

TOXICIDADE AGUDA DO PRAGUICIDA ORGANOFOSFORADO DICLORVOS E DA MISTURA COM O PIRETRÓIDE DELTAMETRINA EM *Danio rerio* E *Hyphessobrycon bifasciatus*

Daniela TREVIS¹; Soraya Ferreira HABR^{2,3,*}; Francis Mary VAROLI¹; Maria Martha BERNARDI^{1,2,3}

RESUMO

Praguicidas como o Diclorvos (DDVP) e a Deltametrina (DTM) são comumente usados na produção agrícola. Para avaliar a toxicidade de formulações comerciais do DDVP e da mistura deste com a DDM, foram realizados testes de toxicidade aguda em peixes da espécie *Danio rerio* e *Hyphessobrycon bifasciatus*. Para a mistura, foram utilizadas as maiores concentrações dos praguicidas testados, que não provocaram letalidade. Os resultados obtidos mostraram que, nas concentrações empregadas, o praguicida DDVP promove o efeito "tudo ou nada". No caso da mistura, verificou-se a ocorrência de 100% de letalidade em concentrações dos praguicidas que não produziram letalidade se administradas isoladamente. Desta forma, evidenciou-se efeito sinérgico dos praguicidas, sugerindo que o emprego de misturas destes praguicidas pode representar um fator importante. Finalmente, o efeito da toxicidade apresentada pelas duas espécies foi similar, sugerindo que *Hyphessobrycon bifasciatus* pode ser útil no caso de avaliações ambientais nas condições nacionais.

Palavras-chave: Peixes; praguicida; ecotoxicologia; mistura de praguicidas; letalidade

ACUTE TOXICITY OF THE ORGANOPHOSPHORUS PESTICIDE DICLORVOS AND THE MIX WITH THE PIRETROID DELTAMETHRIN IN *Danio rerio* AND *Hyphessobrycon bifasciatus*

ABSTRACT

Pesticides such as Dichlorvos (DDVP) and Deltamethrin (DTM) are commonly used in agricultural production. To evaluate the toxicity of commercial formulations of DDVP, mixed or not with DTM, were realized tests for acute toxicity in fish species *Danio rerio* and *Hyphessobrycon bifasciatus*. To the mixture, we used the highest concentrations of pesticides tested, which caused no lethality. The results showed that on the concentrations used, the pesticide DDVP promotes the "all or nothing effect, i.e. 100% of animals dying or 100% survive. In the case of the mixture, the results demonstrated the occurrence of 100% lethality at concentrations of pesticides that did not produce lethal effect if administered alone, indicating a synergistic effect of the pesticide mixture. These data suggest that the use of mixtures of these pesticides may represent an important factor. Finally, the toxicity effect showed on the two species was similar, suggesting that the *Hyphessobrycon bifasciatus* fish may be used for environmental assessments in Brazilian conditions.

Key-words: Fish; pesticide; ecotoxicology; mixture of pesticides; lethality

Nota Científica: Recebida em: 10/08/2009 – Aprovada em: 19/05/2010

¹ Universidade Presbiteriana Mackenzie. Rua da Consolação 896 - Consolação - CEP: 01302-907 - São Paulo - SP - Brasil

² Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia - USP. Av. Prof. Dr. Orlando Marques de Paiva, 87 - Cidade Universitária - CEP: 05508 270 - São Paulo - SP - Brasil

³ Instituto de Ciências da Saúde, Universidade Paulista - UNIP. Rua Dr. Bacelar, 1212 - Vila Clementino - CEP: 04026-002 - São Paulo/SP - Brasil

* e-mail: soraya.vet@gmail.com

INTRODUÇÃO

Os praguicidas organoclorados, organofosforados e carbamatos foram sintetizados no final da década de 1930. Os piretróides foram desenvolvidos nos anos 80, com a finalidade de substituir os organofosforados e organoclorados, pois estes possuíam alto poder residual e alta toxicidade para seres humanos e animais (ALMEIDA, 1994). Os piretróides são praguicidas sintéticos, cuja estrutura e ação são semelhantes às das piretrinas (inseticidas naturais produzidos a partir de extrato de flores do *Chrysanthemum cinerariifolium*). Desta forma, apresentam baixo poder residual, alta seletividade e eficácia em sua ação contra insetos, sendo, assim, usados em larga escala no controle de pragas na agricultura, pecuária e saúde pública (VIJVERBERG and BERKEN, 1990). Neste sentido, a baixa persistência no meio ambiente limita a probabilidade de resíduos tóxicos em plantas ou alimentos (OSWEILER, 1998). De fato, os efeitos tóxicos dos organofosforados em peixes podem variar entre a toxicidade aguda e diferentes efeitos subletais, que incluem a inibição diferencial de diversas enzimas, dentre as quais a colinesterase (WEISS, 1959; SILVER, 1974). A inibição desta enzima interfere com a atividade da acetilcolina em sinapses colinérgicas e junções neuromusculares.

Em embriões de *Danio rerio*, a acetilcolinesterase é de fundamental importância para o desenvolvimento neuronal, muscular e para o crescimento axônico (HANNEMAN, 1992; BEHRA *et al.*, 2002). Testes comportamentais, realizados com embriões bem desenvolvidos de *Danio rerio*, mostraram que a exposição a uma concentração de 10 µg L⁻¹ do organofosforado cloropirifos não foi suficiente para causar algum tipo de alteração na locomoção durante o desenvolvimento, porém, se esta concentração for ministrada aos embriões no início do desenvolvimento, estes apresentarão alterações comportamentais (HANNEMAN and WESTERFIELD, 1989). Não há relatos semelhantes a respeito do *Hyphessobrycon bifasciatus*.

Estudos realizados sobre a toxicidade do praguicida organofosforado quitosan-dietil-fosfato em trutas (*Oncorhynchus mykiss*) mostrou uma redução das atividades das enzimas

butirilcolinesterase e acetilcolinesterase (PLACENCIA *et al.*, 2005). A detecção da inibição das colinesterases é considerada um biomarcador da exposição a praguicidas (WALKER, 1995).

Muitos estudos realizados em mamíferos, pássaros e peixes (WHO, 1993) demonstram que os praguicidas organofosforados e carbamatos apresentam alta toxicidade para organismos. Desde que peixes são importantes componentes da cadeia alimentar e de fácil obtenção, inúmeros testes de toxicidade são feitos com esses animais, para avaliar o risco da intoxicação acidental ou intencional.

Tanto na agricultura como na pecuária, a mistura de organofosforados e piretróides é empregada, pois a mistura de ambos promove sinergismo em suas ações. Assim, os organofosforados, por serem inibidores da colinesterase, e este grupo de enzimas serem as responsáveis pela degradação dos piretróides, o emprego destas misturas se torna econômico e efetivo (ZHANG *et al.*, 2008, 2009). No entanto, estas misturas podem promover maior toxicidade, não só para mamíferos (PERRY *et al.*, 2007), mas também para animais aquáticos (ZHANG *et al.*, 2009). Assim, este trabalho tem por objetivo avaliar a toxicidade aguda do DDVP, e da mistura deste com a DTM, em peixes da espécie *Danio rerio* e *Hyphessobrycon bifasciatus*, observados por 48 horas.

MATERIAL E MÉTODOS

Manutenção do Organismo Teste

Foram utilizados 95 peixes da espécie *Danio rerio* (Teleostei, Cyprinidae) e 95 peixes da espécie *Hyphessobrycon bifasciatus* (Pisces, Characidae). Estes foram mantidos em aquários de 100 litros, na relação 1,0 grama de peixe por litro de água, conforme recomenda a Norma da CETESB L5.019-II (1990). O peso médio dos peixes foi de 5,0 ± 1,0 g. Foram utilizados 5 peixes por dose testada, evitando-se o uso excessivo de animais nestes testes por razões éticas.

A água de manutenção foi mantida à temperatura de 25°C, dureza 42 mg L⁻¹ CaCO₃ e pH 7,0. A intensidade luminosa foi de 600 lux e o fotoperíodo, de 12 horas/luz. A água foi aerada por meio de compressores de ar, conectados a sistemas de filtragem, sendo que 25% do volume

total de água foi trocado a cada sete dias. Os peixes foram alimentados com a ração Tetramin® ou com náuplios de *Artemia sp.*, cultivados em laboratório.

Viabilidade da Água de Manutenção

Em três aquários, com capacidade de 3,0 litros de água, foram colocados 2,0 litros de água e cinco organismos, por um período de 48 horas. Os aquários foram mantidos nas condições de manutenção dos organismos sem que fossem alimentados. Após 48 horas, fez-se a leitura do teste, anotando-se o número de organismos vivos e mortos. A água utilizada para manutenção é aceitável para uso quando a porcentagem de letalidade dos organismos não exceder 10%.

Testes de toxicidade aguda

Para a determinação da toxicidade aguda, foram realizados testes de 48 horas, determinando-se o intervalo entre a menor concentração que causava letalidade a 100% dos organismos e a maior concentração, que não causava letalidade. Foram considerados mortos os peixes que não demonstraram reação após serem tocados no pedúnculo caudal. Durante esse período, os peixes não foram alimentados.

Praguicidas Utilizados

Nos testes para determinação de toxicidade do organofosforado, foi utilizado o DDVP (Fersol 825® CE, concentrado emulsionável, 82,5% de DDVP, emulsificantes, solventes, risco ambiental, o produto é altamente tóxico para pássaros e tóxico para abelhas). Nos testes para a determinação da toxicidade da mistura organofosforado e piretróide, foram utilizados DDVP e a DTM (K-Othrine® CE 25, concentrado emulsionável 25,8 g L⁻¹, inertes- 974,62 g L⁻¹, risco ambiental - em grandes quantidades contamina o ar, solo e água. Pode causar dano a flora e fauna. Tóxico para peixes e organismos aquáticos).

Preparação das Concentrações-Testes de DDVP

Foram feitas soluções com concentrações que variaram de 0,004 µg L⁻¹ a 10 µg L⁻¹ de DDVP.

Preparação das Concentrações-Testes da Mistura de DTM e DDVP

Foram utilizadas as maiores concentrações dos respectivos praguicidas que não provocaram

morte nos animais-teste.

As soluções utilizadas foram de 0,08 µg L⁻¹ de DTM (baseada em trabalho anterior de nosso grupo, indicando que a CL50, para este praguicida em *Danio rerio*, foi 0,78 µg L⁻¹ (OSTI *et. al.*, 2004) com 0,02 µg L⁻¹ de DDVP; 0,04 µg L⁻¹ µg L⁻¹ de DTM com 0,01 µg L⁻¹ de DDVP; e 0,02 µg L⁻¹ de DTM com 0,005 µg L⁻¹ de DDVP, na proporção de 50% de cada pesticida.

RESULTADOS

Nas Tabelas 1 e 2, registram-se a toxicidade aguda em 48 horas do DDVP, em *Danio rerio* e em *Hyphessobrycon bifasciatus*, respectivamente.

Os animais do grupo controle não apresentaram letalidade, descartando a possibilidade de influências ambientais que pudessem prejudicar o experimento (Tabela 1).

Tabela 1. Determinação da toxicidade do praguicida organofosforado DDVP, em *Danio rerio*. Foram empregados 5 peixes por concentração

Concentração (µg L ⁻¹)	Número de mortes	% de mortes
Controle	0	0
0,004	0	0
0,008	0	0
0,010	0	0
0,013	0	0
0,020	0	0
0,040	5	100
0,080	5	100
0,150	5	100
0,310	5	100
0,620	5	100
1,25	5	100
2,5	5	100
5	5	100
10	5	100

Pode-se observar que, nas concentrações de 0,004 a 0,02 µg L⁻¹ não houve nenhuma morte dos organismos-teste (0% de mortes), evidenciando que essas concentrações do praguicida organofosforado DDVP não causam uma toxicidade aguda ao *Danio rerio*. A partir desta

concentração, observou-se que houve 100% de mortes, indicativo que, a partir desta concentração, o DDVP produz toxicidade em *Danio rerio*.

Os resultados para o *Hyphessobrycon bifasciatus*, foram muito similares aos obtidos em *Danio rerio* (Tabela 2). Uma ligeira diferença de toxicidade foi observada na concentração de 0,02 $\mu\text{g L}^{-1}$, na qual se obteve 20% de mortes no *Hyphessobrycon bifasciatus*, enquanto que em *Danio rerio* esta proporção foi de 0%. Desta forma, nota-se que, nas concentrações de 0,013 a 0,02 $\mu\text{g L}^{-1}$, não atinge-se a morte de 50% dos peixes, apesar de ocorrerem algumas mortes. Estima-se o valor da CL50 entre as concentrações 0,02 e 0,04 $\mu\text{g L}^{-1}$.

Tabela 2. Determinação da toxicidade do praguicida organofosforado DDVP, em *Hyphessobrycon bifasciatus*. Foram empregados 5 peixes por concentração

Concentração ($\mu\text{g L}^{-1}$)	Número de mortes	% de mortes
Controle	0	0
0,004	0	0
0,008	0	0
0,010	0	0
0,013	0	0
0,020	1	20
0,04	5	100
0,08	5	100
0,150	5	100
0,310	5	100
0,620	5	100
1,25	5	100
2,5	5	100
5	5	100
10	5	100

Na Tabela 3 pode-se observar a toxicidade da mistura de DDVP e DTM em *Danio rerio*. As concentrações da mistura de 0,02 $\mu\text{g L}^{-1}$ de DDVP e 0,08 $\mu\text{g L}^{-1}$ de DTM provocaram 100% de mortes nos animais. Nas concentrações 0,01 $\mu\text{g L}^{-1}$ de DDVP com 0,04 $\mu\text{g L}^{-1}$ de DTM e 0,005 $\mu\text{g L}^{-1}$ de DDVP com 0,02 $\mu\text{g L}^{-1}$ da DTM, as misturas causaram 100% de mortes nos animais, porém, quando isoladas, não causaram letalidade.

Tabela 3. Determinação da toxicidade da mistura dos praguicidas organofosforado DDVP e DTM, em *Danio rerio* e *Hyphessobrycon bifasciatus*. Foram empregados 5 peixes por concentração

Concentração DDVP ($\mu\text{g L}^{-1}$)	Concentração DTM ($\mu\text{g L}^{-1}$)	Número de mortes	% de mortes
CONTROLE	CONTROLE	0	0
0,020	0,080	5	100
0,010	0,040	5	100
0,005	0,020	5	100

A tabela acima demonstra os resultados para ambas as espécies de peixes, já que a mortalidade de 100% ocorreu em todos os casos.

Finalmente, os animais do grupo controle do experimento não apresentaram letalidade, mostrando assim, que não houve nenhuma influência ambiental que pudesse prejudicar o andamento dos experimentos.

DISCUSSÃO

Os resultados obtidos mostraram que o DDVP é altamente tóxico para *Danio rerio* e *Hyphessobrycon bifasciatus*, sendo o efeito observado do tipo “tudo ou nada”. Notou-se, ainda, que o *Hyphessobrycon bifasciatus* respondeu de forma similar ao *Danio rerio* (OSTI *et al.*, 2004)

Em enguia européia, *Anguilla anguilla*, a concentração subletal de DDVP é 17 mg L^{-1} , enquanto que no presente caso, é de 0,02 $\mu\text{g L}^{-1}$. Este último fato é indicativo de que ambas as espécies são altamente sensíveis ao organofosforado (PEÑA-LLOPIS *et al.*, 2003). Pode-se sugerir que as colinesterases, nestes peixes em particular, sejam fatores essenciais para o desempenho normal de suas funções fisiológicas. Assim sendo, a partir de um determinado grau de inibição da atividade das mesmas, torna-se impossível o perfeito funcionamento do animal. OSTI *et al.* (2004), demonstraram que a CL50 da DTM em *Danio rerio* é 0,078 $\mu\text{g L}^{-1}$ (variando entre 0,05 a 0,11), e em *Hyphessobrycon bifasciatus*, 0,082 $\mu\text{g L}^{-1}$ (variando entre 0,05 a 0,11 $\mu\text{g L}^{-1}$). Neste trabalho, observou-se similaridade na toxicidade nas duas espécies estudadas após 48 horas. Assim, estas duas espécies parecem ser altamente sensíveis a ambos pesticidas.

Pesticidas organofosforados são cada vez mais usados, em combinação com piretróides, por agirem sinergicamente. Isto é particularmente verdadeiro em populações de pragas que se tornam resistentes aos piretróides. Diversos estudos recomendam o emprego destas misturas para repelir mosquitos, bem como outras pragas que atingem o homem e animais (DARRIET *et al.*, 2003; MILLER *et al.*, 1991; MARTIN *et al.*, 2003). Estudos em entomologia demonstram que este fenômeno é devido à seleção para aumento da produção da isoenzima esterase, o que permite rápido metabolismo de pesticidas piretróides (GUNNING, 1999).

Neste sentido, todas as combinações da mistura dos dois praguicidas, no presente trabalho, induziram 100% de letalidade nos animais, podendo ter conotações ambientais importantes na contaminação ambiental por mistura de praguicidas piretróides e organofosforados.

Na prática agroquímica, usa-se correntemente organofosforados associados à piretróides (CASIDA and QUISTAD, 1998). As implicações ecológicas desta utilização não são conhecidas. Os piretróides apresentam baixa toxicidade para mamíferos (ABERNATHY and CASIDA, 1973; CASIDA *et al.*, 1983; CASIDA and QUISTAD, 1995), especialmente em comparação aos organofosforados.

No entanto, existem várias indicações a respeito de toxicidade em invertebrados aquáticos e peixes de algumas espécies, que mostram alta toxicidade a piretróides (BRADBURY and COATS, 1989; WERNER *et al.*, 2002; DENTON *et al.*, 2003). Portanto, torna-se importante o estudo da aplicação da mistura destes dois praguicidas em ecossistemas aquáticos.

Estudos realizados com misturas de praguicidas organofosforados e piretróides em larvas de *Pimephales promelas* mostraram que essa combinação resultou em uma elevada toxicidade, evidenciando assim um sinergismo (WHEELLOCK *et al.*, 2005).

As carboxiesterases pertencem a uma classe de enzimas que hidrolizam ésteres ao seu metabólito álcool e ácido (SATOH and HOSOKAWA, 1998; WHEELLOCK *et al.*, 2005). Estas enzimas são importantes no metabolismo e

detoxificação de muitos xenobióticos, incluindo piretróides e organofosforados.

Carboxiesterases reduzem a toxicidade de piretróides por hidrolizar este composto a metabólitos menos tóxicos (ABERNATHY and CASIDA, 1973; WHEELLOCK *et al.*, 2004). Os organofosforados não são substratos para esterases, mas se ligam estereoquimicamente, tanto à acetilcolinesterase como às carboxiesterases. Os organofosforados podem aumentar a afinidade das carboxiesterases pela acetilcolinesterase. Sugere-se que as carboxiesterase atuem como um sítio de ligação dos organofosforados, protegendo o organismo da toxicidade dos organofosforados (SOGORB and VILANOVA, 2002; CASIDA and QUISTAD, 2004).

A atividade das carboxiesterases pode, então, servir como uma via de detoxificação tanto para praguicidas piretróides como para organofosforados (SOGORB and VILANOVA, 2002). A exposição simultânea às misturas de organofosforados e piretróides causa um efeito sinergista através da inibição das esterases pelo organofosforado, tornando a enzima incapaz de hidrolizar e detoxificar piretróides (GAUGHAN *et al.*, 1980; DENTON *et al.*, 2003).

CONCLUSÃO

O DDVP e a DTM são altamente tóxicos para a espécie *Danio rerio* e *Hyphessobrycon bifasciatus*, causando um efeito de 0 ou 100% de mortes ("tudo ou nada"). A associação do DDVP com a DTM provoca um sinergismo da toxicidade, ocasionando 100% de letalidade em *Danio rerio* e *Hyphessobrycon bifasciatus*, nas concentrações estudadas. Além disto, ambas espécies de peixes são altamente sensíveis, tanto ao DDVP como à DTM, fato que indica serem estas espécies apropriadas para avaliação da toxicidade aquática, bem como da contaminação ambiental a ambos praguicidas e a mistura dos mesmos.

REFERÊNCIAS

- ABERNATHY, C.O. and CASIDA, J.E. 1973 Pyrethroid insecticides: esterase cleavage in relation to selective toxicity. *Science*, Washington, 179: 1235-1236.

- ALMEIDA, S.Y.M. 1994 *Avaliação de neurotoxicidade em ratos, do praguicida piretróide fenvalerato em modelos comportamentais de ansiedade*. São Paulo. 57p. (Dissertação de Mestrado. Faculdade de Medicina e Zootecnia, USP).
- BEHRA, M.; COSIN, X.; BERTRAND, C.; VONESCH, J.L.; BIELLMANN, D.; CHATONNET, A.; STRAHLE, U. 2002 Acetylcholinesterase is required for neuronal and muscular development in the zebrafish embryo. *Nature Neuroscience*, New York, 5: 111-118.
- BRADBURY, S.P. and COATS, J.R. 1989 Comparative toxicology of the pyrethroid insecticides. *Reviews of Environmental Contamination & Toxicology*, Summerfield, 108: 133-177.
- CASIDA, J.E.; GAMMON, D.W.; GLICKMAN, A.H.; LAWRENCE, L.J. 1983 Mechanisms of selective action of pyrethroid insecticides. *Annual Review of Pharmacology Toxicology*, Palo Alto, 23: 413-438.
- CASIDA, J.E. and QUISTAD, G.B. 1995 Metabolism and synergism of pyrethrins. In: CASIDA, J.E. and QUISTAD, G.B. (eds.). *Pyrethrum Flowers: Production, Chemistry, Toxicology, and Uses*. Oxford University Press, New York, p.258-276.
- CASIDA, J.E. and QUISTAD, G.B. 1998 Golden age of insecticide research: past, present, or future? *Annual Review of Entomology*, Palo Alto, 43: 1-16.
- CASIDA, J.E. and QUISTAD, G.B. 2004 Organophosphate toxicology: safety aspects of nonacetylcholinesterase secondary targets. *Chemical Research in Toxicology*, Nashville, 8: 983-998.
- CETESB. 1990 Programa bioensaios. Relatório de atividades. São Paulo. 55p.
- DARRIET, F.; CORBEL, V.; HOUGARD, J.M. 2003 Efficacy of mosquito nets treated with a pyrethroid-organophosphorous mixture against Kdr⁻ and Kdr⁺ malaria vectors (*Anopheles gambiae*). *Parasite*, Paris, 10(4): 359-362.
- DENTON, D.L.; WHEELOCK, C.E.; MURRAY, S.; DEANOVIC, L.A.; HAMMCK, B.D.; HINTON, D.E. 2003 Joint acute toxicity of fenvalerate and diazinon to fathead minnow (*Pimephales promelas*) larvae. *Environmental Toxicology & Chemistry*, Malden, 22: 336-341.
- GAUGHAN, L.C.; ENGEL, J.L.; CASIDA, J.E. 1980 Pesticide interactions: effects of organophosphorus pesticides on the metabolism, toxicity, and persistence of selected pyrethroid insecticides. *Pesticide Biochemistry and Physiology*, Amsterdam, 14: 81-85.
- GUNNING, R. 1999 Esterase inhibitors synergise the toxicity of pyrethroids in Australian *Helicoverpa armigera*. *Pesticide Biochemistry and Physiology*, Amsterdam, 63(1): 50-62.
- HANNEMAN, E.H. 1992 Diisopropylfluorophosphate inhibits acetylcholinesterase activity and disrupts somitogenesis in the zebrafish. *Journal of Experimental Zoology*, Malden, 263: 41-53.
- HANNEMAN, E. and WESTERFIELD, M. 1989 Early expression of acetylcholinesterase activity in functionally distinct neurons of the zebrafish. *Journal of Comparative Neurology*, Maden, 284: 350-361.
- MARTIN, T.; OCHOU, O.G.; VAISSAYRE, M.; FOURNIER, D. 2003 Organophosphorus insecticides synergize pyrethroids in the resistant strain of cotton bollworm, *Helicoverpa armigera* (Hubner) (Lepidoptera: Noctuidae) from West Africa. *Journal of Economic Entomology*, Riverside, 96(2): 468-474.
- MILLER, J.E.; LINDSAY, S.W.; ARMSTRONG, J.R. 1991 Experimental hut trials of bednets impregnated with synthetic pyrethroid or organophosphate insecticide for mosquito control in Gambia. *Medical and Veterinary Entomology*, Hoboken, 5(4): 465-476.
- OSTI, S.C.; MATUSHIMA, E.R.; VAROLLI, F.M.F.; BERNARDE, M.M. 2004 Estudo da toxicidade do praguicida DTM em cará (*Geophagus brasilienses*) e tetra amarelo (*Hyphessobrycon bifasciatus*) por meio de testes de toxicidade aguda. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE ECOTOXICOLOGIA, 8., Florianópolis. Livro de Resumos do Ecotox 2004 - SETAC - Brasil. p.106.

- OSWEILER, G.D. 1998 Toxicologia Veterinária. Ed. Artes Médicas. 526p.
- PEÑA-LLOPIS, S.; FERRANDO, M.D.; PEÑA, J.B.; 2003 Increased recovery of brain acetylcholinesterase activity in dichlorvos-intoxicated European eels *Anguilla anguilla* by bath treatment with N-acetylcysteine. *Diseases of Aquatic Organisms*, Oldendorf/Luhe, 55(3): 237-245
- PERRY, M.J.; VENNERS, S.A.; BARR, D.B.; XU, X. 2007 Environmental pyrethroid and organophosphorus insecticide exposures and sperm concentration. *Reproductive Toxicology*, Amsterdam, 23(1):113-118.
- PLACENCIA, J.; RUDOLPH, A.; CABRERA, G.; CARDENAS, G.; YEVENES, M. 2005 Inhibitory effects on esterase enzymes buche and ache in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) produced by the slow release insecticide chitosan diethyl phosphate. *Journal of Environmental Science and Health, Part B*, Virginia, 40(5): 761-768.
- SATOH, T. and HOSOKAWA, M. 1998 The mammalian carboxylesterases: from molecules to functions. *Annual Review of Pharmacology and Toxicology*, Palo Alto, 38: 257-288.
- SILVER, A. 1974 The biology of cholinesterases. In: NEUBERGER, A. and TATUM, E.L. (Eds.), *Frontiers of Biology*, vol. 36. North-Holland Publishing Company/American Elsevier Publishing Company Inc., Amsterdam/New York, p.1-596.
- SOGORB, M.A. and VILANOVA, E. 2002 Enzymes involved in the detoxification of organophosphorus, carbamate and pyrethroid insecticides through hydrolysis. *Toxicology Letters*, Amsterdam, 128: 215-228.
- VIJVERBERG, H.P.M and BERKEN, W.N. 1990 Neurotoxic effects and the mode of action of pyrethroids insecticides. *Toxicology*, Amsterdam, 21:105-125.
- WALKER, C.H. 1995 Biochemical biomarker in ecotoxicology – some recent developments. *Science of the Total Environment*, Amsterdam, 171: 189-195.
- WEISS, C.M. 1959 Response of fish to sub-lethal exposures of organic phosphorus insecticides. *Sewage Industrial Waste*, Detroit, 31: 580-593.
- WERNER, I.; DEANOVIC, L.A.; HINTON, D.E.; HENDERSON, J.D.; DE OLIVEIRA, G.H.; WILSON, B.W.; KRUEGER, W.; WALLENDER, W.W.; OLIVER, M.N.; ZALOM, F.G. 2002 Toxicity of stormwater runoff after dormant spray application of diazinon and esfenvalerate (Asana) in a French prune orchard, Glenn county, California, USA. *Bulletin Archives of Environmental Contamination Toxicology*, New York, 68: 29-36.
- WHEELOCK, C.E.; MILLER, J.L.; MILLER, M.G.; SHAN, G.; GEE, S.J.; HAMMOCK, B.D. 2004 Development of toxicity identification evaluation (TIE) procedures for pyrethroid detection using esterase activity. *Environmental Toxicology & Chemistry*, Malden, 11: 2699-2708.
- WHEELOCK, C.E.; SHAN, G.; OTTEA, J. 2005 Overview of carboxylesterases and their role in the metabolism of insecticides. *Journal of Pesticide Science*, Tokyo, 30: 75-83.
- WHO, O. 1993 Methyl Parathion (Environmental Health Criteria-EHC145, 1992). International Programme on Chemical Safety, 145. Environmental Health Criteria World Health Organization, Geneva, p.1-135.
- ZHANG, Z.Y.; WANG, D.L.; CHI, Z.J.; LIU, X.J.; HONG, X.Y. 2008 Acute toxicity of organophosphorus and pyrethroid insecticides to *Bombyx mori*. *Journal of Economic Entomology*, Riverside, 101(2): 360-364.
- ZHANG, Z.Y.; YU, X.Y.; WANG, D.L.; YAN, H.J.; LIU, X.J. 2010 Acute toxicity to zebrafish of two organophosphates and four pyrethroids and their binary mixtures. *Pesticide Management Science*, Malden, 66(1): 84-89.