^{-1}$. Porém, esse limite de quantificação é bastante elevado, de forma que inviabiliza o diagnóstico adequado da contaminação nessa região. Añasco, Koyama & Uno (2010) analisaram amostras de águas costeiras no Sul do Japão que recebem efluentes de um reservatório de resíduos de escoamento superficial de arrozais, durante a temporada de plantio de arroz em 2005. Foi detectada a presença de PPF em uma estação na concentração de 10 ng $L^{-1}$.

Masia *et al.* (2015) b analisaram amostras de sedimentos coletadas em 2013 na bacia do Rio Túria (Leste da Espanha) e também não detectaram a presença desse pesticida (limite de quantificação: 3 ng $g^{-1}$). Porém, o PPF foi detectado em amostras de solo e lodo de esgoto coletadas no mesmo período (MASIA *et al*., 2015 b). Isso ressalta as complexas interações entre o composto e as diferentes matrizes ambientais. Provavelmente as condições anaeróbicas, relacionadas à degradação da matéria orgânica em amostras de esgoto, aumentou o tempo de meia-vida do PPF explicando a elevada concentração reportada. Em contraste, condições aeróbicas do sedimento do Rio Túria pode ter diminuído o tempo de meia-vida, o que justificaria sua ausência nesse ambiente.

Em síntese, a maior parte dos estudos de PPF em matrizes ambientais foi realizada em amostras de rio, apenas um trabalho foi feito em ambiente costeiro. Entre os rios analisados, três estão localizados na Espanha, um na Eslováquia e um no Egito. A matriz mais analisada

foi a água, totalizando 5 estudos; apenas dois estudos foram realizados em sedimento e dois em matrizes biológicas. A presença de PPF foi detectada em amostras de água de rios na Europa, principalmente em amostras coletadas antes ou pouco tempo após a suspensão pela União Europeia em 2010, ou seja, nos rios Júcar (Espanha) e Llobregat (Espanha, em 2010); e também no Rio Nilo e em áreas costeiras do Japão. O piriproxifeno não foi detectado em amostras de água, sedimento e tecidos biológicos coletadas na Europa no período de, pelo menos, um ano após a suspensão do uso, isto é, nos rios Danúbio (Eslováquia) e Llobregat (Espanha, em 2011). Além disso, não foi detectado em nenhuma amostra de sedimento analisada. Concentrações traço foram detectadas em amostras de peixe (BELENGUER *et al*., 2014). Vale observar que segundo o site da comissão europeia "EU Pesticides database", o PPF está classificado como aprovado (EUROPEAN COMMISSION, 2019), sugerindo que a proibição tenha sido revogada mais recentemente. Já na Califórnia, que geralmente possui legislação ambiental mais rígida que as leis nacionais dos Estados Unidos, foi proibido o uso de produtos contendo PPF como princípio ativo (CDPR, 2019).

Vale ressaltar que devido ao número insuficiente de estudos da contaminação de ambientes aquáticos por piriproxifeno, ainda não é possível estimar a contaminação que o mesmo representa em níveis regionais e mundiais. Este composto é amplamente utilizado na América Latina, na Índia, em outros países asiáticos e em diversas partes do mundo, porém os estudos em matrizes ambientais estão restritos a rios na Espanha e estudos pontuais em outros três países. Os países que mais utilizam o PPF não estão quantificando a possível contaminação em matrizes ambientais aquáticas. Isso mostra a necessidade de estudos nesse sentido, principalmente nas regiões estuarinas, costeiras e marinhas. O foco dos próximos levantamentos deveria ser direcionado a análises de sedimentos estuarinos, pois esses ambientes geralmente têm baixos níveis de oxigênio e elevados níveis de matéria orgânica e material particulado em suspensão, o que favorece a adsorção e persistência do PPF. Além disso, a elevada turbidez nos estuários reduz a incidência de luz e diminui a fotólise, uma das principais rotas de transformação do piriproxifeno.

## 2.5 ECOTOXICIDADE DO PIRIPROXIFENO EM ANIMAIS AQUÁTICOS NÃO-ALVO

O levantamento bibliográfico foi feito no portal Periódicos Capes. A pesquisa foi feita até o mês de maio de 2019, buscando pelas palavras-chaves “pyriproxyfen” e “aquatic toxicology”. Os resultados obtidos foram filtrados selecionando os artigos que reportaram estimativas de CE50 (concentração de efeito a 50%), CL50 (concentração letal a 50% da população), CENO (maior concentração sem efeito observável) ou CEO (menor concentração com efeito observável) para toxicidade aguda e crônica com piriproxifeno em organismos aquáticos não-alvo de água doce, estuarinos e marinhos. Foram excluídos da revisão os trabalhos que não reportaram umas das estimativas indicadas acima, e também estudos com organismos não-alvo que apresentam apenas uma parte do ciclo de vida em ambiente aquático, como insetos e sapos. Os resultados totalizaram 21 trabalhos e estão sintetizados na Tabela 3. É preciso esclarecer que existem outros trabalhos que investigaram a toxicidade aguda do PPF em organismos aquáticos, mas que não entraram na nossa malha de busca, por se tratar de artigos antigos, quando o nome piriproxifeno ainda não estava definido e, portanto, o composto era identificado por um código numérico ou por sua nomenclatura IUPAC.

Os resultados, expostos na Tabela 3, mostram que mais de 70% dos trabalhos foram realizados com organismos de água doce. Apenas 14,3 e 19% representam estudos com animais estuarinos e marinhos, respectivamente. Os testes com *Daphnia* somaram 50% do total, proporção já esperada, pois trata-se de um teste de toxicidade internacionalmente padronizado, devido à facilidade e eficácia do método e, portanto, amplamente solicitado e desenvolvido. Os demais organismos investigados também pertencem ao reino Animalia e incluem: crustáceos como artemias, copépodos e camarões, além de poliquetas e peixes.

Diversos testes de toxicidade aguda e crônica foram desenvolvidos em *Daphnia*, analisando mortalidade, fecundidade, produção de descendentes masculinos, intersex e inibição de muda e alimentar. Estimativas de letalidade no teste de toxicidade aguda reportaram valores de $CL50_{48h}$ de 2,50 e 80 μg $L^{-1}$ para espécies de *Daphnia magna* e *Daphnia carinata*, respectivamente (TRAYLER & DAVIS 1996; VIEIRA-SANTOS *et al.,* 2017). A diferença de uma ordem de grandeza entre esses valores, provavelmente representa alterações interespecíficas na resposta das espécies de *Daphnia* ao piriproxifeno. O

crescimento de *D. carinata* foi suprimido e sua reprodução reduzida em até 80% sob exposições contínuas de PPF por 14 dias à concentração usual para controle de larvas de *Aedes aegypti* (10 µg $L^{-1}$) (TRAYLER & DAVIS, 1996). Vieira-Santos *et al*. (2017) reportou a CENO e CEO em 0,63 e 1,25 µg $L^{-1}$, respectivamente; enquanto Antczak *et al*. (2013) estimou 1/10 CL50 em 0,096 µg $L^{-1}$ em *D. magna*. Em um ensaio crônico de 7 dias de duração, a CL50 desse organismo foi > 1,25 µg $L^{-1}$ (VIEIRA-SANTOS *et al*., 2017). Jordão *et al*. (2016) observaram que uma concentração de 6,01 µg $L^{-1}$ de PPF afetou o desenvolvimento de *D. magna*, inibindo a muda; e ainda que um valor de 16, 07 µg $L^{-1}$ causou inibição alimentar. Olmstead & LeBlanc (2007) detectaram a ocorrência de intersex em *D. magna* recém-eclodidas expostas a 0,1 µg $L^{-1}$ de PPF.

**Tabela 3 -** Toxicidade aguda e crônica do piriproxifeno em organismos aquáticos não-alvo.

| Grupo biológico | Nome científico | Ambiente | Fase de vida | Meio de exposição | Efeito | Duração do teste | Estimativa | Concentrações tóxicas (µg $L^{-1}$) | Referências |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| Crustáceo | *Daphnia magna* | Dulcícola | Náuplio | Estático | Mortalidade | 48 horas | CL50 | 2,50 (2,39–2,71 )[a] | Vieira Santos *et al.* (2017) |
| | | | | | | 48 horas | CENO | 0,63 (0,58–0,67)[a] | |
| | | | | | | 48 horas | CEO | 1,25 (1,17–1,41)[a] | |
| | | | Náuplio a juvenil/adulto | Renovado a cada 2 dias | Mortalidade | 7 dias | CL50 | > 1,25 | |
| | | | Recém-nascido a adulto | Renovado a cada 2 dias | Fecundidade | 21 dias | CE50 | > 1,25 | |
| | *Daphnia magna* | Dulcícola | Recém-nascido a adulto | Renovado a cada 2 dias | Fecundidade | 21 dias | CEO | 0,016[d] | Watanabe *et al.* (2018) |
| | | | | | Fecundidade | | CE50 | 0,076 (0,069-0,082)[a] | |
| | | | | | Produção de machos | | CEO | 0,117[d] | |
| | | | | | Produção de machos | | CE50 | 0,126 (0,091-0,161)[a] | |
| | *Daphnia magna* | Dulcícola | Fêmea e recém-nascido | Renovado todos os dias | Produção de machos | Primeiras 4 ninhadas | CE50 | 0,051(0,043-0,058)[a] | Ginjupalli & Baldwin (2013) |
| | | | | | Fecundidade | | CEO | 0,025 | |
| | | | | | Produção de machos | | CEO | 0,05 | |
| | *Daphnia magna* | Dulcícola | Juvenil a adulto | Renovado todos os dias | Inibição de muda | Primeira ninhada | CEO | 6,01 | Jordão *et al.* (2016) |
| | | | | | Inibição alimentar | 24 horas | CEO | 16,069 | |
| | | | | | Inibição alimentar | | CE50 | 42,486 (1,768 )[c] | |
| | *Daphnia magna* | Dulcícola | Recém-nascido | Estático | Mortalidade | 48 horas | 1/10 CL50 | 0,096 | Antczak *et al.* (2013) |
| | *Daphnia magna* | Dulcícola | Fêmea e recém-nascido | Renovado todos os dias | Produção de machos | Segunda ninhada | CE50 | 0,071 | LeBlanc *et al.* (2013) |
| | *Daphnia magna* | Dulcícola | Fêmea e recém-nascido | Estático | Intersex | 24 horas | CEO | 0,1 | Olmstead & LeBlanc (2007) |
| | *Daphnia magna* | Dulcícola | Fêmea e recém-nascido | Renovado a cada 3 dias | Produção de machos | 21 dias | CE50 | 0,1 | Olmstead & LeBlanc (2003) |
| | *Daphnia magna* | Dulcícola | Recém-nascido a adulto | Renovado a cada 2 dias | Fecundidade | 21 dias | CEO | 0,010 – 0,030 | Tatarazako *et al.* (2003) |
| | | | Fêmea e recém-nascido | Renovado a cada 2 dias | Produção de machos | 8 dias | CEO | < 0,100 | |
| | *Daphnia magna* | Dulcícola | Fêmea e recém-nascido | Estático | Produção de machos | 24 horas | CE50 | 0,056 | Matsumoto *et al.* (2008) |

| | | | | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| Crustáceo | *Daphnia carinata* | Dulcícola | Recém-nascido | Estático | Mortalidade | 48 horas | CL50 | 80 | Trayler & Davis (1996) |
| | *Artemia salina* | Marinho | Náuplio | Estático | Mortalidade | 48 horas | CL50 | 500 | Alves *et al.* (2019) |
| | *Artemia salina* | Marinho | Náuplio | Estático | Mortalidade | 48 horas | CL50 | 2,50 (2,37–2,69)[a] | Vieira Santos *et al.* (2017) |
| | | | | | | | CENO | 0,63 (0,57–0,66)[a] | |
| | | | | | | | CEO | 1,25 (1,17–1,36)[a] | |
| | | | | Renovado a cada 2 dias | Mortalidade | 7 dias | CL50 | > 1,25 | |
| | | | Recém-nascido a adulto | Renovado a cada 2 dias | Fecundidade | 21 dias | CE50 | > 1,25 | |
| | *Lepeophtheirus salmonis* | Marinho | Pré adulto | Estático | Imobilidade | 24 horas | CE50 | 676,6 (393,5–1163,3)[b] | Aaen & Horsberg (2016) |
| | | | | | | | CE90 | 2862,0 (557,4–9595,8)[b] | |
| | *Eurytemora affinis* | Estuarino | Adulto macho | Renovado todos os dias | Mortalidade | 48 horas | CL50 | 73,24 (56,63-89,86)[a] | Legrand *et al.* (2017) |
| | | | | | | 96 horas | CL50 | 29,70 (16,09–54,85)[a] | |
| | *Leander tenuicornis* | Estuarino | Adulto | Estático | Mortalidade | 96 horas | CL50 | 98 (81-117)[a] | Brown *et al.* (1996) |
| Poliqueta | *Capitella sp.* | Marinho | Larva | Estático | Assentamento larval e metamorfose | 1 hora | CE50 | 2571,008 | Biggers & Laufer (1996) |
| Peixe | *Danio rerio* | Dulcícola | Embrião | Renovado todos os dias | Inibição do desenvolvimento | 120 hpf | CE50 | 1671,155 | Truong *et al.* (2016) |
| | *Danio rerio* | Dulcícola | Embrião | Renovado todos os dias | Inibição do desenvolvimento | 120 hpf | CE50 | 8397,844 | Padilla *et al.* (2012) |
| | *Danio rerio* | Dulcícola | Embrião | Renovado a cada 2 dias | Mortalidade | 4 dpf | CL50 | > 660 | Horie *et al.* (2017) |
| | | | Larva | | | 8 dpf | CL50 | 220 (200-220)[a] | |
| | | | Embrião | | Edema | 4 dpf | CE50 | > 660 | |
| | | | Larva | | | 8 dpf | CE50 | >230 | |
| | | | Embrião | | Curvatura do corpo | 4 dpf | CE50 | > 660 | |
| | | | Larva | | | 8 dpf | CE50 | >230 | |
| | | | Larva | | Ausência de inflação da bexiga | 8 dpf | CE50 | >230 | |
| | *Xiphophorus maculatus* | Dulcícola | Adulto macho | Renovado a cada 2 dias | Mortalidade | 96 horas | CL50 | >20 | Caixeta *et al.* (2016) |
| | | | | | Alterações comportamentais* | 24 horas | CENO | 2,5 | |
| | | | | | | | CEO | 5 | |

| | | | | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| Peixe | *Pseudomugil signifer* | Estuarino | Juvenil a adulto | Estático | Mortalidade | 96 horas | CL50 | 845 (760-971)[a] | Brown *et al.* (1998) |

**Fonte**: A autora

Os valores de concentração tóxica foram coloridos em relação ao valor máximo admissível pela OMS para uso em água potável (10 µg $L^{-1}$). Vermelho: pelo menos uma ordem de magnitude mais baixa; amarelo: mesma ordem de magnitude; verde: pelo menos uma ordem de magnitude maior.

* Natação errática, perda de equilíbrio, letargia

a: 95% Intervalo de confiança

b: 90% Intervalo de confiança

c: Erros padrão

d: Exposição média estimada durante o tempo (sigla no inglês: TWA)

hpf: horas após a fertilização

dpf: dias após a fertilização

A produção de prole masculina foi um parâmetro bastante estudado em *Daphnia*, inclusive um dos mais sensíveis, com baixos valores de CE50, reportados por diversos autores: 0,051 µg $L^{-1}$ (GINJUPALLI & BALDWIN, 2013), 0,056 µg $L^{-1}$ (MATSUMOTO, *et al*. 2008), 0,071 µg $L^{-1}$ (LEBLANC *et al*., 2013), 0,1 µg $L^{-1}$ (OLMSTEAD & LEBLANC, 2003) e 0,126 µg $L^{-1}$ (WATANABE *et al.*, 2018). Matsumoto *et al*. (2008) identificou ainda que ocorre produção de prole 100% masculina na concentração de 0,1 µg $L^{-1}$ de piriproxifeno, valor equivalente a um centésimo da concentração permitida para tratamento larvicida em água potável. Esse resultado é bastante preocupante, pois reflete alta sensibilidade do organismo a baixas concentrações do agente tóxico em questão. Além desses resultados, também foi reportado o efeito crônico em 21 dias do piriproxifeno na fecundidade em *D. magna*: a CEO foi indicada por Tatarazako *et al.* (2003) com valor entre 0,01 e 0,03 µg $L^{-1}$ e por Watanabe *et al*. (2018) e Ginjupalli & Baldwin (2013) como sendo 0,016 e 0,025 µg $L^{-1}$, respectivamente; enquanto Vieira-Santos *et al*. (2017) estimou a CE50 em torno de 1,25 µg $L^{-1}$; valores relativamente baixos, sugerindo severos efeitos crônicos nessa espécie.

Outro braquiópode estudado quanto à toxicidade aguda ao PPF foi *Artemia salina*, com valores de $CL50_{48h}$, CENO e CEO de 2,50, 0,63 e 1,25 µg $L^{-1}$, respectivamente, estimados por Vieira-Santos *et al.* (2017). Um estudo posterior, conduzido por Alves *et al.* (2019), indicou um valor de $CL50_{48h}$ em *A. salina* de 500 µg $L^{-1}$. Ambos os autores utilizaram o larvicida comercial SUMILARV® 0.5 G, produzido pela *Sumitomo© chemical,* que possui cerca de 0,5% de piriproxifeno como princípio ativo. O processo de extração desse composto para preparação das soluções-teste, pode ter influenciado na ampla diferença de valores estimados para CL50. Dessa forma, fica difícil estabelecer qual dos dois estaria mais próximo do valor real, portanto seria interessante uma nova avaliação com *Artemia* utilizando o princípio ativo puro. Vieira-Santos *et al*. (2017) estimou ainda que concentrações > 1,25 µg $L^{-1}$ causam efeito crônico na mortalidade e fecundidade de 50% dos indivíduos de *A. salina*.

Legrand *et al.* (2017) investigaram a toxicidade aguda do piriproxifeno em *Eurytemora affinis*, uma espécie de copépodo estuarino, e obteve $CL50_{48h}$ de 73,24 µg $L^{-1}$ e $CL50_{96h}$ de 29,70 µg $L^{-1}$. Dos dois pesticidas avaliados nesse estudo, o PPF foi o que induziu maior mortalidade. Legrand *et al.* (2017), demostraram ainda que o PPF pode ter toxicidade ainda mais elevada sob interação com outros pesticidas como o chlordecone, pois os resultados da toxicidade da mistura binária de piriproxifeno e chlordecone indicaram efeito sinérgico.

Outra espécie de copépodo, *Lepeophtheirus salmonis*, marinho, apresentou $CE50_{24h}$ e $CE90_{24h}$ de 676,6 e 2862,0 µg $L^{-1}$, respectivamente, em relação à imobilidade (AAEN & HORSBERG, 2016), que geralmente pode ser interpretada como toxicidade letal. De acordo com Aaen & Horsberg (2016), o PPF teve uma das quatro CE50 mais baixas dentre as 26 substâncias testadas no referido estudo. Entre as duas espécies de copépodos indicadas acima, a estuarina foi mais sensível que a marinha, pois apresentou CE50 com uma ordem de grandeza inferior; porém, ambas são mais resistentes ao piriproxifeno do que as espécies de *Daphnia*.

Brown *et al.* 1996 analisaram a toxicidade ao PPF de uma espécie de camarão Caridea estuarino, *Leander tenuicornis*, em relação a letalidade com $CL50_{96h}$ de 98 (81-117) µg $L^{-1}$. Os autores indicaram necessidade de estudos de efeitos em longo prazo, além de cautela para uso do PPF devido à proximidade da concentração tóxica com a concentração estimada em campo. Segundo Trapp *et al*. (2015), o Amphipoda de água doce *Gammarus fossarum* exposto a concentração de 5 µg $L^{-1}$ apresentou 40% de inibição na produção de espermatozoides. Este dado é preocupante, pois essa concentração representa metade do valor permitido para tratamento de água potável. O invertebrado que apresentou maior valor de CE50 até o momento foi uma espécie de poliqueta marinho, *Capitella* sp., com $CE50_{1h}$ de 2571 µg $L^{-1}$ para efeito no assentamento larval e metamorfose, este alto valor pode estar associado ao reduzido tempo de exposição testado neste estudo (BIGGERS & LAUFER, 1996).

A toxicidade aguda e crônica do PPF em peixes foi abordada por alguns autores. Truong *et al.* (2016) estimaram que a concentração de 5,2 µM (1671,16 µg $L^{-1}$) afetou o desenvolvimento de 50% dos indivíduos do peixe-zebra, *Danio rerio*. Mortalidade e efeitos sub-letais significativos (edema do saco vitelino; eixo curvado; mandíbula e focinho anormais; edema pericárdico, entre outros) foram observados em *D. rerio* em concentrações a partir de 6,4 µM (2056 µg $L^{-1}$). Truong *et al.* (2016) concluíram ainda que o PPF é teratogênico e neurotóxico em concentrações micromolares baixas e médias, gerando comportamento fotomotor larval aberrante. Padilla *et al*. (2012) também avaliou o potencial de inibição no desenvolvimento larval do *D. rerio*, obtendo CE50 de 26,13 µM (8397,84 µg $L^{-1}$). Outro estudo com *D. rerio,* realizado por Horie *et al.* (2017), reportou mortalidade e efeitos teratogênicos, edema e alteração de curvatura do corpo em CE50 > 660 µg $L^{-1}$ com 4

dias de exposição. Nos experimentos com maior duração (8 dias), foi detectada CL50 de 220 e CE50 > 230 para os demais fatores, além de ausência de inflação da bexiga (HORIE *et al*., 2017).

Caixeta *et al.* (2016) avaliaram a ecotoxicidade do PPF em uma espécie de peixe de água doce larvívoro *Xiphophorus maculatus*, a fim de estimar a viabilidade de manejo integrado com o larvicida para controle do *Aedes aegypti*. Foi observado que a $CL50_{96h}$ > 20 µg $L^{-1}$, está bem próxima à concentração efetiva para efeito larvicida contra *A. aegypti* (10 µg $L^{-1}$). Além disso, foram detectadas alterações comportamentais como natação errática, perda do equilíbrio e letargia em concentrações a partir de 5 µg $L^{-1}$. Percebeu-se ainda que a capacidade do peixe capturar larvas do mosquito foi significativamente afetada na concentração recomendada de PPF para o controle de *A. aegypti*, indicando a inviabilidade do emprego conjunto destes peixes para controle das larvas na concentração usada atualmente no Brasil (CAIXETA *et al.,* 2016). Os autores sugerem que o PPF não deveria ser utilizado em ambientes naturais na dose recomendada atualmente; e aconselham a dose de um quarto deste valor em conjunto com o uso do peixe *X. maculatus* para controle seguro e efetivo do *A. aegypti* (CAIXETA *et al.,* 2016). Brown *et al.* (1998) reportaram $CL50_{96h}$ de 845 µg $L^{-1}$ para *Pseudomugil signifer,* uma espécie de peixe estuarino, indicando que para esta espécie o piriproxifeno é relativamente seguro.

## 2.6 ESTIMATIVAS DE RISCO

A fim de identificar possíveis riscos que o piriproxifeno pode trazer aos organismos aquáticos, foi calculado o quociente de risco (QR) conforme sugerido em Vieira-Santos *et al.* (2017); isto é, dividindo a concentração máxima permitida pela OMS para tratamento larvicida em água potável (10 µg $L^{-1}$) pela CL50 obtida para o organismo em questão. No presente trabalho, utilizamos também os valores de CE50 para cálculo do QR. Vieira-Santos *et al.* (2017) classificaram o risco da seguinte forma: QR ≥ 0,5 indica alto risco; 0,05 < QR < 0,5 indica médio risco e QR < 0,05 sugere baixo risco. Foram excluídos dessa estimativa, os trabalhos citados nessa revisão que não apresentam valores de CL50 ou CE50 e também aqueles que sugerem valores aproximados ou dentro de intervalos. Os resultados estão expostos na Tabela 4.

*Daphnia magna* apresentou altos valores de QR. Em relação à mortalidade, os resultados variaram de 4 a 10, bem superior ao limite de 0,5 a partir do qual é considerado alto risco, indicando ameaça à sobrevivência dessa espécie. Em relação à produção de machos, os valores de QR variaram de 77 a 196, e considerando a fecundidade foi de 125, sugerindo alto risco ao sucesso reprodutivo e crescimento populacional da espécie. Apenas em relação à inibição alimentar, o PPF possivelmente não apresenta grande risco a *D. magna*, com QR de 0,235 sugerindo médio risco. *Daphnia carinata* apresentou QR de 0,125, indicando risco médio à sobrevivência da mesma. Devido à incongruência entre os valores de CL50 estimados para *Artemia salina*, conforme discutido anteriormente, os valores do QR também apresentaram diferenças marcantes, impossibilitando a interpretação de risco para esse organismo. O copépodo *Eurytemora affinis* e o camarão *Leander tenuicornis*, ambos estuarinos, apresentaram médio risco em relação à sobrevivência com QRs de 0,337 e 0,102, respectivamente. Por outro lado, o copépodo marinho *Lepeophtheirus salmonis* apresentou baixo risco de inibição da mobilidade com QR igual a 0,015. Os peixes *Danio rerio* e *Pseudomugil signifer* têm baixos riscos em relação aos fatores abordados (inibição do desenvolvimento e mortalidade), com valores de QR inferiores a 0,05, conforme mostrados na Tabela 4, assim como o poliqueta *Capitella* sp.

De forma geral, os valores do quociente de risco indicam que *Daphnia magna* é a espécie, dentre as estudadas, que pode ser mais afetada pela contaminação de ambientes por PPF, pois apresentou valores de QR bem elevados. Ao contrário dos peixes *Danio rerio* e *Pseudomugil signifer,* do poliqueta *Capitella* sp. e do copépodo marinho *Lepeophtheirus salmonis,* que apresentaram os menores valores de QR e, portanto, baixo risco para os fatores abordados. Porém, vale ressaltar que não é possível estender esses resultados para outras espécies de grupos biológicos semelhantes, pois como demonstrado para *Daphnia*, espécies diferentes de um mesmo gênero podem apresentar riscos distintos dependendo de suas características biológicas particulares.

**Tabela 4 -** Estimativa de risco do piriproxifeno para organismos aquáticos não-alvo.

| Grupo biológico | Nome científico | Ambiente | Efeito | CE50 (µg $L^{-1}$) | QR | Risco[a] | 1/10 CE50 (µg $L^{-1}$) | Risco[b] | Referências |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| Crustáceo | *Daphnia magna* | Dulcícola | Mortalidade | 2,50 | 4,000 | Alto | 0,250 | Ocasional | Vieira Santos *et al.* (2017) |
| | | | Fecundidade | 0,08 | 125,000 | Alto | 0,008 | Provável | Watanabe *et al.* (2018) |
| | | | Produção de machos | 0,13 | 76,923 | Alto | 0,013 | Provável | Watanabe *et al.* (2018) |
| | | | Produção de machos | 0,051 | 196,078 | Alto | 0,005 | Provável | Ginjupalli & Baldwin (2013) |
| | | | Inibição alimentar | 42,49 | 0,235 | Médio | 4,249 | Improvável | Jordão *et al.* (2016) |
| | | | Mortalidade | 0,96 | 10,417 | Alto | 0,096 | Ocasional | Antczak *et al.* (2013) |
| | | | Produção de machos | 0,07 | 140,845 | Alto | 0,007 | Provável | LeBlanc *et al.* (2013) |
| | | | Produção de machos | 0,10 | 100,000 | Alto | 0,010 | Provável | Olmstead & LeBlanc (2003) |
| | | | Produção de machos | 0,06 | 166,667 | Alto | 0,006 | Provável | Matsumoto *et al.* (2008) |
| | *Daphnia carinata* | Dulcícola | Mortalidade | 80 | 0,125 | Médio | 8,000 | Improvável | Trayler & Davis (1996) |
| | *Artemia salina* | Marinho | Mortalidade | 500 | 0,020 | Baixo | 50,000 | Improvável | Alves *et al.* (2019) |
| | | | Mortalidade | 2,50 | 4,000 | Alto | 0,250 | Ocasional | Vieira Santos *et al.* (2017) |
| | *Lepeophtheirus salmonis* | Marinho | Imobilidade | 676,60 | 0,015 | Baixo | 67,660 | Improvável | Aaen & Horsberg (2016) |
| | *Eurytemora affinis* | Estuarino | Mortalidade | 29,70 | 0,337 | Médio | 2,970 | Improvável | Legrand *et al.* (2017) |
| | *Leander tenuicornis* | Estuarino | Mortalidade | 98 | 0,102 | Médio | 9,800 | Improvável | Brown *et al.* (1996) |
| Poliqueta | *Capitella sp.* | Marinho | Assentamento larval e metamorfose | 2571,01 | 0,004 | Baixo | 257,101 | Improvável | Biggers & Laufer (1996) |
| Peixe | *Danio rerio* | Dulcícola | Inibição do desenvolvimento | 1671,16 | 0,006 | Baixo | 167,116 | Improvável | Truong *et al.* (2016) |
| | | | Inibição do desenvolvimento | 8397,84 | 0,001 | Baixo | 839,784 | Improvável | Padilla *et al.* (2012) |
| | | | Mortalidade | 220 | 0,045 | Baixo | 22,000 | Improvável | Horie *et al.* (2017) |
| | *Pseudomugil signifer* | Estuarino | Mortalidade | 845 | 0,012 | Baixo | 84,500 | Improvável | Brown *et al.* (1998) |

**Fonte**: A autora

As cores auxiliam na classificação de risco. Vermelho: alto ou provável; amarelo: médio ou ocasional; verde: baixo ou improvável.
QR: Quociente de risco
a: Risco associado ao QR.
b: Risco associado a comparação entre 1/10 CE50 com a maior concentração detectada em matriz ambiental.

O risco foi estimado também associando as concentrações tóxicas para cada organismo àquelas encontradas em compartimentos ambientais aquáticos. Como abordado anteriormente, a maior concentração ambiental de PPF foi encontrada na água do Rio Júcar (Espanha) com valor máximo de 99,59 ng $L^{-1}$ (0,100 µg $L^{-1}$) (BELENGUER *et al*., 2014). Considerando que um valor de 1/10 da CE50 estimada para determinado efeito em organismo-teste, represente uma concentração que pode gerar algum efeito nocivo à espécie; este valor foi comparado ao encontrado na água do Rio Júcar. Valores de 1/10 CE50 em ordem de grandeza inferior ao valor detectado no referido rio, indica risco provável; valores de 1/10 CE50 em ordem de grandeza superior à concentração na água do rio, representa risco improvável; e quando os valores comparados estiverem na mesma ordem de grandeza, supõe risco ocasional. Os valores e interpretações de risco estão dispostos na Tabela 4. Em síntese, a água do rio Júcar, contaminada por PPF, representa provável risco à fecundidade e desequilíbrio na proporção de descendentes machos em *Daphnia magna*, além de risco ocasional à mortalidade. Em consideração aos demais parâmetros e organismos investigados nesse estudo, a concentração do larvicida presente na água do Rio Júcar não representa uma grande ameaça, exceto para um dos valores estimados em relação à mortalidade de *Artemia salina*, que sugeriu um risco ocasional. Vale salientar que os estudos de contaminação ambiental por PPF são extremamente escassos, portanto, o máximo valor detectado (concentração presente na água do Rio Júcar), para a realização da avaliação de risco, pode estar subestimado, caso este contaminante esteja presente em concentrações maiores em matrizes de ambientes não avaliados. Além disso, seria interessante uma avaliação com maior número de espécies representativas de diversos táxons e ambientes para obter uma estimativa de risco mais precisa.

## 2.7 CONCLUSÃO E PROSPECÇÃO FUTURA

Os fatores físico-químicos do piriproxifeno sugerem hidrofobicidade, potencial de bioconcentração, com tempos de meia-vida relativamente curtos em sistemas aquáticos aeróbicos, devido à alta susceptibilidade à fotodegradação e rápido metabolismo aeróbico. Em contraste, o tempo de meia-vida em ambientes aquáticos anaeróbicos é longo, com maior persistência em sedimentos e sistemas aquáticos salobros. Os estudos de

ecotoxicidade aquática com PPF foram feitos majoritariamente em organismos de água doce, apenas cerca de 33% foram desenvolvidos em organismos estuarinos e marinhos. Numerosas cidades costeiras vêm utilizando amplamente o PPF, principalmente como larvicida e inseticida para controle de pragas na saúde pública. Isso reforça a necessidade de estudos de PPF em ambientes estuarinos e marinhos, com maior ênfase nos estuarinos, que devido às condições fisico-químicas do meio podem acumular o composto mais facilmente. Assim como, estudos ecotoxicológicos com organismos representativos destes ambientes precisam ser desenvolvidos, abrangendo diferentes grupos biológicos, com destaque em microcrustáceos que por apresentarem maior proximidade taxonômica com os insetos (alvos do piriproxifeno), tem demonstrado maior sensibilidade ao larvicida. Nesta revisão os organismos mais afetados pela exposição ao PPF foram *Daphnia magna* e o peixe *Xiphophorus maculatus* (ambos representativos de ambiente dulcícola), com elevados riscos reprodutivos e comportamentais, respectivamente, além de alto risco de mortalidade em concentrações menores e próximas à efetiva para tratamento larvicida. Os crustáceos estuarinos *Eurytemora affinis* (copépodo) e *Leander tenuicornis* (camarão), também demonstraram sensibilidade ao PPF com riscos medianos em relação à sobrevivência, na dose usual do piriproxifeno contra *Aedes aegypti*.

Sugerimos o desenvolvimento de mais estudos ecotoxicológicos em organismos aquáticos não-alvo, principalmente marinhos e estuarinos e avaliação de contaminação de ecossistemas aquáticos por PPF, a fim de melhor avaliar os riscos envolvidos com o uso em grande escala dessa substância, principalmente pelos países que mais utilizam. Em paralelo, indicamos a redução da dose atual, quando possível, de preferência para valores com pelo menos uma ordem de grandeza inferior ao limite estabelecido como seguro para humanos pela OMS, no intuito de reduzir os riscos aos organismos aquáticos mais sensíveis.

## 2.8. REFERÊNCIAS

AAEN, S. M.; HORSBERG, T. E. A screening of multiple classes of pharmaceutical compounds for effect on preadult salmon lice *Lepeophtheirus salmonis.* **J. Fish. Dis.,** v. 39, n. 10, p. 1213-1223, 2016. doi: 10.1111/jfd.12463.

ALVES, P. S.; OLIVEIRA, M. D. A.; ALMEIDA, P. M.; MARTINS, F. A.; CAVALCANTE, A. A. C. M.; ANDRADE, T. J. A. S., FEITOSA, C. M.; RAI, M.; REIS, A. C.; COSTA-JÚNIOR, J. S. Determination by chromatography and cytotoxotoxic and oxidative effects of pyriproxyfen and pyridalyl. **Chemosphere**, v. 224, p. 398-406, 2019. doi: 10.1016/j.chemosphere.2019.02.037.

AÑASCO, N. C.; KOYAMA, J.; UNO, S. Pesticide residues in coastal waters affected by rice paddy effluents temporarily stored in a waste water reservoir in southern Japan. **Arch. Environ. Contam. Toxicol.,** v. 58, n. 2, p. 352-60, 2010. doi: 10.1007/s00244-009-9364-1.

ANTCZAK, P.; JO, H. J.; WOO, S.; SCANLAN, L.; POYNTON, H.; LOGUINOV, A.; CHAN, S.; FALCIANI, F.; VULPE, C. Molecular toxicity identification evaluation (mTIE) approach predicts chemical exposure in *Daphnia magna*. **Environ. Sci. Technol.,** v. 47, n. 20, p. 11747-1156, 2013. doi: 10.1021/es402819c.

BELENGUER, V.; MARTINEZ-CAPEL, F.; MASIÁ, A.; PICÓ, Y. Patterns of presence and concentration of pesticides in fish and waters of the Júcar River (Eastern Spain). **J. Hazard. Mater.,** v. 265, p. 271-279, 2014. doi: 10.1016/j.jhazmat.2013.11.01.6.

BIGGERS, W. J.; LAUFER, H. Detection of juvenile hormone-active compounds by larvae of the marine annelid *Capitella* sp. I. **Arch. Insect. Biochem. Physiol.,** v. 32, p. 475-484, 1996. doi: https://doi.org/10.1002/(SICI)1520-6327(1996)32:3/4<475::AID-ARCH19>3.0.CO;2-9.

BRASIL, Ministério da Saúde. 2014. **Orientações técnicas para a utilização do larvicida piriproxifeno (0,5 G) no controle de *Aedes aegypti***. Disponível em: < http://portalarquivos2.saude.gov.br/images/pdf/2014/maio/30/Instrucoes-para-uso-de-pyriproxifen-maio-2014.pdf >. Acesso em: 10 de janeiro de 2018.

BROWN, M. D.; THOMAS, D.; KAY, B. H. Acute toxicity of selected pesticides to the Pacific blue-eye, *Pseudomugil signifer* (Pisces). **J. Am. Mosq. Control. Assoc.,** v. 14, n. 4, p. 463-466, 1998. PMID: 10084142.

BROWN, M. D.; THOMAS, D.; WATSON, K.; GREENWOOD, J. G.; KAY, B. H. Acute toxicity of selected pesticides to the estuarine shrimp *Leander tenuicornis* (Decapoda: Palaemonidae). **J. Am. Mosq. Control. Assoc.**, v. 12, n. 4, p. 721-724, 1996. PMID: 9046481.

CAIXETA, E. S.; SILVA, C. F.; SANTOS, V. S.; CAMPOS JUNIOR, E. O.; PEREIRA, B. B. Ecotoxicological assessment of pyriproxyfen under environmentally realistic exposure conditions of integrated vector management for *Aedes aegypti* control in Brazil. **J. Toxicol. Environ. Health. A.,** v. 79, n. 18, p. 799-803, 2016. doi: 10.1080/15287394.2016.1191400.

CDPR. **California Departament of Pesticide Regulation**. Search for Pesticide Products by Partial Product Name: Pyriproxyfen. Disponível em: <https://www.cdpr.ca.gov/docs/label/prodnam.htm"ov/docs/label/prodnam.htm> Acesso em: 11 de julho de 2019.

DHADIALLA, T. S.; CARLSON, G. R.; LE, D. P. New insecticides with ecdysteroidal and juvenile hormone activity. **Annu. Rev. Entomol.** v. 43, p. 545–69, 1998. doi: 10.1146/annurev.ento.43.1.545.

EFSA. European Food Safety Authority. Conclusion on pesticide peer review regarding the risk assessment of the active substance pyriproxyfen. **EFSA Sci. Rep.,** v. 336, p. 1-99, 2009.

EUROPEAN COMMISSION. EU **Pesticides database**, **Search active substances – Active substance detail – Pyriproxyfen**. Disponível em: <http://ec.europa.eu/food/plant/pesticides/eu-pesticides-database/public/?event=activesubstance.detail&language=EN&selectedID=1807> Acesso em: 11 de julho de 2019.

FOURRIER, J.; DESCHAMPS, M.; DROIN, L.; ALAUX, C.; FORTINI, D.; BESLAY, D.; CONTE, Y. L.; DEVILLERS, J.; AUPINEL, P.; DECOURTYE, A. Larval Exposure to the Juvenile Hormone Analog Pyriproxyfen Disrupts Acceptance of and Social Behavior Performance in Adult Honeybees. **PLoS ONE** v. 10 (7): e0132985. 2015. doi: 10.1371/journal.pone.0132985.

GHANI, S. B. A.; HANAFI, A. H. QuEChERS method combined with GC–MS for pesticide residues determination in water. **J. Anal. Chem.,** v. 71, n. 5, p. 508–512, 2016. doi: 10.1134/S1061934816050117.

GINJUPALLI, G. K.; BALDWIN, W. S. The time- and age-dependent effects of juvenile hormone analog pesticide, piriproxifeno on Daphnia magna reproduction. **Chemosphere**, v. 92, p.1260-1266, 2013. doi: 10.1016/j.chemosphere.2013.04.061.

HORIE, Y.; YAMAGISHI, T.; TAKAHASHI, H.; SHINTAKU, Y.; IGUCHI, T.; TATARAZAKO, N. Assessment of the lethal and sublethal effects of 20 environmental chemicals in zebrafish embryos and larvae by using OECD TG 212. **J. Appl. Toxicol.,** 2017. doi: 10.1002/jat.3487.

JAFFER, A.; PROTOPOPOFF, N.; FRANKLIN, W. M.; DAVID, M.; MARK, W. R.; RICHARD, M. O. Evaluating the sterilizing effect of pyriproxyfen treated mosquito nets against *Anopheles gambiae* at different blood-feeding intervals. **Acta Trop.,** v. 150, p. 131-135, 2015. doi: http://dx.doi.org/10.1016/j.actatropica.2015.07.011.

JAMBULINGAM, P.; SADANANDANE, C.; BOOPATHI DOSS, P. S.; SUBRAMANIAN, S.; ZAIM, M. Field evaluation of an insect growth regulator, pyriproxyfen 0.5% GR against *Culex quinquefasciatus*, the vector of *Bancroftian filariasis* in Pondicherry, India. **Acta Trop.,** v. 107, p. 20-24, 2008. doi:10.1016/j.actatropica.2008.04.005.

JORDÃO, R.; GARRETA, E.; CAMPOS, B.; LEMOS, M. F.; SOARES, A. M.; TAULER, R.; BARATA, C. Compounds altering fat storage in *Daphnia magna*. **Sci. Total. Environ.,** v. 545-546, p. 127-136, 2016. doi: 10.1016/j.scitotenv.2015.12.097.

LEBLANC, G. A.; WANG, Y. H.; HOLMES, C. N.; KWON, G.; MEDLOCK, E. K. A transgenerational endocrine signaling pathway in Crustacea. **PLoS One,** v. 8, n. 4, p. e61715, 2013. doi: 10.1371/journal.pone.0061715.

LEGRAND, E.; BOULANGÉ-LECOMTE, C.; RESTOUX, G.; TRÉMOLET, G.; DUFLOT, A.; FORGET-LERAY, J. Individual and mixture acute toxicity of model pesticides chlordecone and pyriproxyfen in the estuarine copepod *Eurytemora affinis.* **Environ. Sci. Pollut. Res. Int.,** v. 6, p. 5976-5984, 2017. doi: 10.1007/s11356-016-8294-5.

LEGRAND, E.; FORGET-LERAY, J.; DUFLOT, A.; OLIVIER, S.; THOMÉ, J. P.; DANGER, J. J.; BOULANGÉ-LECOMTE, C. Transcriptome analysis of the copepod Eurytemora affinis upon exposure to endocrine disruptor pesticides: Focus on reproduction and development. **Aquat. Toxicol**. v. 6, p. 64-75, 2016. doi: 10.1016/j.aquatox.2016.04.010.

LIMA, E. P.; PAIVA, M. H. S.; ARAÚJO, A. P.; SILVA, E. V. G.; SILVA, U. M.; OLIVEIRA, L. N.; SANTANA, A. E. G.; BARBOSA, C. N.; PAIVA NETO, C. C.; GOULART, M. O. F.; WILDING, C. S.; AYRES, C. F. J.; SANTOS, M. A. V. M. Insecticide resistance in *Aedes aegypti* populations from Ceará, Brazil. **Parasites Vectors**, v. 4, n. 5, 2011. doi: 10.1186/1756-3305-4-5.

LINTON, S.; BARROW, L.; DAVIES, C.; HARMAN, L. Potential endocrine disruption of ovary synthesis in the Christmas Island red crab Gecarcoidea natalis by the insecticide piriproxifeno. **Comp. Biochem. Physiol. A**, v. 154, p. 289-297, 2009. doi: https://doi.org/10.1016/j.cbpa.2009.02.024.

LWETOIJERA, D.; HARRIS, C.; KIWARE, S.; DONGUS, S.; DEVINE, G. J.; MCCALL, P. J.; MAJAMBERE, S. Effective autodissemination of pyriproxyfen to breeding sites by the exophilic malaria vector *Anopheles arabiensis* in semi-field settings in Tanzania. **Malar. J.**, v. 13:161, p. 1-10, 2014. doi: https://doi.org/10.1186/1475-2875-13-161.

MAHARAJAN, K.; MUTHULAKSHMI, S.; NATARAJ, B.; RAMESH, M.; KADIRVELU, K. Toxicity assessment of pyriproxyfen in vertebrate model zebrafish embryos (*Danio rerio*): A multibiomarker study. **Aquat Toxicol.** v. 196, p. 132-145, 2018. doi: 10.1016/j.aquatox.2018.01.010.

MAOZ, D.; WARD, T.; SAMUEL, M.; MÜLLER, P.; RUNGE-RANZINGER, S.; TOLEDO, J.; BOYCE, R.; VELAYUDHAN, R.; HORSTICK, O. Community effectiveness of pyriproxyfen as a dengue vector control method: A systematic review. **PLoS Negl Trop Dis.**, v. 11, n. 7, p. 1-20, 2017. doi: 10.1371/journal.pntd.0005651.

MASIÁ, A.; CAMPO, J.; NAVARRO-ORTEGA, A.; BARCELÓ, D.; PICÓ, Y. Pesticide monitoring in the basin of Llobregat River (Catalonia, Spain) and comparison with historical data. **Sci. Total. Environ.,** v. 503-504, p. 58-68, 2015 a. doi: 10.1016/j.scitotenv.2014.06.095.

MASIÁ, A.; VÁSQUEZ, K.; CAMPO, J.; PICÓ, Y. Assessment of two extraction methods to determine pesticides in soils, sediments and sludges. Application to the Túria River Basin. **J. Chromatogr. A.,** v. 1378, p. 19-31, 2015 b. doi: 10.1016/j.chroma.2014.11.079.

MATSUMOTO, T.; IKUNO, E.; ITOI, S.; SUGITA, H. Chemical sensitivity of the male daphnid, *Daphnia magna*, induced by exposure to juvenile hormone and its analogs. **Chemosphere,** v. 72, n. 3, p. 451-456, 2008. doi: 10.1016/j.chemosphere.2008.02.016.

MLAKAR, J.; KORVA, M.; TUL, N.; POPOVIĆ, M.; POLJŠAK-PRIJATELJ, M.; MRAZ, J.; KOLENC, M.; RUS, K. R.; VIPOTNIK, T. V.; VODUŠEK, V. F.; VIZJAK, A.; PIŽEM, J.; PETROVEC, M.; ŽUPANC, T. A. Zika virus associated with microcephaly. **N. Engl. J. Med.,** v. 374, p. 951-958, 2016. doi: 10.1056/NEJMoa1600651.

OHBA, S. Y.; OHASHI, K.; PUJIYATI, E.; HIGA, Y.; KAWADA, H.; MITO, N.; TAKAGI, M. The effect of pyriproxyfen as a ‘‘Population growth regulator’’ against *Aedes albopictus* under semi-field conditions. **PLoS One**, v. 8, n. 7, p. e67045, 2013. doi: 10.1371/journal.pone.0067045.

OLMSTEAD, A. W.; LEBLANC, G. A. Insecticidal juvenile hormone analogs stimulate the production of male offspring in the crustacean *Daphnia magna*. **Environ Health Perspect.,** v. 111, n. 7, p. 919-924, 2003. doi: 10.1289/ehp.5982.

OLMSTEAD, A. W.; LEBLANC, G. A. The environmental-endocrine basis of Gynandromorphism (Intersex) in a Crustacean. **Int. J. Biol. Sci.,** v. 3, n. 2, p. 77-84, 2007. doi: 10.7150/ijbs.3.77.

PADILLA, S.; CORUM, D.; PADNOS, B.; HUNTER, D. L.; BEAM, A.; HOUCK, K. A.; SIPES, N.; KLEINSTREUER, N.; KNUDSEN, T.; DIX, D. J.; REIF, D. M. Zebrafish developmental screening of the ToxCast™ Phase I chemical library. **Reprod. Toxicol.**, v. 33, p. 174–187, 2012. doi: 10.1016/j.reprotox.2011.10.018.

PARENS, R., NIJHOUT, H. F.; MORALES, A.; COSTA, F. X.; BAR-YAM, Y. A Possible Link Between Piriproxifeno and Microcephaly. **PLOS Curr. Outbreaks**, Edition 1, 2017. doi: 10.1371/currents.outbreaks.5afb0bfb8cf31d9a4baba7b19b4edbac.

PPDB. Pesticide Properties DataBase. **Development of a consolidated database covering EFSA pesticide outputs on active substances**. Data Interpretation, environmental fate. Disponível em: < https://sitem.herts.ac.uk/aeru/ppdb/en/docs/5_1.pdf> Acesso em: 08 de março de 2019.

PURDEŠOVÁ, A. Determination of selected pesticide residues in river water using sbse technique. **Acta. Univ. Agric. Silvic. Mendel. Brun.,** v. 65, n. 5, p. 1595–1599, 2017. doi: https://doi.org/10.11118/actaun201765051595.

SULLIVAN, J. J. & GOH, K. S. Environmental fate and properties of pyriproxyfen. **J. Pestic. Sci**, v. 33, n. 4, p. 339–350, 2008. doi: 10.1584/jpestics.r08-02.

SUMAN, D. S.; WANG, Y.; FARAJI, A.; WILLIAMS, G. M.; WILLIGES, E.; GAUGLER, R. Seasonal field efficacy of pyriproxyfen autodissemination stations against container-inhabiting mosquito *Aedes albopictus* under different habitat conditions. **Pest. Manag. Sci.** v. 74, n. 4, p. 885-895, 2018. doi: 10.1002/ps.4780.

SUMITOMO CHEMICAL DO BRASIL. **Bula do praguicida Tiger 100 EC.** Disponível em: <http://www.ihara.com.br/upload/produtos/bula/1447244485.pdf>. Acesso em: 22 de novembro de 2019.

TATARAZAKO, N.; ODA, S.; WATANABE, H.; MORITA, M.; IGUCHI, T. Juvenile hormone agonists affect the occurrence of male Daphnia. **Chemosphere,** v. 53, n. 8, p. 827-833, 2003. doi: 10.1016/S0045-6535(03)00761-6.

TRAP, J.; ARMENGAUD, J.; PIBLE, O.; GAILLARD, J. C.; ABBACI, K.; HABTOUL, Y.; CHAUMOT, A.; GEFFARD, O. Proteomic investigation of male *Gammarus fossarum*, a freshwater crustacean, in response to endocrine disruptors. **J. Proteome. Res.,** v. 14, n. 1, p. 292-303, 2015. doi: 10.1021/pr500984z.

TRAYLER, K. M.; DAVIS, J. A. Sensitivity of *Daphnia carinata* sensu lato to the insect growth regulator, pyriproxyfen. **Ecotoxicol. Environ. Saf.,** v. 33, n. 2, p. 154-156, 1996. doi: 10.1006/eesa.1996.0019.

TRUONG, L.; GONNERMAN, G.; SIMONICH, M. T.; TANGUAY, R. L. Assessment of the developmental and neurotoxicity of the mosquito control larvicide, pyriproxyfen, using embryonic zebrafish. **Environ. Pollut.,** v. 218, p. 1089-1093, 2016. doi: 10.1016/j.envpol.2016.08.061.

TSUNODA, T.; KAWADA, H.; HUYNH, T. T.; LUU, L. L.; LE, S. H.; TRAN, H. N.; VU, H. T.; LE, H. M.; HASEBE, F.; TSUZUKI, A.; TAKAGI, M. Field trial on a novel control method for the dengue vector, *Aedes aegypti* by the systematic use of Olyset® Net and pyriproxyfen in Southern Vietnam. **Parasit. Vectors.**, v. 6, n. 6, 2013. doi: 10.1186/1756-3305-6-6.

VIEIRA-SANTOS, S. V.; CAIXETA, E. S.; CAMPOS-JUNIOR, E. O.; PEREIRA, B. B. Ecotoxicological effects of larvicide used in the control of *Aedes aegypti* on nontarget organisms: Redefining the use of piriproxifeno. **J. Toxicol. Environ. Health, Part A**, v. 80, n. 3, p. 155-160, 2017. doi: 10.1080/15287394.2016.1266721.

WANG, C. Y.; TENG, H. J.; LEE, S. J.; LIN, C.; WU, J. W.; WU, H. S. Efficacy of various larvicides against *Aedes aegypti* immatures in the laboratory. **Jpn. J. Infect. Dis.**, v. 66, p. 341-344, 2013. PMID: 23883850.

WATANABE, H.; ODA, S.; ABE, R.; TANAKA, Y.; TATARAZAKO, N. Comparison of the effects of constant and pulsed exposure with equivalent time-weighted average concentrations of the juvenile hormone analog pyriproxyfen on the reproduction of *Daphnia magna*. **Chemosphere,** v. 195, p. 810-816, 2018. doi: 10.1016/j.chemosphere.2017.12.124.

WHO. **Pyriproxyfen in drinking-water: Use for vector control in drinking-water sources and containers.** World Health Organization, 2007.

WHO. **Guidelines for Drinking-water Quality.** 4. ed. World Health Organization, 2011.

YUAN, L.; HUANG, X. Y.; LIU, Z. Y.; ZHANG, F.; ZHU, X. L.; YU, J. Y.; JI, X.; XU, Y. P.; LI, G.; LI, C.; WANG, H. J.; DENG, Y. Q.; WU, M.; CHENG, M. L.; YE, Q.; XIE, D. Y.; LI, X. F.; WANG, X.; SHI, W.; HU, B.; SHI, P. Y.; XU, Z.; QIN, C. F. A single mutation in the prM protein of Zika virus contributes to fetal microcephaly. **Science,** v. 358, p. 933-936, 2017. doi: 10.1126/science.aam7120.

# 3 ARTIGO 2 - ANÁLISE DA ECOTOXICIDADE DO DODECANOL NO COPÉPODO MARINHO *TISBE BIMINIENSIS:* SUBSTÂNCIA NATURAL COM EFEITO LARVICIDA PARA O CONTROLE DO *AEDES AEGYPTI*

Esta seção apresenta a toxicidade sub-letal no desenvolvimento do copépodo marinho *Tisbe biminiensis* após exposição ao dodecanol, com estimativas de $CE50_{72h}$, CENO e CEO; além de avaliar o risco oferecido a essa espécie com base nas concentrações efetivas para tratamento larvicida contra o *Aedes aegypti*. Foi proposto ainda o índice de periculosidade química em ecossistemas aquáticos ($IPQ_{aqua}$) para inferir a consequência que as substâncias químicas podem trazer aos ambientes aquáticos a partir de seus principais fatores físico-químicos. O $IPQ_{aqua}$ foi calculado para o dodecanol e outros pesticidas e foi feita uma análise comparativa ente eles.

## 3.1 INTRODUÇÃO

Compostos naturais, principalmente extratos e óleos vegetais, vem sendo estudados para fim larvicida contra o A*edes aegypti*, como alternativa aos pesticidas sintéticos que vem prejudicando a saúde ambiental (BEZERRA-SILVA *et al.*, 2016; CHUNG *et al*., 2012; DIAS & MORAIS, 2014; GARCEZ *et al*., 2013; NAGELLA *et al*., 2012; SINNIAH, 1983; TABANCA *et al*., 2014). Um estudo recente mostrou que o óleo essencial extraído da flor ornamental *Etlingera elatior* tem efeito de antioviposição nas fêmeas do *A. aegypti* e que o n-dodecanol, composto majoritário nesse óleo, também apresentou atividade antioviposição na concentração de 50 mg $L^{-1}$ (BEZERRA-SILVA *et al.*, 2016). Outros estudos mostraram que n-dodecanol apresenta atividade larvicida contra *A. aegypti,* com CL90 de 7,5 (6,7-8,9) mg $L^{-1}$ para larvas na fase L1 (TABANCA *et al*., 2014); CL95 de 25 mg $L^{-1}$ na fase L4 (BEZERRA-SILVA, 2012) e mortalidade de 90% (CL90) com taxa de pulverização de 7 L $ha^{-1}$ (SINNIAH, 1983). O n-dodecanol pode ser extraído de extratos vegetais de algumas espécies como *E. elatior* (BEZERRA-SILVA et al., 2016)*., Angelica dahurica* (TABANCA et al., 2014) e *Apium graveolens* (NAGELLA et al., 2012)*,* ou adquirido comercialmente a um custo relativamente baixo. Essas características apontam esse composto químico como promissor larvicida para *Aedes aegypti*. Porém, apesar de ser um composto natural é considerado perigoso ao ambiente

aquático, devido ao elevado coeficiente de partição octanol-água e possibilidade de bioacumulação. Portanto, é necessário verificar a toxicidade do mesmo em outros organismos não-alvo, especialmente em crustáceos, devido à sua proximidade taxonômica com os insetos.

Alguns organismos marinhos usados em testes de toxicidade são ouriços, moluscos, peixes, crustáceos, algas, dentre outros (NASCIMENTO *et al*., 2002). Microcrustáceos, por ter cultivo simples em laboratório e de baixo custo, tem sido bastante empregados (CHARRY *et al.*, 2018; DAHMS *et al*., 2016; RÉGIS *et al*., 2018). Os invertebrados pertencentes ao zooplâncton são altamente suscetíveis a pesticidas devido à baixa capacidade de locomoção que os impede de sair de locais contaminados, obrigando-os a exposição a contaminantes que podem ser absorvidos via oral, dérmica ou inalatória (PISA *et al.*, 2015).

Copépodos são microcrustáceos que representam o grupo mais abundante de invertebrados aquáticos, incluindo 14.500 espécies marinhas e de água doce (LEGRAND *et al.*, 2016). Possuem curto ciclo de vida, ampla distribuição geográfica e são os maiores consumidores primários e secundários na cadeia alimentar aquática, com capacidade de acumular poluentes e os transferir aos níveis tróficos superiores (LEGRAND *et al.* 2016). Dentre eles os do gênero *Tisbe* tem cultivo relativamente fácil e de baixo custo em laboratório e são sensíveis a contaminantes, por isso tem sido utilizados em estudos ecotoxicológicos (ARAUJO-CASTRO *et al.*, 2009; LAVORANTE *et al*., 2013; SOUZA-SANTOS *et al*., 2015). *Tisbe biminiensis* é uma espécie de copépodo da ordem Harpacticoida, com seis estágios larvais e cinco juvenis, anterior à fase adulta. Por ser epibentônico, isto é, vive na interface água-sedimento, é possivel utilizá-lo em testes de toxicidade em amostras de água ou sedimento (KUSK & WOLLENBERGER, 2007). Sabe-se que a fase larval dessa espécie é mais sensível a contaminantes do que a fase adulta, por isso, é proposta a utilização dos náuplios em bioensaios toxicológicos com amostras de água (COSTA, YOGUI & SOUZA-SANTOS, 2014; LAVORANTE *et al*., 2013; SOUZA-SANTOS & ARAUJO, 2013;) e sedimento (ARAUJO-CASTRO *et al.*, 2009; RÉGIS *et al.*, 2018).

A utilização de espécies nativas em testes ecotoxicológicos é interessante por expressar situações locais com maior particularidade e segurança (LAVORANTE *et al*., 2013). Nesta ótica, o copépodo Harpacticóide *Tisbe biminiensis* Volkmann-Rocco, 1973 coletado nas praias arenosas de Olinda (Pernambuco, Brasil) tem sido utilizado com sucesso em testes de

toxicidade e proposto como modelo representando espécies de copépodos marinhos tropicais. O uso dessa espécie de copépodo é uma boa alternativa em substituição aos ensaios com *Artemia* sp., pois esta geralmente apresenta uma sensibilidade menor a compostos químicos em comparação ao T. *biminiensis*.

Uma das finalidades da ecotoxicologia é obter a relação do efeito tóxico e biodisponibilidade de um agente químico (LOMBARDI E FERNANDES, 2008). Além disso, é importante investigar as características físico-químicas do composto a fim de prever seu comportamento em ecossistemas aquáticos. A avaliação de risco ambiental completa de um composto envolve uma série de análises complexas, que vai além da caracterização físico-quimica e ecotoxicológica, pois considera ainda a disposição e destino final no ambiente aquático, terrestre e na atmosfera (ZAGATTO, 2006). Porém, seria interessante uma avaliação inicial de risco e periculosidade direcionada ao ambiente aquático, visando avaliar substâncias identificadas como seguras a ambiente terrestre, mas com pouca informação em relação à segurança em ecossistemas aquáticos.

O objetivo desse estudo é testar a toxicidade sub-letal do dodecanol no desenvolvimento do copépodo marinho *Tisbe biminiensis* e propor um índice de periculosidade química direcionado a ambientes aquáticos para estimar o possível risco que essa substância pode causar nesses ecossistemas.

## 3.2 MATERIAIS E MÉTODOS

### 3.2.1 Compostos químicos e soluções

Os compostos e solventes utilizados foram: 1-Dodecanol (CAS: 112-53-8, Sigma-Aldrich, 98%), Tween 80 P.S. (CAS: 9005-65-6, Dinâmica, ≥ 99,9%), Dimetil Sulfóxido P.A./ACS (CAS: 67-68-5, Neon, ≥ 99,9%) e Acetona PA (CAS: 67 64-1, Anidrol, ≥ 99,5%) e sulfato de zinco P.A. heptahidratado (CAS: 7446-20-0, Vetec, ≥99,0%).

As soluções testes de dodecanol foram preparadas a partir de uma solução-mãe de 100 mg $L^{-1}$ de 1-dodecanol (previamente preparada e estocada em laboratório), diluída em água do mar natural (salinidade 35) com auxílio do solvente Tween 80 (1,33 g $L^{-1}$). Soluções teste de Tween 80 (polissorbato) foram preparadas em concentrações entre 0,12 e 11,67 g

$L^{-1}$ em água do mar. As soluções teste de acetona e DMSO foram preparadas a partir da diluição em volume percentual em água do mar, em concentrações entre 0,5 e 5% V/V para acetona e 0,5 e 1,5 % V/V para DMSO. A solução estoque de referência com sulfato de zinco foi preparada em água destilada (1 g $L^{-1}$) e as soluções teste foram feitas com diluição em água do mar, numa faixa de 1 a 9 mg $L^{-1}$ para o controle positivo da sensibilidade da prole.

### 3.2.2 Cultivo dos organismos teste e separação de prole

Adultos e náuplios de *Tisbe biminiensis* foram cultivados no Laboratório de Cultivo e Ecotoxicologia (LACE) da UFPE (Pernambuco, Brasil), sob condições ótimas, conforme estabelecido em Ribeiro & Souza-Santos (2011). Resumidamente, os organismos foram mantidos em caixas plásticas com 4,5 litros de água do mar natural, salinidade 35 ± 2, à temperatura de 28 ± 2 °C, fotoperíodo natural de 12L/12E, aeração constante e ausência de substrato. A água do mar foi previamente coletada com bomba em maré alta na área de Proteção Ambiental APA Costa dos Corais em frente ao CEPENE (Tamandaré - PE, Brasil), e transportada com caminhões-pipa para o LACE onde foi armazenada em caixas de água de 5.000 L, clorada para desinfecção e aerada para a retirada do cloro. Antes do seu uso esta água foi filtrada em filtros cunos de 5 µm, e, dependendo da necessidade, passou novamente pelo mesmo processo de desinfecção em caixas menores. Os organismos foram alimentados a cada 72 h com microalga *Chaetoceros muelleri* (cultivada em meio f/2 por técnica padrão) e ração para peixe INVE® (Bélgica). O meio de cultivo foi renovado completamente a cada 72h, antes de cada alimentação.

Os náuplios recém-eclodidos (com até 24h de vida) foram obtidos em um sistema de separação de prole, onde copépodos adultos (incluindo fêmeas ovígeras) foram colocados em duas caixas sobrepostas, separadas por uma rede de 120 µm de malha, contendo 3L de água do mar (salinidade 35 ± 2) e microalga *Chaetoceros muelleri* para alimentação. Esse sistema foi preparado um dia antes de cada teste ecotoxicológico. Após 24 horas, os adultos foram retirados com a rede e a água contendo os náuplios foi concentrada a 100 mL, com auxílio de uma peneira de 64 µm. Então, duas réplicas de 500 µm foram coletadas e foi feita a contagem de náuplios em cada uma, utilizando microscópio estereoscópio, assim a média de náuplios por mililitro foi estimada. Através de regra de três simples foi determinado o volume contendo aproximadamente 200 náuplios a ser pipetado em cada recipiente-teste.

### 3.2.3 Bioensaios com *Tisbe biminiensis*

Os testes ecotóxicológicos foram realizados com a exposição de náuplios de *Tisbe biminiensis* aos agentes químicos diluídos em água do mar. Antes de iniciar os ensaios toxicológicos com dodecanol, foram testadas as respostas tóxicas dos solventes orgânicos em *T. biminiensis*, a fim de determinar concentrações seguras para utilização dos mesmos na dissolução do dodecanol na água do mar. As faixas de concentrações testadas para os solventes Tween 80, DMSO e acetona foram 0,04 a 3,76 g $L^{-1}$, 0,5 a 1,5% V/V e 0,5 a 20 % V/V, respectivamente. Um teste preliminar foi feito numa ampla faixa de concentrações de dodecanol (5 a 500 mg $L^{-1}$), a fim de determinar a faixa de concentração ideal para estimativas de maior concentração sem efeito observável (CENO), menor concentração de efeito observável (CEO) e a concentração de efeito a 50% (CE50).

Os bioensaios com *Tisbe biminiensis* seguiram a metodologia descrita em Lavorante *et al.* (2013). Cerca de 200 náuplios recém-eclodidos (com até 24 h) foram expostos a concentrações pré-estabelecidas, abrangendo pelo menos cinco valores entre 2,47 e 61,75 mg $L^{-1}$ de 1-dodecanol, diluído em água do mar com salinidade 35 (± 2), previamente filtrada através de membrana de acetato de celulose (porosidade 0,45 µm), com auxílio de uma bomba a vácuo. Diatomáceas *Chaetoceros muelleri* (3 x $10^5$ cél $mL^{-1}$) foram adicionadas em suspensão para alimentação dos náuplios. As exposições foram feitas em recipientes-teste de vidro com as seguintes medidas externas: altura de 5 cm e diâmetro de 4.5 cm, e com volume interno de 50 mL; contendo 20 mL da solução teste, com quatro réplicas internas para cada concentração de dodecanol e dos controles. O teste foi executado sob exposição estática, duração de 72 h, temperatura de 28 ± 1 °C e fotoperíodo de 12L/12E. Após esse período, foi adicionado formol a 4% para fixar e corante rosa de bengala. Os experimentos foram realizados em 4 baterias de testes com diferentes proles para estimar melhor a variabilidade de reposta da espécie. Os parâmetros salinidade (35 ± 2), pH (8,1 ± 0,2) e oxigênio dissolvido (6 ± 1,5 mg $L^{-1}$) foram medidos no início e fim de cada bioensaio, em uma das réplicas de cada tratamento, afim de garantir as condições ideais no início do teste e estimar possíveis interferências ao longo do mesmo. Um teste adicional foi desenvolvido com renovação total diária dos meios de exposição. O percentual de desenvolvimento (efeito sub-letal) foi medido pela porcentagem de copepoditos corados no fim do experimento em relação ao total de náuplios estimados no início do experimento, ambos

números foram estimados através do uso de microscópio estereoscópio. Após validação dos controles negativos (conforme especificado no tópico 4.2.4), os percentuais de desenvolvimento nas concentrações-teste foram corrigidos, considerando o efeito no controle nulo, isto é, assumindo desenvolvimento de 100% no controle.

### 3.2.4 Controles dos bioensaios

Foram utilizados três tipos de controles nos bioensaios: negativo, positivo e controle dos solventes. O controle negativo foi feito com água do mar, onde a resposta tóxica no organismo é considerada nula. O controle do solvente é uma avaliação prévia dos solventes orgânicos necessários para diluir o composto químico nos meios de exposição, de forma a garantir eficácia na dissolução dos compostos e ao mesmo tempo não apresentar toxicidade ao organismo teste. Tween80®, DMSO e acetona foram os solventes testados previamente para estimar as concentrações seguras para dissolução de 1-dodecanol nos meios de exposição dos bioensaios, sem causar efeito tóxico sobre o microcrustáceo analisado. Paralelamente a cada teste, foram realizados testes com substância de referência (controle positivo) para testar a sensibilidade da prole do animal-teste, usando sulfato de zinco heptahidratado, conforme carta-controle estabelecida no Laboratório de Cultivo e Ecotoxicologia (LACE) nos últimos 7 anos.

Os testes foram considerados válidos após satisfazerem alguns pressupostos estabelecidos no LACE: os controles negativos devem ter o percentual de desenvolvimento de *Tisbe biminiensis* superior a 70% em relação à quantidade inicial de náuplios; a prole precisa estar saudável, isto é, os valores de CE50 do controle positivo com sulfato de zinco devem estar dentro dos limites aceitáveis, conforme carta controle pré-estabelecida.

### 3.2.5 Análises estatísticas

Os valores de CE50 (concentração efetiva a 50%) de dodecanol e sulfato de zinco heptahidratado no desenvolvimento de *Tisbe biminiensis,* foram estimados usando regressões PROBIT, por meio do software Statistica®, corrigindo os dados em relação ao desenvolvimento do controle. As estimativas da maior concentração que não causa efeito observado (CENO) e a menor concentração que causa efeito observado (CEO) do dodecanol e dos solventes testados (Tween 80, DMSO e acetona) foram feitas através de ANOVA, para

detectar diferenças estatísticas significativas, e teste de Dunnett ($p < 0,05$) a posteriori, utilizando o software Bioestat®. A comparação entre os efeitos dos tipos de exposições (estática X renovação diária) foi feita por meio de ANOVA bifatorial entre os dois grupos e entre cada par de concentrações no Bioestat®. O nível de significância considerado nas análises estatísticas foi de 0,05.

### 3.2.6 Estimativa de risco

A estimativa de risco foi adaptada de Vieira-Santos *et al.* (2017), dividindo o valor da concentração de dodecanol que pode ser utilizada para tratamento larvicida contra o *Aedes aegypti* pelo valor médio da CE50 obtido para *Tisbe biminiensis*. A classificação de risco foi feita com base no valor do quociente de risco (QR) obtido da seguinte forma: $QR \geq 0,5$ indica alto risco; $0,05 < QR < 0,5$ indica médio risco e $QR < 0,05$ sugere baixo risco.

## 3.3 RESULTADOS

### 3.3.1 Controles dos bioensaios

Os valores médios dos percentuais de desenvolvimento nos controles negativos foram 77,76 (± 10,83)%, 83,27 (± 7,06)%, 92,93 (± 7,34)% e 75,74 (± 6,24)% para os experimentos estáticos 1, 2, 3 e 4, respectivamente; e 80,02 (± 5,07)%, 77,74 (± 9,05)% e 94,39 (± 10,93)% nos testes dos solventes Tween 80, acetona e DMSO, respectivamente. Esses valores foram considerados válidos para teste de toxicidade com náuplios de *Tisbe biminiensis*, conforme protocolo experimental estabelecido no Laboratório de Cultivo e Ecotoxicologia da UFPE (ver tópico 4.2.4). Os valores percentuais entre parênteses representam um desvio padrão. O controle positivo com sulfato de zinco heptahidratado apresentou CE50 com valores entre 3,25 (± 1,60) e 4,70 (± 0,62) mg $L^{-1}$, estando dentro dos limites esperados (4 ± 1,6 mg $L^{-1}$) para uma prole saudável do organismo teste. Os valores entre parênteses, após a CE50, referem-se ao intervalo de confiança a 95%. As estimativas de CENO e CEO para os solventes foram, respectivamente: 1,17 g $L^{-1}$ e 5,84 g $L^{-1}$ para o Tween 80 (ANOVA: $F = 3,824$, $p = 0,024$), 0,5 e 0,75 % (V/V) para o DMSO (ANOVA: $F = 46,180$, $p < 0,0001$) e 0,5 e 1% (V/V) para acetona (ANOVA: $F = 177,046$, $p < 0,0001$). O Tween 80 foi escolhido como solvente, devido à baixa toxicidade e facilidade de dissolução do dodecanol na água do mar. A

concentração máxima de Tween 80 utilizada nos meios de teste foi 0,75 g $L^{-1}$, valor seguro, pois está baixo do CENO obtido para este solvente.

### 3.3.2 Toxicidade sub-letal do dodecanol em *Tisbe biminiensis*

Os percentuais de desenvolvimento obtidos nos quatro ensaios estão representados na Figura 1 e representam valores médios relativos ao controle. As figuras estão indicadas com números de 1 a 4 que identificam cada teste realizado com proles independentes. O experimento 1 foi executado numa ampla faixa de concentrações, abrangendo três ordens de grandeza, enquanto nos demais foram adotadas faixas mais estreitas e próximas a CE50. Valores percentuais acima de 100% indicam desenvolvimento ligeiramente maior que o controle, mas sem diferenças significativas. Os valores de CE50 no desenvolvimento de *T. biminiensis,* estimados para os experimentos de 1 a 4, foram: 20,52 (± 8,15) mg $L^{-1}$, 24,71 (± 2,49) mg $L^{-1}$, 32,85 (± 2,18) mg $L^{-1}$, 28,52 (± 1,64) mg $L^{-1}$, respectivamente; com valor médio de 26,65 (± 5,27) (Figura 2). As estimativas de CENO e CEO obtidas a partir dos resultados do experimento 4 foram 10,66 e 15,99 mg $L^{-1}$ (ANOVA: $F = 10,0068$, $p = 0,0006$), respectivamente. O valor crônico, calculado através da média geométrica entre CENO e CEO foi de 13,06 mg $L^{-1}$.

Paralelamente ao experimento 4 (desenvolvido sob condição estática) foi realizado um experimento extra com renovação diária dos meios de exposição. A Figura 3 apresenta as curvas-resposta sobrepostas obtidas para percentual de desenvolvimento nos dois experimentos. O valor da CE50 estimado no experimento com renovação diária foi de 28,56 mg $L^{-1}$. Não houve diferença significativa entre as condições experimentais estática X renovação diária (ANOVA: $F = 1,5744$, $p = 0,2171$), mas sim entre as concentrações (ANOVA: $F = 21,8990$, $p < 0,0001$). A interação entre os 2 fatores (renovação e concentração) não foi significativa (ANOVA: $F = 0,7019$, $p = 0,5992$).

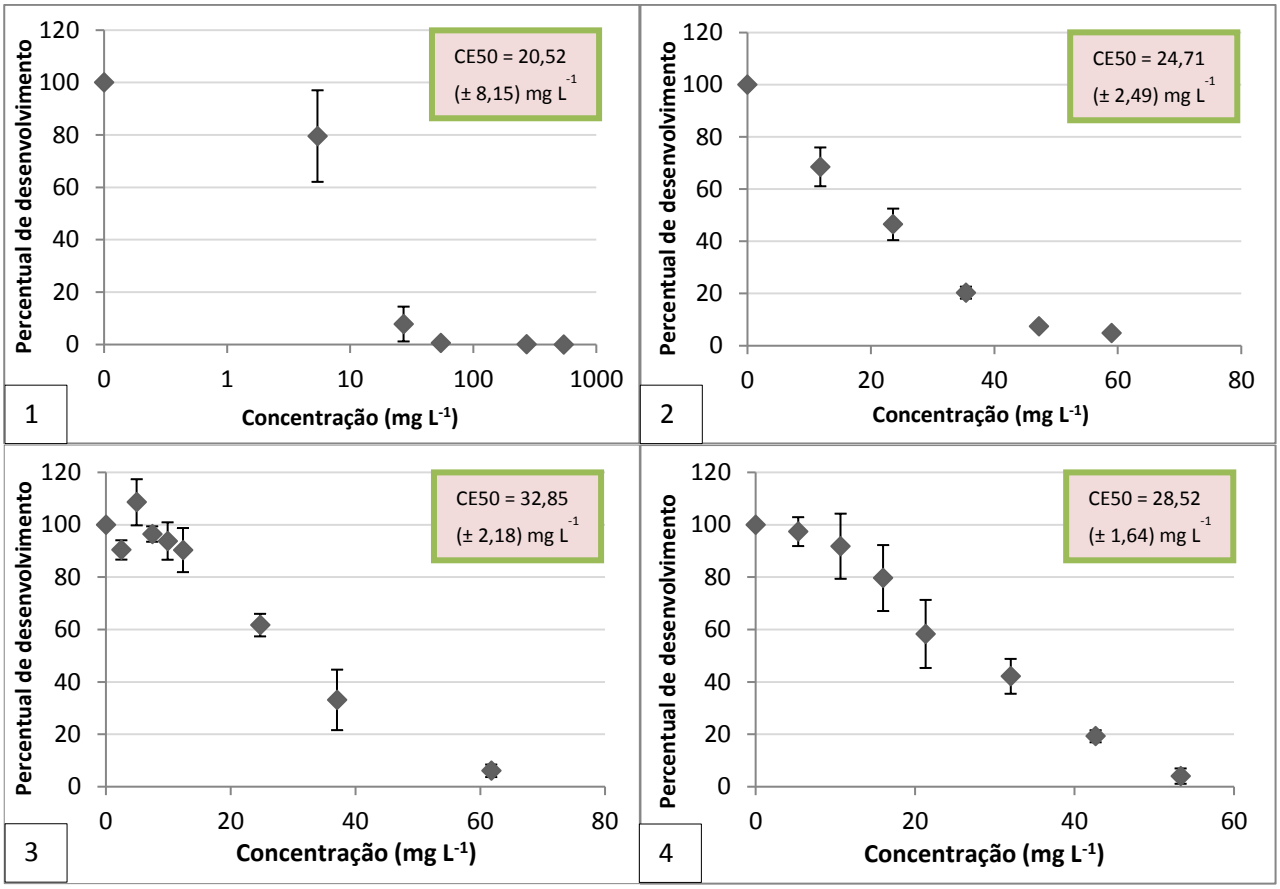


**Figura 1 -** Percentual de desenvolvimento dos náuplios de *Tisbe biminiensis* expostos a concentrações de dodecanol. Os percentuais são valores médios relativos ao controle e as barras representam um desvio padrão. Os números de 1 a 4 presentes no canto inferior esquerdo de cada gráfico identificam os experimentos realizados com proles independentes.

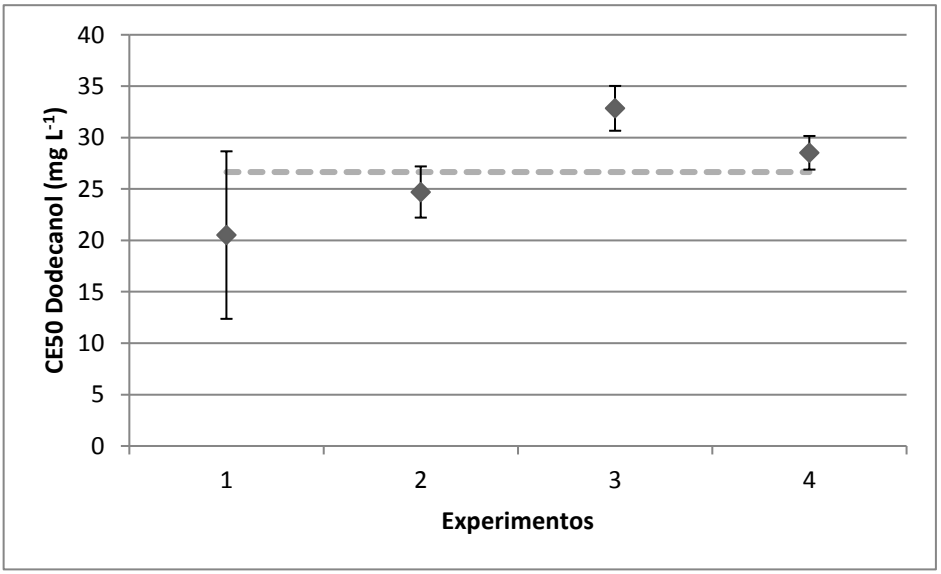


**Figura 2 -** Estimativa da CE50 do dodecanol no desenvolvimento de *Tisbe biminiensis* para os quatro experimentos independentes. A linha tracejada indica o valor médio da CE50 entre os experimentos. As barras de erro representam o intervalo de confiança a 95%.

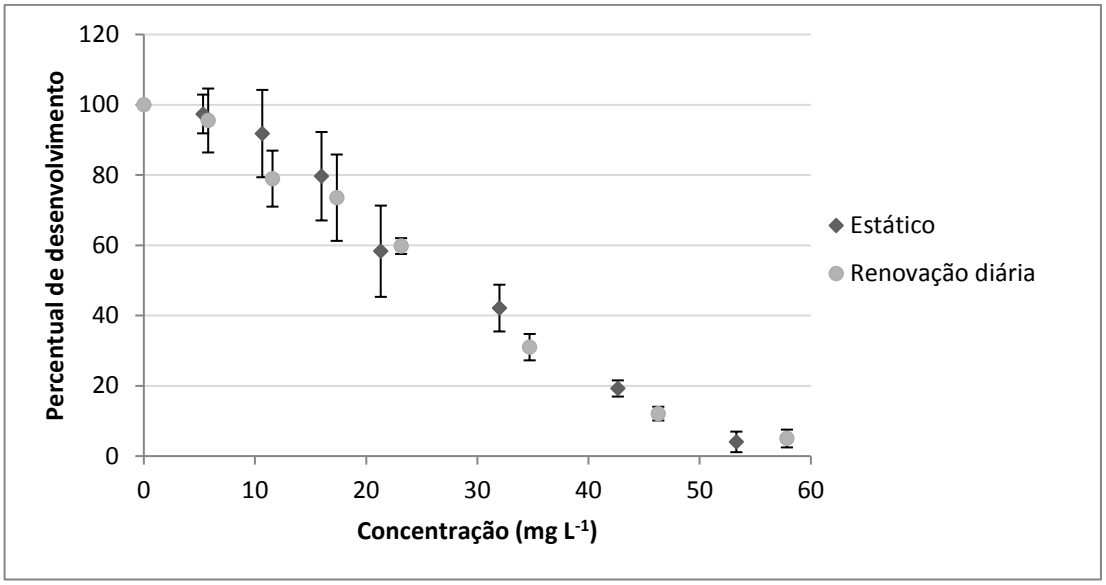


**Figura 3 -** Curvas do percentual de desenvolvimento nos experimentos com meio de exposição estática e com renovação diária.

### 3.3.3 Estimativa de risco do dodecanol ao *Tisbe biminiensis*

A estimativa de risco foi calculada com base nas concentrações efetivas de dodecanol para o tratamento larvicida do *Aedes aegypti.* Na fase larval L1 de *A. aegypti*, a concentração efetiva para tratamento larvicida é de 7,5 mg $L^{-1}$ (TABANCA *et al.*, 2014), enquanto na fase L4 é de 25 mg $L^{-1}$ (BEZERRA-SILVA, 2012). Os valores dos quocientes de risco estimados para a menor e maior concentração possivelmente utilizada para efeito larvicida foram 0,28 e 0,94, respectivamente; indicando risco médio na menor concentração e alto na maior.

### 3.3.4 Índice de periculosidade química em ecossistemas aquáticos

O índice de periculosidade química para ecossistemas aquáticos ($IPQ_{aqua}$) foi desenvolvido no presente estudo para inferir a consequência que as substâncias químicas podem trazer aos ambientes aquáticos a partir de seus fatores físico-químicos. Foi realizado um levantamento das principais características fisico-químicas que influenciam ambientes aquáticos das seguintes substâncias: dodecanol, piriproxifeno, temefós, DDT e DMSO. O índice proposto compara a periculosidade das substâncias de efeito pesticida (dodecanol, piriproxifeno, temefós e DDT) de forma relativa a uma substância de referência de baixa toxicidade. O DMSO é um solvente orgânico comumente utilizado em testes de toxicidade

aquática, por isso foi escolhido como substância de referência neste índice. O cálculo foi feito pelo somatório dos quocientes entre os fatores fisico-químicos da substância em questão em relação aos valores da substância de referência, conforme fórmula abaixo.

$$IPQ_{aqua} = \frac{\log k_{ow_x} - \log k_{ow_{ref}}}{|\log k_{ow_{ref}}|} + \frac{FBC_x - FBC_{ref}}{|FBC_{ref}|} + \frac{T_{mv_x} - T_{mv_{ref}}}{|T_{mv_{ref}}|} - \frac{PressV_x - PressV_{ref}}{|PressV_{ref}|}$$

Onde: log $k_{ow}$ é o logaritmo do coeficiente de partição octanol-água; FBC é o fator de bioconcentração; $T_{mv}$ é o tempo de meia vida e PressV é a pressão de vapor. Os índices x e ref aludem ao composto a ser avaliado e a substância de referência, respectivamente. Os fatores log $k_{ow}$, FBC e $T_{mv}$ são diretamente proporcionais ao $IPQ_{aqua}$, enquanto PressV é inversamente proporcional ao mesmo, por isso está representada com sinal negativo.

O valor de $IPQ_{aqua}$ para uma substância "x" é interpretado da seguinte forma:

a) $IPQ_{aqua,x} \leq 10$: Periculosidade muito baixa ou nula

b) $10 < IPQ_{aqua,x} < IPQ_{aqua,DDT}$: Periculosidade a ser melhor avaliada

c) $IPQ_{aqua,x} \geq IPQ_{aqua,DDT}$: Periculosidade muito elevada

Isto é, quanto mais próximo de 10, mais baixa será a periculosidade e quanto mais próxima do valor calculado para o DDT mais elevada será a periculosidade a ambientes aquáticos. O DDT foi definido como referência de elevada periculosidade neste índice, devido ao alto risco que representa ao ambiente aquático, por sua alta persistência e toxicidade ambiental, estando, por isso, atualmente banido em mais de 150 países (STOCKHOLM CONVENTION, 2019).

Os valores dos parâmetros físico-químicos adotados para o cálculo do índice de periculosidade química em ecossistemas aquáticos dos pesticidas estão dispostos na Tabela 1. Devido à falta de padronização nas medidas de tempo de meia vida das substâncias, foi calculada a média das estimativas disponíveis para cada uma delas. Os valores do $IPQ_{aqua}$ obtidos para dodecanol, piriproxifeno, temefós e DDT foram 21,51, 415,28, 585,09 e 1512,68, respectivamente. A ordem da periculosidade entre as substâncias analisadas foi: DDT > temefós > piriproxifeno > dodecanol.

É importante informar que existem outras avaliações de periculosidade, mas que refletem todo o ambiente, integrando fatores de ecossistemas aquáticos e terrestres. No Brasil, esta avaliação é desenvolvida pelo IBAMA e é chamada de "classificação quanto ao potencial de periculosidade ambiental". Porém, algumas substâncias são consideradas de baixa toxicidade para organismos terrestres, mas representam alta toxicidade para espécies aquáticas, como é o caso de muitos pesticidas, entre eles o piriproxifeno. Por isso, torna-se necessário uma avaliação de periculosidade mais direcionada a ambientes aquáticos. A presente proposta pretende suprir essa necessidade.

**Tabela 1 -** Fatores fisico-químicos e índices de periculosidade química a ecossistemas aquáticos.

| Substância | log $k_{ow}$ | FBC (peixe) | Tempo de meia vida (dias) | | | | | | Pressão vapor (mPa) | $IPQ_{aqua}$ |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | | S.A. aeróbico | S.A. anaeróbico | S.A. + MPS | Rio | Lago | Valor médio | | |
| 1-Dodecanol | 5,13 | 48 | - | - | 330 | 1,125 | 12 | 114,38 | 1300 | 21,51 |
| Piriproxifeno | 5,37 | 1620 | 20,8 | 288,9 | - | - | - | 154,85 | 0,013 | 415,28 |
| Temefós | 5,96 | 2300 | 17,2 | 19,7 | - | - | - | 18,45 | 0,011 | 585,09 |
| p,p'-DDT | 6,91 | 5060 | - | 1,86 | 109500 | 8,5 | 68 | 27394,59 | 0,021 | 1512,68 |
| DMSO | -0,6 | 4 | 116 | - | - | - | - | 116,00 | 59400 | - |

**Fonte**: PubChem (https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov)
As cores do IPQaqua indicam o nível de periculosidade. Verde: muito baixa ou nula; amarelo: periculosidade a ser melhor avaliada; vermelho: muito elevada.
As condições experimentais (temperatura, pH...) para estimativa dos fatores fisico-químicos não foram padronizadas e podem apesentar algumas diferenças.
log $k_{ow}$: logaritmo do coeficiente de partição octanol-água
FBC: Fator de bioconcentração
S.A.: Sistema aquático
MPS: Material particulado em suspensão

## 3.4 DISCUSSÃO

A ausência de diferença significativa entre as condições experimentais de exposição (estática X renovação diária) indica que possivelmente o dodecanol apresentou baixa degradabilidade e volatilidade durante os três dias de duração do teste, dentro dos parâmetros de temperatura, luminosidade, pH, oxigênio dissolvido sob os quais os bioensaios foram desenvolvidos.

O dodecanol apresentou valores de CEO e CE50 no desenvolvimento do copépodo marinho *Tisbe biminiensis* na mesma ordem de grandeza que os valores efetivos para uso no

combate às larvas de *Aedes aegypti*, 7,5 (6,7-8,9) mg $L^{-1}$ para larvas na fase L1 (TABANCA *et al.,* 2014) e 25 mg $L^{-1}$ na fase L4 (BEZERRA-SILVA, 2012). Na estimativa de risco, os valores de QR indicaram médio ou alto risco, dependendo da concentração a ser utilizada para fim larvicida. Geralmente as fases de vida iniciais dos organismos são mais sensíveis, por isso a concentração efetiva é menor. Por esse motivo, é indicado o foco na fase larval L1 na estimativa da concentração larvicida necessária para controle do *A. aegypti,* pois quanto maior a sensibilidade do organismo, menor a concentração utilizada para fins larvicidas e menor a exposição a espécies não-alvo como o *T. biminiensis* e, portanto, menor o risco ambiental.

Estudos de toxicidade com outras substâncias químicas foram desenvolvidos em *T. biminiensis* (Tabela 2). Lavorante *et al*. (2013) estimou a $CE50_{72h}$ e $CL50_{72h}$ do sulfato de zinco em náuplios desta espécie, obtendo os valores 3,25 ± 0,59 mg $L^{-1}$ e 3,46 ± 0,72 mg $L^{-1}$, respectivamente. Araújo-Castro *et al*. (2009) reportou um valor de 10,77 mg $L^{-1}$ para a $CL50_{96h}$ estimada para fêmeas de *T. biminiensis* expostas ao dicromato de potássio. O menor valor de concentração letal nessa espécie foi obtido por Costa, Yogui & Souza-Santos (2014) em testes com fêmeas expostas ao TBT, com $CL50_{48h}$ de 36 µg $L^{-1}$. O valor médio da $CE50_{72h}$ do dodecanol obtido no presente estudo (26,65 mg $L^{-1}$) é o maior já reportado para substâncias químicas nessa espécie de copépodo. Portanto, dentre as substâncias químicas testadas, dodecanol é a menos tóxica para *T. biminiensis.*

**Tabela 2 -** Ecotoxicidade de substâncias químicas em *Tisbe biminiensis.*

| Substância | Fase de vida | Estimativa | $T_{exp}$ | Parâmetro | Concentração (mg $L^{-1}$) | Referência |
|---|---|---|---|---|---|---|
| Sulfato de zinco | náuplios | CE50 | 72 h | Desenvolvimento | 3,25 ± 0,59 | Lavorante et al. (2013) |
| Sulfato de zinco | náuplios | CL50 | 72 h | Mortalidade | 3,46 ± 0,72 | Lavorante et al. (2013) |
| Dicromato de potássio | fêmeas | CL50 | 96 h | Mortalidade | 10,77 | Araújo-Castro et al. (2009) |
| Tributilestanho | fêmeas | CL50 | 48 h | Mortalidade | 0,036 | Costa, Yogui & Souza-Santos (2014) |
| 1-dodecanol | náuplios | CE50 | 72 h | Desenvolvimento | 26,65 (± 5,27) | Presente estudo |

**Fonte:** A autora
$T_{exp}$: tempo de exposição

A ecotoxicidade do dodecanol foi testada em outras espécies aquáticas (Tabela 3). Bengtsson, Renberg & Tarkpea (1984) testaram a mortalidade do copépodo marinho Harpacticoida *Nitocra spinipes*, obtendo $CL50_{96h}$ de 1,0 mg $L^{-1}$ para o dodecanol. Este trabalho analisou a toxicidade de álcoois alifáticos de 1 a 13 carbonos, obtendo os menores

valores de CL50 para os álcoois 1 –undecanol e 1-dodecanol para *N. spinipes*. Veith, Call & Brooke (1983) avaliou a toxicidade de álcoois alifáticos até 12 carbonos em *Pimephales promelas*, uma espécie de peixe de água doce, e obteve o menor valor de $CL50_{96h}$ para o dodecanol: 1,01 mg $L^{-1}$. De acordo com Belanger, Rawlings & Stackhouse (2018) a concentração média global de dodecanol em águas residuais é 0,278 µg $L^{-1}$ e a toxicidade aguda para dados combinados de peixes é 1,2 mg $L^{-1}$. Devido a grande diferença entre esses valores, os autores indicam que apenas a toxicidade crônica pode ser ambientalmente significativa, ou seja, o dodecanol não apresenta risco de toxicidade aguda em peixes. Nesta ótica, podemos estender essa interpretação para os copépodos *T. biminiensis* e *N. spinipes* que também apresentaram valores de toxicidade aguda muito acima do valor estimado para águas residuais. A concentração média detectada em efluentes aquáticos é cinco ordens de grandeza inferior ao valor crônico estimado para *T. biminiensis* (13,06 mg $L^{-1}$), logo o risco a essa espécie é improvável. Considerando que 1/10 da CL50 seja próximo ao valor crônico, as espécies *N. spinipes* e *P. promelas* apresentariam valor crônico próximo a 0,1 mg $L^{-1}$, com diferença de 4 ordens de grandeza acima da concentração ambiental. Logo, estima-se que o risco apresentado pelo dodecanol às espécies citadas é improvável. Porém, pouquíssimos trabalhos reportam a toxicidade de dodecanol em organismos aquáticos não-alvo, portanto é necessário o desenvolvimento de estudos mais abrangentes de forma a avaliá-lo com maior segurança, principalmente se esse composto vier a ser utilizado como pesticida em larga escala.

**Tabela 3** - Toxicidade do dodecanol para espécies aquáticas.

| Espécie | Estimativa | $T_{exp}$ | Parâmetro | Concentração (mg $L^{-1}$) | Referência |
|---|---|---|---|---|---|
| *Nitocra spinipes* | CL50 | 96 h | Mortalidade | 1,0 | Bengtsson, Renberg & Tarkpea (1984) |
| *Pimephales promelas* | CL50 | 96 h | Mortalidade | 1,01 | Veith, Call & Brooke (1983) |
| *Tisbe biminiensis* | CE50 | 72 h | Desenvolvimento | 26,65 (± 5,27) | Presente estudo |

**Fonte:** A autora
$T_{exp}$: tempo de exposição

As estimativas do índice de periculosidade química para ecossistemas aquáticos demonstraram que o DDT representa o maior risco a ambientes aquáticos, conforme esperado, devido a sua elevada toxicidade já comprovada (MIRANDA FILHO *et al.,* 2008). O temefós foi bastante utilizado no Brasil para controle do *Aedes aegypti*, mas foi substituído

pelo piriproxifeno devido à resistência desenvolvida pelas larvas (LIMA *et al*., 2011). Atualmente o uso do temefós é proibido na União Europeia devido aos ricos associados ao mesmo (COMMISSION REGULATION, 2002). O $IPQ_{aqua}$ do piriproxifeno e temefós estão na mesma ordem de grandeza, portanto é possível que o risco ambiental que ambos oferecem a ecossistemas aquáticos seja similar. Por outro lado, o $IPQ_{aqua}$ estimado para o dodecanol tem uma ordem de grandeza inferior ao valor calculado para o piriproxifeno. Isso sugere que, levando em consideração as características fisico-químicas dos compostos na água, o dodecanol representa menor periculosidade aquática em relação aos demais analisados, corroborando com a possibilidade do mesmo substituir o piriproxifeno no controle do *Aedes aegypti* de forma ambientalmente mais segura.

## 3.5 CONCLUSÕES

- Os solventes orgânicos Tween 80, DMSO e acetona apresentam concentrações seguras para dissolução de substâncias químicas em testes de toxicidade sub-letal com náuplios de *Tisbe biminiensis*.
- O dodecanol apresentou valores de CEO (15,99 mg $L^{-1}$) e CE50 (média: 26,65 ± 5,27 mg $L^{-1}$) no desenvolvimento do copépodo *T. biminiensis* próximos às concentrações efetivas para tratamento larvicida do *Aedes aegypti* (larvas fase L1: $CL90_{24h}$ = 7,5 (6,7-8,9) mg $L^{-1}$; larvas fase L4: $CL95_{24h=}$ 25 mg $L^{-1}$), podendo gerar médio ou alto risco dependendo da concentração utilizada.
- O dodecanol pode causar risco médio em *T. biminiensis*, se utilizado contra *A. aegypti* com foco nas larvas em fase L1 que são mais sensíveis. Porém se utilizado na fase L4 pode gerar alto risco no desenvolvimento do copépodo.
- Dentre as substâncias químicas já testadas em *Tisbe biminiensis* (1-dodecanol, sulfato de zinco, dicromato de potássio e tributilestanho), o dodecanol é a menos tóxica.
- A estimativa da toxicidade do dodecanol em outros organismos aquáticos reportaram valores de CL50 menores que a CE50 estimada para *T. biminiensis*, demonstrando menor sensibilidade deste último em relação ao copépodo *N. spinipes* e ao peixe *P. promelas.*

- A concentração média global de dodecanol em águas residuais é extremamente menor que os valores estimados para gerar efeito tóxico nos organismos aquáticos avaliados, sugerindo risco improvável.
- Os valores do $IPQ_{aqua}$ calculados para piriproxifeno e temefós foram próximos, indicando periculosidade química similar em ambientes aquáticos
- O dodecanol apresentou menor $IPQ_{aqua}$, sugerindo menor periculosidade aquática dentre os pesticidas avaliados e, portanto, maior segurança a ecossistemas aquáticos.

## 3.6 REFERÊNCIAS

ARAUJO-CASTRO, C. M. V.; SOUZA-SANTOS, L. P.; TORREIRO, A. G. A. G.; GARCIA, K. S. Sensitivity of the marine benthic copepod *Tisbe biminiensis* (Copepoda, Harpacticoida) to potassium dichromate and sediment particle size. **Braz. J. Oceanogr.**, v. 57, n. 1, p. 33-41, 2009. doi: 10.1590/S1679-87592009000100004.

BELANGER, S. E.; RAWLINGS, J. M.; STACKHOUSE, R. Advances in understanding the response of fish to linear alcohols in the environment. **Chemosphere**, v. 206, p. 539–548, 2018. doi: 10.1016/j.chemosphere.2018.04.152.

BENGTSSON, B. E.; RENBERG, L.; TARKPEA, M. Molecular structure and aquatic toxicity — An example with C1 - C13 aliphatic alcohols. **Chemosphere**, v. 13 n. 5-6, p. 613–622, 1984. doi: 10.1016/0045-6535(84)90198-x

BEZERRA-SILVA, P. C. **Caracterização química, atividade larvicida e deterrente de oviposição do óleo essencial da inflorescência do Bastão do Imperador (*Etlingera elatior*) frente à *Aedes aegypti.*** 2012. 105 p. Dissertação (Mestrado). Departamento de Oceanografia, Universidade Federal de Pernambuco, Recife, Brasil.

BEZERRA-SILVA, P. C.; DUTRA1, K. A.; SANTOS, G. K. N.; SILVA, R. C. S.; IULEK, J.; MILET-PINHEIRO, P.; NAVARRO, D. M. A. F. Evaluation of the Activity of the Essential Oil from an Ornamental Flower against *Aedes aegypti*: Electrophysiology, Molecular Dynamics and Behavioral Assays. **PLoS ONE**, v: 11, n. 2, p. 1-15, 2016. doi: 10.1371/journal.pone.0150008.

CHARRY, M. P.; KEESING, V.; COSTELLO, M.; TREMBLAY, L. A. Assessment of the ecotoxicity of urban estuarine sediment using benthic and pelagic copepod bioassays. **PeerJ**, 6:e4936; 2018. doi: 10.7717/peerj.4936.

CHUNG, I. M.; AHMAD, A.; KIM, S. J.; NAIK, P. M.; NAGELLA, P. Composition of the essential oil constituents from leaves and stems of Korean *Coriandrum sativum* and their immunotoxicity activity on the *Aedes aegypti* L. **Immunopharmacol. Immunotoxicology**, v. 34, n. 1, p. 152–156, 2012. doi: 10.3109/08923973.2011.589030.

COMMISSION REGULATION (EC). No 2076/2002 of 20 November 2002 extending the time period referred to in Article 8(2) of **Council Directive 91/414/EEC** and concerning the non-inclusion of certain active substances in Annex I to that Directive and the withdrawal of authorisations for plant protection products containing these substances. 2002.

COSTA, B. V. M.; YOGUI, G. T.; SOUZA-SANTOS, L. P. Acute toxicity of tributyltin on the marine copepod *Tisbe biminiensis*. **Braz. J. Oceanogr.**, v. 62, n. 1, p. 65-69, 2014. doi: http://dx.doi.org/10.1590/s1679-87592014075706201.

DAHMS, H. U.; WON, E. J.; KIM, H. S.; HAN, J.; PARK, H. G.; SOUISSI, S.; RAISUDDIN, S.; LEE, J. S. Potential of the small cyclopoid copepod *Paracyclopina nana* as an invertebrate model for ecotoxicity testing. **Aquat. Toxicol**. v. 180, p. 282–294, 2016. doi: 10.1016/j.aquatox.2016.10.013.

DIAS, C. N.; MORAES, D. F. C. Essential oils and their compounds as *Aedes aegypti* L. (Diptera: Culicidae) larvicides: review. **Parasitol. Res.**, v. 113, p. 565–592, 2014. doi: https://doi.org/10.1007/s00436-013-3687-6.

GARCEZ, W. S.; GARCEZ, F. R.; SILVA, L. M. G. E.; SARMENTO, U. C. Substâncias de Origem Vegetal com Atividade Larvicida Contra *Aedes aegypti*. **Rev. Virtual Quim.**, v. 5, n. 3, p. 363-393, 2013. doi: 10.5935/1984-6835.20130034.

HORIE, Y.; YAMAGISHI, T.; TAKAHASHI, H.; SHINTAKU, Y.; IGUCHI, T.; TATARAZAKO, N. Assessment of the lethal and sublethal effects of 20 environmental chemicals in zebrafish embryos and larvae by using OECD TG 212. **J. Appl. Toxicol.,** 2017. doi: 10.1002/jat.3487.

KUSK, K.; WOLLENBERGER, L. Towards an internationally harmonized test method for reproductive and developmental effects of endocrine disrupters in marine copepods. **Ecotoxicol.,** v. 16, n.1, p. 183–195, 2007. doi:10.1007/s10646-006-0112-2.

LAVORANTE, B. R. B. O.; OLIVEIRA, D. D.; COSTA, B. V. M.; SOUZA-SANTOS, L. P. A new protocol for ecotoxicological assessment of seawater using nauplii of *Tisbe biminiensis* (Copepoda:Harpacticoida). **Ecotoxicol. Environ. Saf.**, v. 95, p. 52-59, 2013. doi:10.1016/j.ecoenv.2013.05.010.

LEGRAND, E.; FORGET-LERAY, J.; DUFLOT, A.; OLIVIER, S.; THOMÉ, J. P.; DANGER, J. J.; BOULANGÉ-LECOMTE, C. Transcriptome analysis of the copepod Eurytemora affinis upon exposure to endocrine disruptor pesticides: Focus on reproduction and development. **Aquat. Toxicol**. v. 6, p. 64-75, 2016. doi: 10.1016/j.aquatox.2016.04.010.

LIMA, E. P.; PAIVA, M. H. S.; ARAÚJO, A. P.; SILVA, E. V. G.; SILVA, U. M.; OLIVEIRA, L. N.; SANTANA, A. E. G.; BARBOSA, C. N.; PAIVA NETO, C. C.; GOULART, M. O. F.; WILDING, C. S.; AYRES, C. F. J.; SANTOS, M. A. V. M. Insecticide resistance in *Aedes aegypti* populations from Ceará, Brazil. **Parasites Vectors**, v. 4, n. 5, 2011. doi: 10.1186/1756-3305-4-5.

LOMBARDI, A. T.; FERNANDES, M. Ecotoxicologia. Em: BAPTISTA-NETO, J. A.; WALLNER-KERSANACH, M.*, et al* (Ed.). **Poluição Marinha**. Rio de Janeiro: Interciência, 2008. p. 369-394.

MIRANDA FILHO, K. C.; MONTONE, R. C.; FILLMANN, G. Compostos Organoclorados. In: BAPTISTA-NETO, J. A.; WALLNER-KERSANACH, M.*, et al* (Ed.). **Poluição Marinha**. Rio de Janeiro: Interciência, 2008. p. 97- 59.

NAGELLA, P.; AHMAD, A.; KIM, S. J.; CHUNG, I. M. Chemical composition, antioxidant activity and larvicidal effects of essential oil from leaves of *Apium graveolens*. **Immunopharmacol. Immunotoxicology**, v. 34, n. 2, p. 205–209, 2012. doi: 10.3109/08923973.2011.592534.

NASCIMENTO, I. A.; SOUSA, E. C. P. M.; NIPPER, M. **Métodos em ecotoxicologia marinha: aplicações no Brasil.** São Paulo: Artes gráficas e Indústria Ltda., 2002. 262 p.

PISA, L. W.; AMARAL-ROGERS, V.; BELZUNCES, L. P.; BONMATIN, J. M.; DOWNS, C. A.; GOULSON, D.; KREUTZWEISER, D. P.; KRUPKE, C.; LIESS, M.; MCFIELD, M.; MORRISSEY, C. A.; NOOME, D. A.; SETTELE, J.; SIMON-DELSO, N.; STARK, J. D.; VAN DER SLUIJS, J. P.; VAN DYCK, H.; WIEMERS, M. Effects of neonicotinoids and fipronil on non-target invertebrates. **Environ. Sci. Pollut. Res**., v. 22, n. 1, p. 68–102, 2015. doi:10.1007/s11356-014-3471-x.

RÉGIS, C. G.; SOUZA-SANTOSA, L. P.; YOGUI, G. T.; MORAES, A. S.; SCHETTINID, C. A. F. Use of *Tisbe biminiensis* nauplii in ecotoxicological tests and geochemical analyses to assess the sediment quality of a tropical urban estuary in northeastern Brazil. **Mar. Pollut. Bull.** v. 137, p. 45–55, 2018. doi: 10.1016/j.marpolbul.2018.10.011.

RIBEIRO, A. C. B.; SOUZA-SANTOS, L. P. Mass culture and offspring production of marine harpacticoid copepod *Tisbe biminiensis*. **Aquaculture**, v. 321, p. 280–288, 2011. doi: 10.1016/j.aquaculture.2011.09.016.

SINNIAH, B. Insecticidal effect of aliphatic alcohols against aquatic stages of Aedes mosquitoes. **Trans. Roya Soc. Trop. Med. Hyg.**, v. 77, n. 1, p. 35-38, 1983. doi: 10.1016/0035-9203(83)90007-x.

SOUZA-SANTOS, L. P.; ARAÚJO, R. J. Water toxicity assessment in the Suape estuarine complex (PE-Brazil). **Ecotoxicol. Environ. Contam.**, v. 8, n. 1, p. 59-65, 2013. doi: 10.5132/eec.2013.01.009.

SOUZA-SANTOS, L. P.; OLIVEIRA, D. D.; LIMA, E. S. The use of epibenthic copepod Tisbe biminiensis nauplii to assess the toxicity of seawater samples in Suape Bay (state of Pernambuco; Brazil). **Ecotoxicol. Environ. Contam.**, v. 10, n. 1, p. 61-69, 2015. doi: 10.5132/eec.2015.01.10.

STOCKHOLM-CONVENTION. **Status of Ratifications**. Disponível em: <http://chm.pops.int/Countries/StatusofRatifications/PartiesandSignatoires/tabid/4500/Default.aspx>. Acesso em: 13 de agosto de 2019.

TABANCA, N.; GAO, Z.; DEMIRCI, B.; TECHEN, N.; WEDGE, D. E.; ALI, A.; SAMPSON, B. J.; WERLE, C.; BERNIER, U. R.; KHAN, I. A.; BASER, K. H. C. Molecular and Phytochemical Investigation of *Angelica dahurica* and *Angelica pubescentis* Essential Oils and Their Biological Activity against *Aedes aegypti*, *Stephanitis pyrioides*, and *Colletotrichum* Species. **J. Agric. Food Chem.**, v. 62, p. 8848−8857, 2014. doi: 10.1021/jf5024752.

VEITH, G. D.; CALL, D. J.; BROOKE, L. T. Structure–Toxicity Relationships for the Fathead Minnow, *Pimephales promelas*: Narcotic Industrial Chemicals. **Can. J. Fish. Aquat. Sci**., v. 40, n. 6, p. 743–748, 1983. doi:10.1139/f83-096.

VIEIRA-SANTOS, S. V.; CAIXETA, E. S.; CAMPOS-JUNIOR, E. O.; PEREIRA, B. B. Ecotoxicological effects of larvicide used in the control of *Aedes aegypti* on nontarget organisms: Redefining the use of piriproxifeno. **J. Toxicol. Environ. Health, Part A**, v. 80, n. 3, p. 155-160, 2017. doi: 10.1080/15287394.2016.1266721.

ZAGATTO, PA. Avaliação de risco e do potencial de periculosidade de agentes químicos para o ambiente aquático. In ZAGATTO, P. A. & BERTOLETTI, E., (Ed.). **Ecotoxicologia Aquática-Princípios e Aplicações**. São Paulo: Editora Rima. 2006. p. 383 - 411.

# 4 CONSIDERAÇÕES FINAIS

O levantamento de contaminação por substâncias químicas em matrizes ambientais é extremamente importante para prever possíveis riscos ambientais. Indicamos a necessidade de estudos de contaminação ambiental aquática com piriproxifeno e dodecanol de forma a ampliar o conhecimento aos níveis regional e mundial. Estudos ecotoxicológicos em diversos táxons de organismos aquáticos também são de suma importância e necessidade para avaliação de risco. O presente trabalho mostrou que alguns microcrustáceos e uma espécie de peixe podem ser altamente prejudicados pelo piriproxifeno. Consideramos a possibilidade de reavaliação do uso dessa substância pelo órgão ambiental competente. Pouquíssimos estudos foram feitos para avaliar a toxicidade de dodecanol em organismos aquáticos não-alvo. Sugerimos a avaliação do mesmo em outras espécies de microcrustáceos, peixes e organismos representantes dos diversos grupos biológicos, assim como o estudo de possíveis sinergias com outros compostos presentes no ambiente. Os resultados apresentados nesse estudo em relação a ecotoxicidade aquática e avaliação de risco e periculosidade indicam que o dodecanol é uma alternativa ambientalmente plausível para substituição do piriproxifeno no controle do *Aedes aegypti*. Ainda assim, o controle químico deve ser feito apenas quando existe real necessidade, isto é, quando a larva do *A. aegypti* já está presente no local. A forma mais efetiva de controle e completamente segura ao meio ambiente é a prevenção, evitando formação de ambientes propícios ao desenvolvimento das larvas dos mosquitos.

## REFERÊNCIAS

AAEN, S. M.; HORSBERG, T. E. A screening of multiple classes of pharmaceutical compounds for effect on preadult salmon lice *Lepeophtheirus salmonis.* **J. Fish. Dis.,** v. 39, n. 10, p. 1213-1223, 2016. doi: 10.1111/jfd.12463.

ALVES, P. S.; OLIVEIRA, M. D. A.; ALMEIDA, P. M.; MARTINS, F. A.; CAVALCANTE, A. A. C. M.; ANDRADE, T. J. A. S., FEITOSA, C. M.; RAI, M.; REIS, A. C.; COSTA-JÚNIOR, J. S. Determination by chromatography and cytotoxotoxic and oxidative effects of pyriproxyfen and pyridalyl. **Chemosphere**, v. 224, p. 398-406, 2019. doi: 10.1016/j.chemosphere.2019.02.037.

AÑASCO, N. C.; KOYAMA, J.; UNO, S. Pesticide residues in coastal waters affected by rice paddy effluents temporarily stored in a waste water reservoir in southern Japan. **Arch. Environ. Contam. Toxicol.,** v. 58, n. 2, p. 352-60, 2010. doi: 10.1007/s00244-009-9364-1.

ANTCZAK, P.; JO, H. J.; WOO, S.; SCANLAN, L.; POYNTON, H.; LOGUINOV, A.; CHAN, S.; FALCIANI, F.; VULPE, C. Molecular toxicity identification evaluation (mTIE) approach predicts chemical exposure in *Daphnia magna*. **Environ. Sci. Technol.,** v. 47, n. 20, p. 11747-1156, 2013. doi: 10.1021/es402819c.

ARAUJO-CASTRO, C. M. V.; SOUZA-SANTOS, L. P.; TORREIRO, A. G. A. G.; GARCIA, K. S. Sensitivity of the marine benthic copepod *Tisbe biminiensis* (Copepoda, Harpacticoida) to potassium dichromate and sediment particle size. **Braz. J. Oceanogr.**, v. 57, n. 1, p. 33-41, 2009. doi: 10.1590/S1679-87592009000100004.

BELANGER, S. E.; RAWLINGS, J. M.; STACKHOUSE, R. Advances in understanding the response of fish to linear alcohols in the environment. **Chemosphere**, v. 206, p. 539–548, 2018. doi: 10.1016/j.chemosphere.2018.04.152

BELENGUER, V.; MARTINEZ-CAPEL, F.; MASIÁ, A.; PICÓ, Y. Patterns of presence and concentration of pesticides in fish and waters of the Júcar River (Eastern Spain). **J. Hazard. Mater.,** v. 265, p. 271-279, 2014. doi: 10.1016/j.jhazmat.2013.11.01.6.

BENGTSSON, B. E.; RENBERG, L.; TARKPEA, M. Molecular structure and aquatic toxicity — An example with C1 - C13 aliphatic alcohols. **Chemosphere**, v. 13 n. 5-6, p. 613–622, 1984. doi: 10.1016/0045-6535(84)90198-x

BEZERRA-SILVA, P. C. **Caracterização química, atividade larvicida e deterrente de oviposição do óleo essencial da inflorescência do Bastão do Imperador (*Etlingera elatior*) frente à *Aedes aegypti.*** 2012. 105 p. Dissertação (Mestrado). Departamento de Oceanografia, Universidade Federal de Pernambuco, Recife, Brasil.

BEZERRA-SILVA, P. C.; DUTRA1, K. A.; SANTOS, G. K. N.; SILVA, R. C. S.; IULEK, J.; MILET-PINHEIRO, P.; NAVARRO, D. M. A. F. Evaluation of the Activity of the Essential Oil from an Ornamental Flower against *Aedes aegypti*: Electrophysiology, Molecular Dynamics and Behavioral Assays. **PLoS ONE**, v: 11, n. 2, p. 1-15, 2016. doi: 10.1371/journal.pone.0150008

BIGGERS, W. J.; LAUFER, H. Detection of juvenile hormone-active compounds by larvae of the marine annelid *Capitella* sp. I. **Arch. Insect. Biochem. Physiol.,** v. 32, p. 475-484, 1996. doi: https://doi.org/10.1002/(SICI)1520-6327(1996)32:3/4<475::AID-ARCH19>3.0.CO;2-9.

BRASIL, Ministério da Saúde. 2014. **Orientações técnicas para a utilização do larvicida piriproxifeno (0,5 G) no controle de *Aedes aegypti***. Disponível em: < http://portalarquivos2.saude.gov.br/images/pdf/2014/maio/30/Instrucoes-para-uso-de-pyriproxifen-maio-2014.pdf >. Acesso em: 10 de janeiro de 2018.

BROWN, J. E.; EVANS, B. R.; ZHENG, W.; OBAS, V.; BARRERA-MARTINEZ, L.; EGIZI, A.; ZHAO, H.; CACCONE, A.; POWELL, J. R. Human impacts have shaped historical and recent evolution in Aedes aegypti, the dengue and yellow fever mosquito. **Evolution,** v. 68, n. 2, p. 514–525, 2013. doi: 10.1111/evo.12281.

BROWN, M. D.; THOMAS, D.; KAY, B. H. Acute toxicity of selected pesticides to the Pacific blue-eye, *Pseudomugil signifer* (Pisces). **J. Am. Mosq. Control. Assoc.,** v. 14, n. 4, p. 463-466, 1998. PMID: 10084142.

BROWN, M. D.; THOMAS, D.; WATSON, K.; GREENWOOD, J. G.; KAY, B. H. Acute toxicity of selected pesticides to the estuarine shrimp *Leander tenuicornis* (Decapoda: Palaemonidae). **J. Am. Mosq. Control. Assoc.**, v. 12, n. 4, p. 721-724, 1996. PMID: 9046481.

CAIXETA, E. S.; SILVA, C. F.; SANTOS, V. S.; CAMPOS JUNIOR, E. O.; PEREIRA, B. B. Ecotoxicological assessment of pyriproxyfen under environmentally realistic exposure conditions of integrated vector management for *Aedes aegypti* control in Brazil. **J. Toxicol. Environ. Health. A.,** v. 79, n. 18, p. 799-803, 2016. doi: 10.1080/15287394.2016.1191400.

CDPR. **California Departament of Pesticide Regulation**. Search for Pesticide Products by Partial Product Name: Pyriproxyfen. Disponível em: <https://www.cdpr.ca.gov/docs/label/prodnam.htm"ov/docs/label/prodnam.htm> Acesso em: 11 de julho de 2019.

CHARRY, M. P.; KEESING, V.; COSTELLO, M.; TREMBLAY, L. A. Assessment of the ecotoxicity of urban estuarine sediment using benthic and pelagic copepod bioassays. **PeerJ**, 6:e4936; 2018. doi: 10.7717/peerj.4936

CHUNG, I. M.; AHMAD, A.; KIM, S. J.; NAIK, P. M.; NAGELLA, P. Composition of the essential oil constituents from leaves and stems of Korean *Coriandrum sativum* and their immunotoxicity activity on the *Aedes aegypti* L. **Immunopharmacol. Immunotoxicology**, v. 34, n. 1, p. 152–156, 2012. doi: 10.3109/08923973.2011.589030.

CLARK, R. B. Halogenated hydrocarbons. In: PRESS, O. U. (Ed.). **Marine Pollution**. New York, 2001. p.127-150.

COMMISSION REGULATION (EC). No 2076/2002 of 20 November 2002 extending the time period referred to in Article 8(2) of **Council Directive 91/414/EEC** and concerning the non-

inclusion of certain active substances in Annex I to that Directive and the withdrawal of authorisations for plant protection products containing these substances. 2002.

COSTA, B. V. M.; YOGUI, G. T.; SOUZA-SANTOS, L. P. Acute toxicity of tributyltin on the marine copepod *Tisbe biminiensis*. **Braz. J. Oceanogr.**, v. 62, n. 1, p. 65-69, 2014. doi: http://dx.doi.org/10.1590/s1679-87592014075706201.

DAHMS, H. U.; WON, E. J.; KIM, H. S.; HAN, J.; PARK, H. G.; SOUISSI, S.; RAISUDDIN, S.; LEE, J. S. Potential of the small cyclopoid copepod *Paracyclopina nana* as an invertebrate model for ecotoxicity testing. **Aquat. Toxicol**. v. 180, p. 282–294, 2016. doi: 10.1016/j.aquatox.2016.10.013

DHADIALLA, T. S.; CARLSON, G. R.; LE, D. P. New insecticides with ecdysteroidal and juvenile hormone activity. **Annu. Rev. Entomol.** v. 43, p. 545–69, 1998. doi: 10.1146/annurev.ento.43.1.545.

DIAS, C. N.; MORAES, D. F. C. Essential oils and their compounds as *Aedes aegypti* L. (Diptera: Culicidae) larvicides: review. **Parasitol. Res.**, v. 113, p. 565–592, 2014. doi: https://doi.org/10.1007/s00436-013-3687-6.

EFSA. European Food Safety Authority. Conclusion on pesticide peer review regarding the risk assessment of the active substance pyriproxyfen. **EFSA Sci. Rep.,** v. 336, p. 1-99, 2009.

EUROPEAN COMMISSION. EU **Pesticides database**, **Search active substances – Active substance detail – Pyriproxyfen**. Disponível em: <http://ec.europa.eu/food/plant/pesticides/eu-pesticides-database/public/?event=activesubstance.detail&language=EN&selectedID=1807> Acesso em: 11 de julho de 2019.

FOURRIER, J.; DESCHAMPS, M.; DROIN, L.; ALAUX, C.; FORTINI, D.; BESLAY, D.; CONTE, Y. L.; DEVILLERS, J.; AUPINEL, P.; DECOURTYE, A. Larval Exposure to the Juvenile Hormone Analog Pyriproxyfen Disrupts Acceptance of and Social Behavior Performance in Adult Honeybees. **PLoS ONE** v. 10 (7): e0132985. 2015. doi: 10.1371/journal.pone.0132985

GARCEZ, W. S.; GARCEZ, F. R.; SILVA, L. M. G. E.; SARMENTO, U. C. Substâncias de Origem Vegetal com Atividade Larvicida Contra *Aedes aegypti*. **Rev. Virtual Quim.**, v. 5, n. 3, p. 363-393, 2013. doi: 10.5935/1984-6835.20130034

GHANI, S. B. A.; HANAFI, A. H. QuEChERS method combined with GC–MS for pesticide residues determination in water. **J. Anal. Chem.,** v. 71, n. 5, p. 508–512, 2016. doi: 10.1134/S1061934816050117.

GINJUPALLI, G. K.; BALDWIN, W. S. The time- and age-dependent effects of juvenile hormone analog pesticide, piriproxifeno on Daphnia magna reproduction. **Chemosphere**, v. 92, p.1260-1266, 2013. doi: 10.1016/j.chemosphere.2013.04.061.

HORIE, Y.; YAMAGISHI, T.; TAKAHASHI, H.; SHINTAKU, Y.; IGUCHI, T.; TATARAZAKO, N. Assessment of the lethal and sublethal effects of 20 environmental chemicals in zebrafish embryos and larvae by using OECD TG 212. **J. Appl. Toxicol.,** 2017. doi: 10.1002/jat.3487.

JAFFER, A.; PROTOPOPOFF, N.; FRANKLIN, W. M.; DAVID, M.; MARK, W. R.; RICHARD, M. O. Evaluating the sterilizing effect of pyriproxyfen treated mosquito nets against *Anopheles gambiae* at different blood-feeding intervals. **Acta Trop.,** v. 150, p. 131-135, 2015. doi: http://dx.doi.org/10.1016/j.actatropica.2015.07.011.

JAMBULINGAM, P.; SADANANDANE, C.; BOOPATHI DOSS, P. S.; SUBRAMANIAN, S.; ZAIM, M. Field evaluation of an insect growth regulator, pyriproxyfen 0.5% GR against *Culex quinquefasciatus*, the vector of *Bancroftian filariasis* in Pondicherry, India. **Acta Trop.,** v. 107, p. 20-24, 2008. doi:10.1016/j.actatropica.2008.04.005.

JORDÃO, R.; GARRETA, E.; CAMPOS, B.; LEMOS, M. F.; SOARES, A. M.; TAULER, R.; BARATA, C. Compounds altering fat storage in *Daphnia magna*. **Sci. Total. Environ.,** v. 545-546, p. 127-136, 2016. doi: 10.1016/j.scitotenv.2015.12.097.

KUSK, K.; WOLLENBERGER, L. Towards an internationally harmonized test method for reproductive and developmental effects of endocrine disrupters in marine copepods. **Ecotoxicol.,** v. 16, n.1, p. 183–195, 2007. doi:10.1007/s10646-006-0112-2.

LAVORANTE, B. R. B. O.; OLIVEIRA, D. D.; COSTA, B. V. M.; SOUZA-SANTOS, L. P. A new protocol for ecotoxicological assessment of seawater using nauplii of *Tisbe biminiensis* (Copepoda:Harpacticoida). **Ecotoxicol. Environ. Saf.**, v. 95, p. 52-59, 2013. doi:10.1016/j.ecoenv.2013.05.010

LEBLANC, G. A.; WANG, Y. H.; HOLMES, C. N.; KWON, G.; MEDLOCK, E. K. A transgenerational endocrine signaling pathway in Crustacea. **PLoS One,** v. 8, n. 4, p. e61715, 2013. doi: 10.1371/journal.pone.0061715.

LEGRAND, E.; BOULANGÉ-LECOMTE, C.; RESTOUX, G.; TRÉMOLET, G.; DUFLOT, A.; FORGET-LERAY, J. Individual and mixture acute toxicity of model pesticides chlordecone and pyriproxyfen in the estuarine copepod *Eurytemora affinis.* **Environ. Sci. Pollut. Res. Int.,** v. 6, p. 5976-5984, 2017. doi: 10.1007/s11356-016-8294-5.

LEGRAND, E.; FORGET-LERAY, J.; DUFLOT, A.; OLIVIER, S.; THOMÉ, J. P.; DANGER, J. J.; BOULANGÉ-LECOMTE, C. Transcriptome analysis of the copepod Eurytemora affinis upon exposure to endocrine disruptor pesticides: Focus on reproduction and development. **Aquat. Toxicol**. v. 6, p. 64-75, 2016. doi: 10.1016/j.aquatox.2016.04.010.

LIMA, E. P.; PAIVA, M. H. S.; ARAÚJO, A. P.; SILVA, E. V. G.; SILVA, U. M.; OLIVEIRA, L. N.; SANTANA, A. E. G.; BARBOSA, C. N.; PAIVA NETO, C. C.; GOULART, M. O. F.; WILDING, C. S.; AYRES, C. F. J.; SANTOS, M. A. V. M. Insecticide resistance in *Aedes aegypti* populations from Ceará, Brazil. **Parasites Vectors**, v. 4, n. 5, 2011. doi: 10.1186/1756-3305-4-5.

LINTON, S.; BARROW, L.; DAVIES, C.; HARMAN, L. Potential endocrine disruption of ovary synthesis in the Christmas Island red crab Gecarcoidea natalis by the insecticide piriproxifeno. **Comp. Biochem. Physiol. A**, v. 154, p. 289-297, 2009. doi: https://doi.org/10.1016/j.cbpa.2009.02.024.

LOMBARDI, A. T.; FERNANDES, M. Ecotoxicologia. Em: BAPTISTA-NETO, J. A.; WALLNER-KERSANACH, M.*, et al* (Ed.). **Poluição Marinha**. Rio de Janeiro: Interciência, 2008. p. 369-394.

LWETOIJERA, D.; HARRIS, C.; KIWARE, S.; DONGUS, S.; DEVINE, G. J.; MCCALL, P. J.; MAJAMBERE, S. Effective autodissemination of pyriproxyfen to breeding sites by the exophilic malaria vector *Anopheles arabiensis* in semi-field settings in Tanzania. **Malar. J.**, v. 13:161, p. 1-10, 2014. doi: https://doi.org/10.1186/1475-2875-13-161.

MAHARAJAN, K.; MUTHULAKSHMI, S.; NATARAJ, B.; RAMESH, M.; KADIRVELU, K. Toxicity assessment of pyriproxyfen in vertebrate model zebrafish embryos (*Danio rerio*): A multibiomarker study. **Aquat Toxicol.** v. 196, p. 132-145, 2018. doi: 10.1016/j.aquatox.2018.01.010.

MAOZ, D.; WARD, T.; SAMUEL, M.; MÜLLER, P.; RUNGE-RANZINGER, S.; TOLEDO, J.; BOYCE, R.; VELAYUDHAN, R.; HORSTICK, O. Community effectiveness of pyriproxyfen as a dengue vector control method: A systematic review. **PLoS Negl Trop Dis.**, v. 11, n. 7, p. 1-20, 2017. doi: 10.1371/journal.pntd.0005651.

MASIÁ, A.; CAMPO, J.; NAVARRO-ORTEGA, A.; BARCELÓ, D.; PICÓ, Y. Pesticide monitoring in the basin of Llobregat River (Catalonia, Spain) and comparison with historical data. **Sci. Total. Environ.,** v. 503-504, p. 58-68, 2015 a. doi: 10.1016/j.scitotenv.2014.06.095.

MASIÁ, A.; VÁSQUEZ, K.; CAMPO, J.; PICÓ, Y. Assessment of two extraction methods to determine pesticides in soils, sediments and sludges. Application to the Túria River Basin. **J. Chromatogr. A.,** v. 1378, p. 19-31, 2015 b. doi: 10.1016/j.chroma.2014.11.079.

MATSUMOTO, T.; IKUNO, E.; ITOI, S.; SUGITA, H. Chemical sensitivity of the male daphnid, *Daphnia magna*, induced by exposure to juvenile hormone and its analogs. **Chemosphere,** v. 72, n. 3, p. 451-456, 2008. doi: 10.1016/j.chemosphere.2008.02.016.

MIRANDA FILHO, K. C.; MONTONE, R. C.; FILLMANN, G. Compostos Organoclorados. In: BAPTISTA-NETO, J. A.; WALLNER-KERSANACH, M.*, et al* (Ed.). **Poluição Marinha**. Rio de Janeiro: Interciência, 2008. p. 97- 59.

MLAKAR, J.; KORVA, M.; TUL, N.; POPOVIĆ, M.; POLJŠAK-PRIJATELJ, M.; MRAZ, J.; KOLENC, M.; RUS, K. R.; VIPOTNIK, T. V.; VODUŠEK, V. F.; VIZJAK, A.; PIŽEM, J.; PETROVEC, M.; ŽUPANC, T. A. Zika virus associated with microcephaly. **N. Engl. J. Med.,** v. 374, p. 951-958, 2016. doi: 10.1056/NEJMoa1600651.

NAGELLA, P.; AHMAD, A.; KIM, S. J.; CHUNG, I. M. Chemical composition, antioxidant activity and larvicidal effects of essential oil from leaves of *Apium graveolens*. **Immunopharmacol. Immunotoxicology**, v. 34, n. 2, p. 205–209, 2012. doi: 10.3109/08923973.2011.592534.

NASCIMENTO, I. A.; SOUSA, E. C. P. M.; NIPPER, M. **Métodos em ecotoxicologia marinha: aplicações no Brasil.** São Paulo: Artes gráficas e Indústria Ltda., 2002. 262 p.

OHBA, S. Y.; OHASHI, K.; PUJIYATI, E.; HIGA, Y.; KAWADA, H.; MITO, N.; TAKAGI, M. The effect of pyriproxyfen as a ‘‘Population growth regulator’’ against *Aedes albopictus* under semi-field conditions. **PLoS One**, v. 8, n. 7, p. e67045, 2013. doi: 10.1371/journal.pone.0067045.

OLIVEIRA, C. S.; VASCONCELOS, P. F. C. Microcephaly and Zika virus. **J. Pediatr. (Rio J).** v. 92, n. 2, p. 103-105, 2016. doi: http://dx.doi.org/10.1016/j.jped.2016.02.003.

OLMSTEAD, A. W.; LEBLANC, G. A. Insecticidal juvenile hormone analogs stimulate the production of male offspring in the crustacean *Daphnia magna*. **Environ Health Perspect.,** v. 111, n. 7, p. 919-924, 2003. doi: 10.1289/ehp.5982.

OLMSTEAD, A. W.; LEBLANC, G. A. The environmental-endocrine basis of Gynandromorphism (Intersex) in a Crustacean. **Int. J. Biol. Sci.,** v. 3, n. 2, p. 77-84, 2007. doi: 10.7150/ijbs.3.77.

PADILLA, S.; CORUM, D.; PADNOS, B.; HUNTER, D. L.; BEAM, A.; HOUCK, K. A.; SIPES, N.; KLEINSTREUER, N.; KNUDSEN, T.; DIX, D. J.; REIF, D. M. Zebrafish developmental screening of the ToxCast™ Phase I chemical library. **Reprod. Toxicol.**, v. 33, p. 174–187, 2012. doi: 10.1016/j.reprotox.2011.10.018.

PARENS, R., NIJHOUT, H. F.; MORALES, A.; COSTA, F. X.; BAR-YAM, Y. A Possible Link Between Piriproxifeno and Microcephaly. **PLOS Curr. Outbreaks**, Edition 1, 2017. doi: 10.1371/currents.outbreaks.5afb0bfb8cf31d9a4baba7b19b4edbac.

PISA, L. W.; AMARAL-ROGERS, V.; BELZUNCES, L. P.; BONMATIN, J. M.; DOWNS, C. A.; GOULSON, D.; KREUTZWEISER, D. P.; KRUPKE, C.; LIESS, M.; MCFIELD, M.; MORRISSEY, C. A.; NOOME, D. A.; SETTELE, J.; SIMON-DELSO, N.; STARK, J. D.; VAN DER SLUIJS, J. P.; VAN DYCK, H.; WIEMERS, M. Effects of neonicotinoids and fipronil on non-target invertebrates. **Environ. Sci. Pollut. Res**., v. 22, n. 1, p. 68–102, 2015. doi:10.1007/s11356-014-3471-x

PPDB. Pesticide Properties DataBase. **Development of a consolidated database covering EFSA pesticide outputs on active substances**. Data Interpretation, environmental fate. Disponível em: < https://sitem.herts.ac.uk/aeru/ppdb/en/docs/5_1.pdf> Acesso em: 08 de março de 2019.

PURDEŠOVÁ, A. Determination of selected pesticide residues in river water using sbse technique. **Acta. Univ. Agric. Silvic. Mendel. Brun.,** v. 65, n. 5, p. 1595–1599, 2017. doi: https://doi.org/10.11118/actaun201765051595.

RÉGIS, C. G.; SOUZA-SANTOSA, L. P.; YOGUI, G. T.; MORAES, A. S.; SCHETTINID, C. A. F. Use of *Tisbe biminiensis* nauplii in ecotoxicological tests and geochemical analyses to assess the sediment quality of a tropical urban estuary in northeastern Brazil. **Mar. Pollut. Bull.** v. 137, p. 45–55, 2018. doi: 10.1016/j.marpolbul.2018.10.011.

RIBEIRO, A. C. B.; SOUZA-SANTOS, L. P. Mass culture and offspring production of marine harpacticoid copepod *Tisbe biminiensis*. **Aquaculture**, v. 321, p. 280–288, 2011. doi: 10.1016/j.aquaculture.2011.09.016.

SINNIAH, B. Insecticidal effect of aliphatic alcohols against aquatic stages of Aedes mosquitoes. **Trans. Roya Soc. Trop. Med. Hyg.**, v. 77, n. 1, p. 35-38, 1983. doi: 10.1016/0035-9203(83)90007-x.

SOUZA-SANTOS, L. P.; ARAÚJO, R. J. Water toxicity assessment in the Suape estuarine complex (PE-Brazil). **Ecotoxicol. Environ. Contam.**, v. 8, n. 1, p. 59-65, 2013. doi: 10.5132/eec.2013.01.009.

SOUZA-SANTOS, L. P.; OLIVEIRA, D. D.; LIMA, E. S. The use of epibenthic copepod Tisbe biminiensis nauplii to assess the toxicity of seawater samples in Suape Bay (state of Pernambuco; Brazil). **Ecotoxicol. Environ. Contam.**, v. 10, n. 1, p. 61-69, 2015. doi: 10.5132/eec.2015.01.10.

STOCKHOLM-CONVENTION. **Status of Ratifications**. Disponível em: <http://chm.pops.int/Countries/StatusofRatifications/PartiesandSignatoires/tabid/4500/Default.aspx>. Acesso em: 13 de agosto de 2019.

SULLIVAN, J. J. & GOH, K. S. Environmental fate and properties of pyriproxyfen. **J. Pestic. Sci**, v. 33, n. 4, p. 339–350, 2008. doi: 10.1584/jpestics.r08-02

SUMAN, D. S.; WANG, Y.; FARAJI, A.; WILLIAMS, G. M.; WILLIGES, E.; GAUGLER, R. Seasonal field efficacy of pyriproxyfen autodissemination stations against container-inhabiting mosquito *Aedes albopictus* under different habitat conditions. **Pest. Manag. Sci.** v. 74, n. 4, p. 885-895, 2018. doi: 10.1002/ps.4780.

SUMITOMO CHEMICAL DO BRASIL. **Bula do praguicida Tiger 100 EC.** Disponível em: <http://www.ihara.com.br/upload/produtos/bula/1447244485.pdf>. Acesso em: 22 de novembro de 2019.

TABANCA, N.; GAO, Z.; DEMIRCI, B.; TECHEN, N.; WEDGE, D. E.; ALI, A.; SAMPSON, B. J.; WERLE, C.; BERNIER, U. R.; KHAN, I. A.; BASER, K. H. C. Molecular and Phytochemical Investigation of *Angelica dahurica* and *Angelica pubescentis* Essential Oils and Their Biological Activity against *Aedes aegypti*, *Stephanitis pyrioides*, and *Colletotrichum* Species. **J. Agric. Food Chem.**, v. 62, p. 8848−8857, 2014. doi: 10.1021/jf5024752

TATARAZAKO, N.; ODA, S.; WATANABE, H.; MORITA, M.; IGUCHI, T. Juvenile hormone agonists affect the occurrence of male Daphnia. **Chemosphere,** v. 53, n. 8, p. 827-833, 2003. doi: 10.1016/S0045-6535(03)00761-6.

TRAP, J.; ARMENGAUD, J.; PIBLE, O.; GAILLARD, J. C.; ABBACI, K.; HABTOUL, Y.; CHAUMOT, A.; GEFFARD, O. Proteomic investigation of male *Gammarus fossarum*, a freshwater crustacean, in response to endocrine disruptors. **J. Proteome. Res.,** v. 14, n. 1, p. 292-303, 2015. doi: 10.1021/pr500984z.

TRAYLER, K. M.; DAVIS, J. A. Sensitivity of *Daphnia carinata* sensu lato to the insect growth regulator, pyriproxyfen. **Ecotoxicol. Environ. Saf.,** v. 33, n. 2, p. 154-156, 1996. doi: 10.1006/eesa.1996.0019.

TRUONG, L.; GONNERMAN, G.; SIMONICH, M. T.; TANGUAY, R. L. Assessment of the developmental and neurotoxicity of the mosquito control larvicide, pyriproxyfen, using embryonic zebrafish. **Environ. Pollut.,** v. 218, p. 1089-1093, 2016. doi: 10.1016/j.envpol.2016.08.061.

TSUNODA, T.; KAWADA, H.; HUYNH, T. T.; LUU, L. L.; LE, S. H.; TRAN, H. N.; VU, H. T.; LE, H. M.; HASEBE, F.; TSUZUKI, A.; TAKAGI, M. Field trial on a novel control method for the dengue vector, *Aedes aegypti* by the systematic use of Olyset® Net and pyriproxyfen in Southern Vietnam. **Parasit. Vectors.**, v. 6, n. 6, 2013. doi: 10.1186/1756-3305-6-6.

VEITH, G. D.; CALL, D. J.; BROOKE, L. T. Structure–Toxicity Relationships for the Fathead Minnow, *Pimephales promelas*: Narcotic Industrial Chemicals. **Can. J. Fish. Aquat. Sci**., v. 40, n. 6, p. 743–748, 1983. doi:10.1139/f83-096

VIEIRA-SANTOS, S. V.; CAIXETA, E. S.; CAMPOS-JUNIOR, E. O.; PEREIRA, B. B. Ecotoxicological effects of larvicide used in the control of *Aedes aegypti* on nontarget organisms: Redefining the use of piriproxifeno. **J. Toxicol. Environ. Health, Part A**, v. 80, n. 3, p. 155-160, 2017. doi: 10.1080/15287394.2016.1266721.

WANG, C. Y.; TENG, H. J.; LEE, S. J.; LIN, C.; WU, J. W.; WU, H. S. Efficacy of various larvicides against *Aedes aegypti* immatures in the laboratory. **Jpn. J. Infect. Dis.**, v. 66, p. 341-344, 2013. PMID: 23883850.

WATANABE, H.; ODA, S.; ABE, R.; TANAKA, Y.; TATARAZAKO, N. Comparison of the effects of constant and pulsed exposure with equivalent time-weighted average concentrations of the juvenile hormone analog pyriproxyfen on the reproduction of *Daphnia magna*. **Chemosphere,** v. 195, p. 810-816, 2018. doi: 10.1016/j.chemosphere.2017.12.124.

WHO. **Pyriproxyfen in drinking-water: Use for vector control in drinking-water sources and containers.** World Health Organization, 2007.

WHO. **Guidelines for Drinking-water Quality.** 4. ed. World Health Organization, 2011.

YUAN, L.; HUANG, X. Y.; LIU, Z. Y.; ZHANG, F.; ZHU, X. L.; YU, J. Y.; JI, X.; XU, Y. P.; LI, G.; LI, C.; WANG, H. J.; DENG, Y. Q.; WU, M.; CHENG, M. L.; YE, Q.; XIE, D. Y.; LI, X. F.; WANG, X.; SHI, W.; HU, B.; SHI, P. Y.; XU, Z.; QIN, C. F. A single mutation in the prM protein of Zika virus contributes to fetal microcephaly. **Science,** v. 358, p. 933-936, 2017. doi: 10.1126/science.aam7120.

ZAGATTO, PA. Avaliação de risco e do potencial de periculosidade de agentes químicos para o ambiente aquático. In ZAGATTO, P. A. & BERTOLETTI, E., (Ed.). **Ecotoxicologia Aquática-Princípios e Aplicações**. São Paulo: Editora Rima. 2006. p. 383 - 411.

ZARA, A. L. S. A.; SANTOS, S. M.; FERNANDES-OLIVEIRA, E. S.; CARVALHO, R. G.; COELHO, G. E. Estratégias de controle do *Aedes aegypti*: uma revisão. **Epidemiol. Serv. Saude**, v. 25, n. 2, p. 391-404, 2016. doi: http://dx.doi.org/10.5123/S1679-49742016000200017.