

Transformações Metabólicas de Agrotóxicos em Peixes: Uma Revisão

Lígia Maria Borges Marques Santana* e Rivelino Martins Cavalcante

Laboratório de Avaliação de Contaminantes Orgânicos (LACOR), Instituto de Ciências do Mar (LABOMAR), Universidade Federal do Ceará (UFC), Av. Abolição, 3207, 60165-081 Fortaleza, CE, Brasil

Article history: Received: 04 December 2015; revised: 15 March 2016; accepted: 19 July 2016. Available online: 31 July 2016.
DOI: <http://dx.doi.org/10.17807/orbital.v8i4.856>

Abstract: Fish are among the organisms most damaged by aquatic contamination by pesticides, being ecologically relevant for their bioaccumulation and biomagnification skills of contaminants, which may present health risks to fish consumers. Several sublethal damages are known in fish due pesticide exposure, however, the mechanisms acting on their bioaccumulation, toxicity and elimination process are not yet fully understood. This paper reviewed basic concepts of bioaccumulation of pesticides in fish, including chemical behavior that drives their bioaccumulation, and major metabolic transformation processes in fish (absorption and elimination pathways, primary organs, enzymatic groups, phases and chemical reactions involved in biotransformations). We exemplified metabolites generated from reactions of detoxification and bioactivation (when the metabolite is more toxic than the parent compound) of organophosphates, carbamates and pyrethroids, commonly used as pesticides worldwide. Understanding the metabolic transformations of pesticides in organisms beyond the target species for which it was developed, is critical to elucidate the effects of toxicity on an ecosystem, grounding risk prevention actions to keep environmental quality, that includes health hazards of aquatic organisms and human.

Keywords: lipophilicity; logKow; bioaccumulation; detoxification; phase 0, I, II and III reactions

1. INTRODUÇÃO

A contaminação aquática por agrotóxicos representa uma grave ameaça aos ambientes fluviais, estuarinos e marinhos, afetando seus organismos, sendo os peixes um dos grupos mais prejudicados pelo crescente uso de agrotóxicos e seus derivados. A entrada destes compostos nos sistemas hídricos frequentemente está associada ao escoamento de áreas agrícolas e urbanas, além de aplicações diretas ao meio, gerando efeitos prejudiciais ao crescimento, sobrevivência e reprodução dos seres vivos expostos a eles [1, 2].

O desenvolvimento de toxicidade nos organismos depende de diversos fatores, que vão desde características da exposição (como concentração da substância química, tempo de duração da exposição); características dos compostos químicos (taxas de degradação, mobilidade, persistência); além de características biológicas e espécie-específicas (como capacidades biológicas de absorção, depuração e acúmulo de substâncias pelo organismo; idade, sexo,

espécie dos indivíduos) [3-5]. A toxicidade abrange os efeitos prejudiciais em geral, não se restringindo à letalidade. Efeitos agudos, como mortalidade em massa, são mais raros atualmente, visto os avanços legislativos sobre a preservação ambiental. Por outro lado, efeitos crônicos revelam que a toxicidade dos agrotóxicos nos peixes inclui danos oxidativos, inibição da atividade da acetilcolinesterase, alterações histopatológicas (em brânquias, fígado, tecidos hematopoiéticos e endócrinos), danos neurológicos, mudanças comportamentais, decréscimo nas taxas de crescimento, desordem reprodutiva, mutagênese e carcinogenicidade [2].

A bioacumulação (acúmulo no organismo ao longo da vida) de agrotóxicos, particularmente organoclorados, tem sido relatada em peixes provenientes de áreas agrícolas, urbanas, afastadas de desenvolvimento e até de piscicultura, algumas vezes com níveis acima do permitido para consumo humano [6-9]. Além disso, os peixes são componentes chaves de cadeias tróficas, constituindo tanto base alimentar para espécies maiores quanto sendo predadores topo da

*Corresponding author. E-mail: lgisantana@yahoo.com.br

cadeia. Consequentemente, participam do processo de biomagnificação (transferência ao longo da cadeia trófica dos compostos bioacumulados), particularmente nos compartimentos celulares lipofílicos, representando riscos à saúde de diversas espécies inclusive ao homem [5, 10, 11]. Diferenças significativas nas concentrações de organoclorados observadas entre peixes herbívoros e carnívoros foram consideravelmente maiores nas espécies carnívoras, as quais também exibiram elevados teores de lipídeos no tecido muscular comparados às espécies herbívoras [12].

Após absorvidos, os compostos químicos são biotransformados para derivados mais hidrofílicos a fim de aumentar sua polaridade e consequente eliminação. Os animais possuem fases ativas de biotransformação, denominadas reações de fase I e fase II, que podem modificar a disposição e a toxicidade dos pesticidas, existindo, contudo, pouco conhecimento sobre o destino final destes compostos nos peixes. Embora as transformações metabólicas visem à detoxificação orgânica, a biotransformação, particularmente após a fase I, pode bioativar os compostos originais gerando compostos intermediários mais reativos e até mais tóxicos [1]. Recentemente, duas novas etapas, denominadas de fase 0 e fase III, têm sido discutidas como relevantes nos mecanismos de detoxificação de xenobióticos [13].

Este trabalho revisou conceitos básicos sobre a bioacumulação de agrotóxicos em peixes, com foco nas transformações que ocorrem nessa classe de contaminantes dentro dos peixes, relacionadas à detoxificação orgânica e à bioativação química, bem como os processos envolvidos e os metabólitos gerados. O entendimento, tanto dos efeitos tóxicos quanto da seletividade do modo de ação dos compostos químicos, promove bases para melhorar as estratégias de controle de agrotóxicos e minimizar seus riscos ambientais, particularmente ao meio aquático.

2. COMPORTAMENTO QUÍMICO DOS AGROTÓXICOS

Agrotóxicos, ou pesticidas, são definidos pela IUPAC (*International Union of Pure and Applied Chemistry*) como substâncias, ou mistura de substâncias, empregadas para prevenção, destruição e controle de pragas. Sua história moderna teve início em 1939, com a síntese do organoclorado dicloro-difenil-tricloroetano (DDT) por Paul Muller (Suíça), e seus efeitos ambientais indesejáveis foram abordados

publicamente pela primeira vez na década de 1960 com a publicação de Rachel Carson, *Silent Spring* [14]. Em 1972, principalmente por sua elevada toxicidade, persistência ambiental e bioacumulação, os organoclorados foram banidos nos EUA e posteriormente na Europa, no entanto altas concentrações desses compostos ainda são encontradas na biota no mundo todo, continuando a representar riscos aos organismos aquáticos e ao homem [8, 15, 16].

Atualmente, mais de 1600 agrotóxicos com mais 100 classes químicas são usados mundialmente na produção de alimentos, com mais de 1700 ingredientes ativos diferentes e mais de 350 derivados de éster e sais usados em formulações de pesticidas [17, 18]. Compreendem os inseticidas, herbicidas, fungicidas, acaricidas, rodenticidas e outros. De acordo com o grupamento químico, as principais categorias dos inseticidas são organoclorados, organofosforados, carbamatos, piretróides e neonicotinóides. Dentre os herbicidas, dinitrofenóis, fenoxiacéticos, dipiridilos, benzonitrila e glifosato são bastante utilizados.

Muitos parâmetros físico-químicos (como solubilidade em água, pressão de vapor, volatilidade, estabilidade em água, fotodegradação e propriedades ácido-base) são característicos da molécula de pesticida e regem o comportamento das substâncias no ambiente. No entanto, a propriedade química mais frequentemente relacionada à tendência de bioacumulação em organismos vivos é o coeficiente de partição octanol-água (K_{OW}) devido à natureza lipídica das membranas biológicas. Normalmente, usado na forma logarítmica ($\log K_{OW}$), este coeficiente é a razão entre as concentrações de uma substância dissolvida em *n*-octanol e em água, em condições de equilíbrio, indicando o balanço entre lipofilicidade e hidrofobicidade dos compostos.

Na dinâmica de absorção, a princípio, o fluxo das concentrações químicas entre o rio e o peixe se altera segundo o gradiente de concentração e depende da hidrofobicidade do composto, representada pelo $\log K_{OW}$. Esta resposta é gradual e com o aumento do $\log K_{OW}$, a taxa de alterações diminui. Para compostos com baixo $\log K_{OW}$, as taxas de alterações são tão rápidas que as concentrações no peixe se assemelham às concentrações químicas na água, por exemplo com $\log K_{OW}$ 2 e 3 (Figura 1B) em relação às medições diárias na água (Figura 1A). Para compostos com $\log K_{OW} > 5$, as concentrações químicas no peixe se alteram lentamente em relação às alterações nas concentrações na água do ambiente e seguirão as

tendências a longo prazo das concentrações químicas no rio (Figura 1A e B) [19].

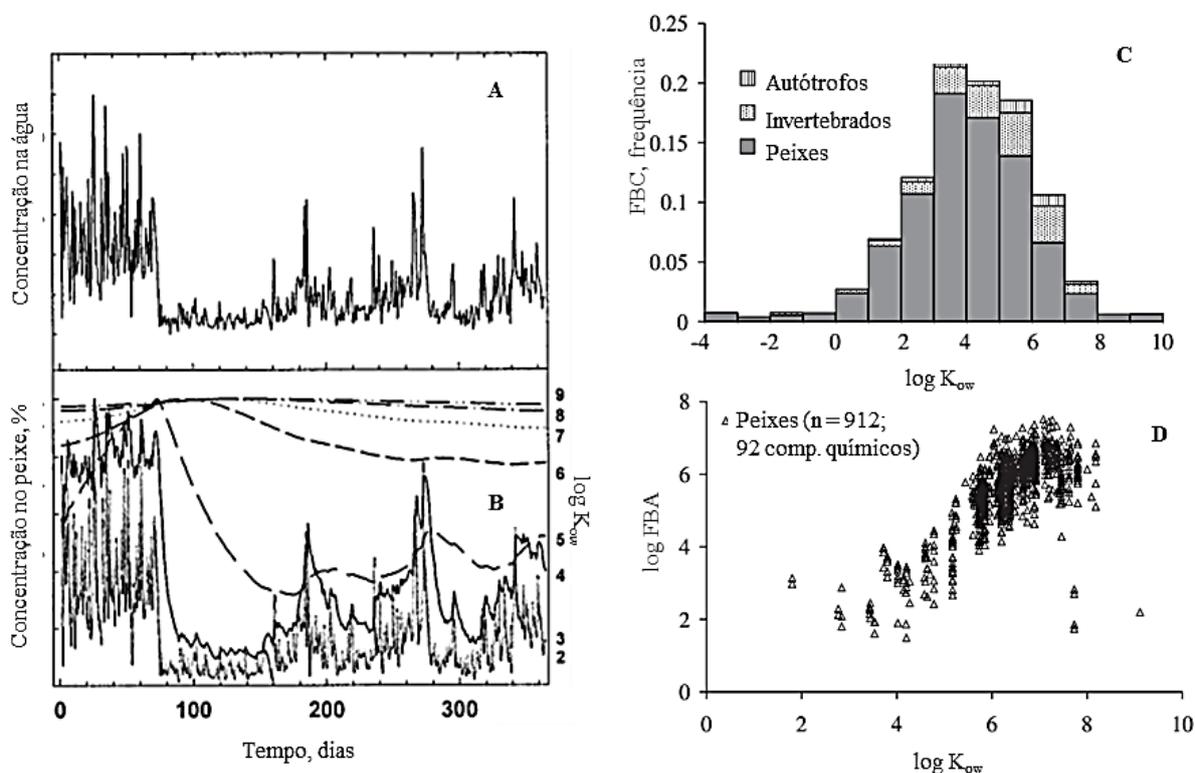


Figura 1. A) Concentração química diária no rio Mississippi, EUA. B) Concentração química diária em peixes piscívoros para compostos químicos com $\log K_{ow}$ de 2 a 9 [19]. C) Frequência do fator de bioconcentração (FBC) de diferentes classes de organismos para compostos químicos de coeficiente de partição variáveis. D) Fatores de bioacumulação (FBA) medidos em peixes em relação ao coeficiente de partição octanol-água ($\log K_{ow}$) [20].

Em geral, considera-se que substâncias com $\log K_{ow} > 3$ podem se acumular [15, 22]. Por exemplo, na espécie pescada olhuda *Cynoscion guatucupa* os compostos *p,p'*-DDE, α -clordano e heptacloro, com $\log K_{ow} > 5,2$, apresentaram maior taxa de bioacumulação que compostos HCH, com $\log K_{ow} < 3,8$ [5].

Denomina-se fator de bioconcentração (FBC) a relação entre a concentração do composto químico no tecido do organismo e a sua concentração na água, considerando-se apenas a absorção da substância pelo organismo através de superfícies respiratórias e dérmicas; o fator de bioacumulação (FBA) é o processo pelo qual a substância é absorvida pelo organismo considerando-se todas as rotas de exposição que ocorrem no ambiente natural, incluindo trocas ambientais e alimentação [20].

A Tabela 1 apresenta propriedades físico-químicas de alguns agrotóxicos comumente empregados no Brasil, agrupados em ordem crescente quanto ao FBC, segundo base de dados da IUPAC. Na

escala da IUPAC, que também é usada pela Agência de Proteção Ambiental dos Estados Unidos (US EPA), valores de FBC abaixo de 100 possuem baixo potencial de bioconcentração, entre 100 e 5000 estão no limiar de preocupação, e acima de 5000 possuem elevado potencial de bioconcentração (Tabela 1). Os peixes truta arco-íris *Oncorhynchus mykiss*, bluegill *Lepomis macrochirus* e peixe-zebra *Brachydanio rerio* são usados em testes laboratoriais para o estabelecimento de limiares ecotoxicológicos como LC50 (concentração letal mediana, do inglês *lethal concentration 50%*), que representa a dose necessária para matar metade da população avaliada, frequentemente utilizado como um indicador de toxicidade aguda determinado em experimentos de 96 horas; e NOEC (nível ou concentração sem efeito observado, do inglês *No Observed Effect Concentration*) mais relacionado à avaliação da exposição crônica, determinado em testes de 21 dias de duração [21].

A correlação entre a bioacumulação e o $\log K_{ow}$ tem sido reportada para diversos organismos aquáticos

para várias combinações de classes de compostos químicos [24]. Arnot e Gobas [20], confirmam este padrão tanto para a distribuição de 5317 FBC de 822 compostos químicos em 186 espécies aquáticas, provenientes de publicações entre 1966 e 2005 (Figura 1C); quanto para FBA de 92 compostos químicos em peixes (Figura 1D).

A absorção ao longo da cadeia trófica tende a aumentar com aumento da posição na teia alimentar. No entanto, Russel *et al.* [25] demonstraram essa relação de biomagnificação apenas para compostos com $\log K_{ow} > 6,3$; pouca evidência de biomagnificação foi vista para compostos com $\log K_{ow}$ entre 5,5 e 6,3; e nenhuma biomagnificação para $\log K_{ow} < 5,5$. Organoclorados persistentes (com $\log K_{ow}$ de aproximadamente 7) têm o maior potencial de acumulação na cadeia alimentar em peixes [4].

A solubilidade em lipídeos e o tamanho da molécula afetam a bioconcentração, pois podem simular os processos de partição e difusão em tecidos que contêm lipídeos. Acima de determinado tamanho molecular (aproximadamente 800 kDa), as moléculas lipofílicas não se difundem pela membrana biológica [26]. A polaridade da molécula também é um fator importante na absorção, transporte e distribuição de xenobióticos, e está fortemente relacionada ao $\log K_{ow}$. Compostos polares tendem a não se bioacumular na biota devido sua baixa solubilidade, enquanto compostos apolares se acumulam em tecidos adiposos. Quanto mais apolar e insolúvel em água, maior a tendência de acumular. Os compostos com elevado $\log K_{ow}$ têm potencial de bioacumulação maior do que os compostos mais solúveis em água, devido à lenta partição nos lipídios do organismo, resultando em maior tempo de retenção corporal [4, 26].

Além disso, o conteúdo lipídico, o metabolismo e o habitat influenciam na bioacumulação. Quanto maior o conteúdo lipídico dos organismos, maior é a absorção dos compostos [22]. O metabolismo aumenta a taxa de eliminação do composto químico [19]. No ambiente, fatores como salinidade e coexposição com hormônios também afetam a biotransformação e o potencial de toxicidade do agrotóxico no peixe. Geralmente, o aumento da salinidade diminui a solubilidade dos compostos químicos orgânicos. A presença concomitante no ambiente de um grande número de hormônios esteróides e de pesticidas resulta em efeitos significativos sobre as enzimas de biotransformação, principalmente nas reações de fase I [1].

3. VIAS DE DETOXIFICAÇÃO NOS PEIXES

A entrada de xenobióticos nos peixes ocorre via branquial, dérmica e por ingestão oral, sendo o trato gastrointestinal uma importante rota de absorção [5]. Mecanismos celulares como difusão passiva, difusão facilitada, filtração por canais de membrana, transporte ativo e endocitose estão envolvidos na absorção (Figura 2) [27]. Sua distribuição se direciona a órgãos específicos onde os compostos químicos não alterados ocasionam efeito biológico direto.

Os xenobióticos podem ainda ser armazenados em depósitos com alto teor lipídico, os quais são remobilizados quando o animal utiliza suas reservas lipídicas, como em situações de estresse as quais demandam elevada energia para manter a homeostase do organismo. Alguns compostos são excretados diretamente (sobretudo os que revelam baixo $\log K_{ow}$) sem sofrerem alterações por órgãos alvo ou depósitos adiposos, mas muitos são biotransformados (reações de fase I e II) para derivados mais hidrofílicos, o que aumenta sua polaridade para posterior eliminação. Por outro lado, a biotransformação pode gerar subprodutos mais tóxicos e mais reativos (bioativação), prejudiciais ao organismo [1].

O fator de bioacumulação (FBA), resultado das taxas de absorção química da água e dos alimentos em relação aos processos de eliminação (Figura 2), é calculado pela equação (1):

$$FBA = C_{organismo}/C_{água} = \{k_1 + k_D (C_{organismo}/C_{água})\} / (k_2 + k_E + k_M + k_G) \quad (1)$$

Na qual, $C_{organismo}$ é a concentração da substância química no organismo ($g\ kg^{-1}$), $C_{água}$ é a concentração da substância dissolvida na água ($g\ L^{-1}$), k_1 é a constante de absorção química da água pela superfície respiratória ($L\ kg^{-1}\ d^{-1}$), k_D é a taxa de absorção química na dieta ($kg\ kg^{-1}\ d^{-1}$), k_2 , k_E , k_M , k_G são as constantes (d^{-1}) de eliminação química do organismo via superfície respiratória, ingestão fecal, biotransformação metabólica e diluição no crescimento, respectivamente [20].

A taxa de eliminação total do composto químico no organismo é a soma de quatro taxas individuais constantes (k_2 , k_E , k_M e k_G). As constantes k_2 , e k_E são inversamente proporcionais à hidrofobicidade química, ou seja, diminuem com o aumento de $\log K_{ow}$. Uma elevada taxa de eliminação pode ser obtida tanto pela baixa hidrofobicidade quanto pela alta taxa de metabolização da substância química [19].

Tabela 1. Propriedades físico-químicas e toxicológicas de agrotóxicos, ordenados pelo fator de bioconcentração (FBC) segundo base de dados da IUPAC [20].

Nº CAS	Agrotóxico	Tipo	Grupo químico	FM	PM (gmol ⁻¹)	S (mgL ⁻¹)	LogKow	FBC (Lkg ⁻¹)	Classe de toxicidade		Ecotoxicologia (peixes)			
									WHO	US EPA	LC ₅₀ (mgL ⁻¹)	NOEC (mgL ⁻¹)		
56-38-2	Paration	I, A	Organofosforado	C ₁₀ H ₁₄ NO ₅ PS	291,27	24	3,82	-	-	-	1,5	Mo	-	-
62-73-7	Diclorvós	I, A, M	Organofosforado	C ₄ H ₇ Cl ₂ O ₄ P	220,98	18000	1,9	Baixo risco	Ib	I	0,55	Mo	0,11	Mo
16752-77-5	Metomil	I, A, M	Carbamato	C ₅ H ₁₀ N ₂ O ₂ S	162,21	55000	0,09	Baixo risco	Ib	I, II, III	0,63	Mo	0,076	Mo
52-68-6	Triclorfon	I, V	Organofosforado	C ₄ H ₈ Cl ₃ O ₄ P	257,4	120000	0,43	0,41	II	II	0,7	Mo	-	-
1912-24-9	Atrazina	H	Triazina	C ₈ H ₁₆ ClN ₅	215,68	35	2,7	4,3	III	III	4,5	Mo	2	Mo
330-54-1	Diuron	H	Feniluréia	C ₉ H ₁₀ Cl ₂ N ₂ O	233,09	35,6	2,87	9,45	III	III	6,7	Mo	0,41	Mo
1563-66-2	Carbofuran	I, N, A, M	Carbamato	C ₁₂ H ₁₅ NO ₃	221,26	322	1,8	12	Ib	I, II	0,18	Mo	0,0022	E
834-12-8	Ametrina	H	Triazina	C ₉ H ₁₇ N ₅ S	227,12	200	2,63	33	II	III	5	Mo	-	-
15972-60-8	Alaclor	H	Cloroacetanilida	C ₁₄ H ₂₀ ClNO ₂	269,77	240	3,09	39	II	III	1,8	Mo	0,19	Mo
116-06-3	Aldicarbe	I, A, N	Carbamato	C ₇ H ₁₄ N ₂ O ₂ S	190,26	4930	1,15	42	Ia	I	0,56	Mo	1,37	Mo
51218-45-2	Metolacoloro	H	Cloroacetanilida	C ₁₅ H ₂₂ ClNO ₂	283,8	530	3,4	68,8	III	III	3,9	Mo	-	-
298-00-0	Metilparation	I	Organofosforado	C ₈ H ₁₀ NO ₅ PS	263,21	55	3,0	71	-	-	2,7	Mo	-	-
1897-45-6	Clortalonil	F	Isoftalonitrila	C ₈ Cl ₄ N ₂	265,91	0,81	2,94	100	U	II	0,038	E	0,003	E
121-75-5	Malation	I, A, V	Organofosforado	C ₁₀ H ₁₉ O ₆ PS ₂	330,36	148	2,75	103	III	III	0,018	E	0,091	Mo
709-98-8	Propanil	H	Anilida	C ₉ H ₉ Cl ₂ NO	218,08	95	2,29	111	II	III	5,4	Mo	-	-
52645-53-1	Permetrina	I, V	Piretróide	C ₂₁ H ₂₀ Cl ₂ O ₃	391,3	0,2	6,1	300	II	II, III	0,0125	E	0,00012	E
333-41-5	Diazinon	I, A, R, V	Organofosforado	C ₁₂ H ₂₁ N ₂ O ₃ PS	304,35	60	3,69	500	II	II, III	3,1	Mo	0,7	Mo
29232-93-7	Pirimifós-metil	I, A	Fosforotioato	C ₁₁ H ₂₀ N ₃ O ₃ PS	305,33	11	3,9	741	II	III	0,404	Mo	0,023	Mo
52315-07-8	Cipermetrina	I, V	Piretróide	C ₂₂ H ₁₉ Cl ₂ NO ₃	416,3	0,009	5,3	1204	II	II	0,0028	E	0,00003	E
2921-88-2	Clorpirifós	I	Organofosforado	C ₉ H ₁₁ Cl ₃ NO ₃ PS	350,89	1,05	4,7	1374	II	II	0,0013	E	0,00014	E
52918-63-5	Deltametrina	I, V, M	Piretróide	C ₂₂ H ₁₉ Br ₂ NO ₃	505,2	0,0002	4,6	1400	II	II	0,00026	E	<0,000032	E
82657-04-3	Bifentrina	I, A	Piretróide	C ₂₃ H ₂₂ ClF ₃ O ₂	422,88	0,001	6,6	1703	II	II	0,00026	E	0,000012	E
50-29-3	DDT	I	Organoclorado	C ₁₄ H ₉ Cl ₅	354,49	0,006	6,91	3173	II	II	7	Mo	-	-
309-00-2	Aldrin	I	Organoclorado	C ₁₂ H ₈ Cl ₆	364,91	0,027	6,5	3348	O	-	0,0046	E	-	-
60-57-1	Dieldrin	I, M	Organoclorado	C ₁₂ H ₈ Cl ₆ O	380,91	0,14	3,7	35000	Ib	-	0,0012	E	0,25	Mo

Legenda: H=herbicida. I=inseticida. A=acaricida. N=nematicida V=uso veterinário. F=fungicida. M=metabólito. R=repelente. FM=fórmula molecular. PM=peso molecular. S= solubilidade em água a 20 °C. LogKow = coeficiente de partição octanol-água. WHO= Organização Mundial da Saúde. US EPA=Agência de Proteção Ambiental dos Estados Unidos. LC₅₀=concentração letal mediana. NOEC=concentração sem efeito observado. E=elevado. Mo=moderado. B=baixo.

Valores de referência: FBC=Fator de bioconcentração: < 100 (baixo potencial), 100 - 5000 (Limiar de preocupação), > 5000 (alto potencial).

Classe de toxicidade WHO: Ia (extremamente perigoso), Ib (altamente perigoso), II (moderadamente perigoso), III (pouco perigoso), O (Obsoleto), NL (Não listado), U (improvável de apresentar perigo agudo).

Classe de toxicidade aguda US EPA: I (altamente tóxico), II (moderadamente tóxico), III (levemente tóxico), IV (Não é gravemente tóxico).

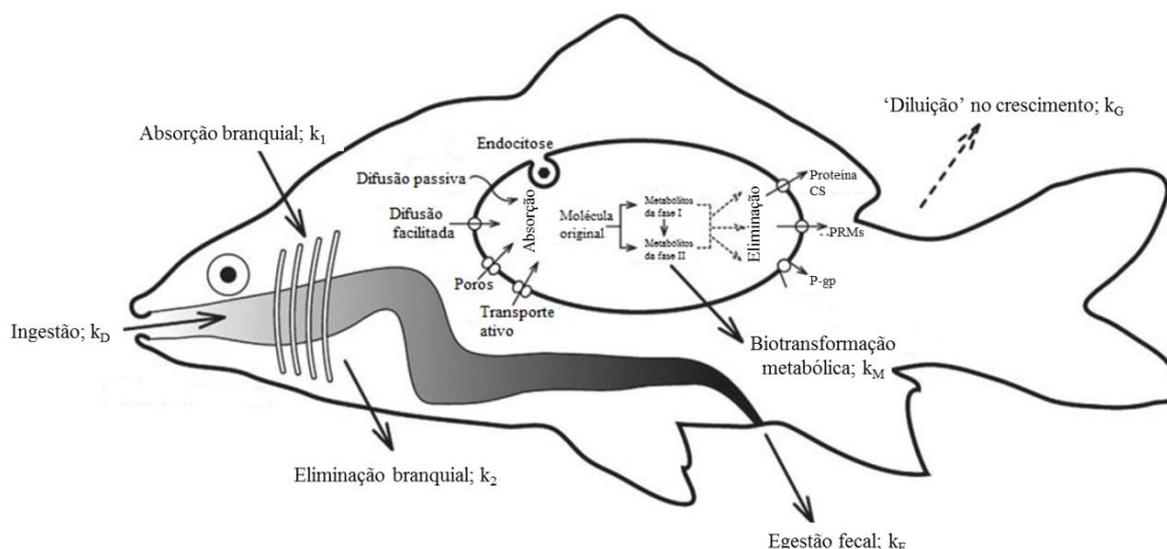


Figura 2. Vias de absorção, biotransformação e eliminação de compostos xenobióticos em peixes. O sombreamento representa o aumento da polaridade natural do intestino e, portanto, o aumento da tendência de excreção dos compostos hidrofóbicos. Rotas do organismo (setas grandes); rotas celulares (setas pequenas); constantes de velocidade dos principais processos (k); proteínas carreadoras de soluto (Proteína CS); proteínas resistentes a multidrogas (PRMs); glicoproteínas permeáveis (P-gp) [27].

A toxicidade será determinada pela interação dos processos de toxicocinética e toxicodinâmica. A toxicocinética envolve os mecanismos de absorção, distribuição, metabolismo e excreção, os quais direcionam quanto da forma tóxica da substância química (composto original ou metabólitos ativos) irão atingir os sítios de ação. A toxicodinâmica trata da interação com os sítios de ação, que conduzem à expressão dos efeitos tóxicos. Quanto mais as formas tóxicas dos compostos químicos atingem os sítios de ação, maior é a sensibilidade do sítio de ação ao composto, e maior é a toxicidade [26].

O fígado é o principal órgão envolvido na metabolização, embora significativa atividade extra-hepática ocorra no rim, intestino e brânquias dos peixes [1]. GUO *et al.* [28] encontram níveis significativamente maiores de organoclorados no fígado em relação ao músculo, brânquias, pele e trato gastrointestinal de cinco espécies de peixes tanto de água doce quanto de água salgada, chegando até a trinta vezes maior na carpa cabeçada *Aristichthys nobilis*. Por outro lado, os demais órgãos (músculo, brânquias, pele e intestino) não diferiram entre si quanto aos teores de organoclorados nas espécies analisadas, sugerindo a capacidade de equilíbrio desses agrotóxicos nos tecidos dos peixes [28]. A excreção hepatobiliar também é relevante na eliminação de xenobióticos nos peixes. Os metabólitos do fígado (e compostos originais) podem seguir tanto através do

sangue para excreção nos rins quanto pela bile para excreção nas fezes [27].

Semelhante aos mamíferos, as reações de biotransformação ocorrem nas células, principalmente através das enzimas do sistema de monooxigenase dependente (citocromo P-450 ou CYP) e diversas enzimas que catalisam reações das fases envolvidas [29]. As enzimas da fase I se localizam principalmente no retículo endoplasmático e as enzimas de fase II principalmente no citosol [1, 26], com exceção da UDP-glucuronosiltransferase (UGT), principal representante das enzimas de conjugação, localizada no retículo endoplasmático [30].

Os resíduos dos agrotóxicos no peixe podem estar disponíveis na forma de composto original, metabólitos livres (primários) ou conjugados (secundários) (Figura 3). Resultantes da fase I, os metabólitos livres (também designados de exocons) podem ser formados por hidrólise, oxidação, redução ou recombinação através de enzimas catalizadoras, que introduzem ou expõem grupos funcionais polares reativos (OH, SH, NH₂, COOH) da molécula original.

A seguir, nas reações de fase II, os conjugados são formados pela reação dos metabólitos primários com moléculas endógenas de ocorrência natural no peixe (endocons), por exemplo, ácido glucurônico, glutatona, sulfato, taurina, aminoácidos e outros componentes naturais. Os compostos conjugados são

normalmente mais polares que os metabólitos de fase I, portanto dissolvem-se na água, e podem ser eliminados pelos mecanismos de excreção do animal [32]. Às vezes, o poluente é conjugado diretamente, por exemplo, interagindo com grupos hidroxila de

fenóis ou álcoois, sem reações de fase I. A fase I pode envolver mais de um passo, e pode ainda ativar o metabólito, o qual se liga às macromoléculas sem passar pela conjugação (como a ativação do benzo[α]pireno) [26].

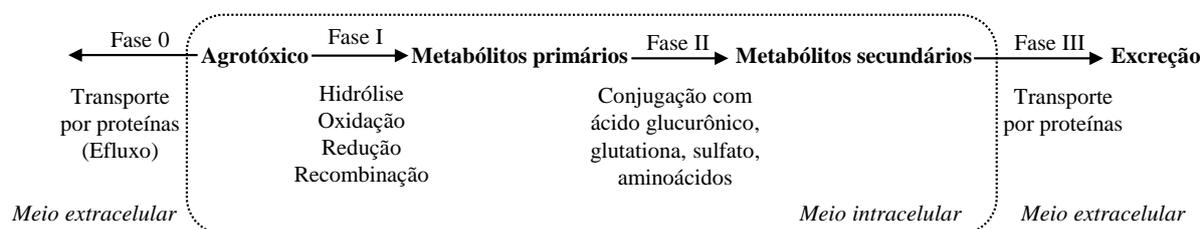


Figura 3. Etapas gerais da detoxificação de agrotóxicos nos peixes. Modificado de [31].

Por fim, os metabólitos excretáveis, produtos das reações das fases I e II, são transportados (fase III - transporte) para fora das células por várias famílias de proteínas de transporte como as glicoproteínas permeáveis (P-gp) [33]. Esse sistema de detoxificação também previne a entrada de xenobióticos nas células expulsando-os com mecanismo de efluxo (fase 0) modulados pela ação das proteínas transportadoras ABC (“ATP-Binding Cassette” proteins). Pesquisas recentes sugerem que as proteínas ABCB1 atuam nas primeiras linhas de defesa prevenindo que compostos originais se acumulem na célula (fase 0) enquanto proteínas transportadoras ABCCs e ABCG2 atuam na fase III, todas protegendo os organismos aquáticos de danos dos xenobióticos pelo mecanismo de resistência à multixenobióticos [13].

Vale ressaltar a importância da degradação dos pesticidas no meio ambiente, que envolve tanto processos de transformações bióticas (mediadas por plantas e microorganismos) quanto processos abióticos (como transformações fotoquímicas e termoquímicas pela exposição à luz e ao calor, respectivamente) determinados principalmente pelo potencial redox (oxidação/redução) nos solos, sedimentos e corpos hídricos [22, 25]. Logo, em ambiente natural, a ocorrência de derivados de agrotóxicos em tecidos ou excretas de um animal não é necessariamente uma prova de que estes derivados foram resultado da biotransformação no organismo [35].

4. EXEMPLOS DE METABÓLITOS DOS AGROTÓXICOS EM PEIXES

Desde o final da década de 1970, sabe-se que os peixes, assim como os vertebrados, possuem sistema de detoxificação capaz de metabolizar xenobióticos,

com atividades de oxidação, redução e conjugação [36]. As preocupações com os efeitos adversos, particularmente agudos, sobre a biota devido ao uso indiscriminado de pesticidas possibilitou avanços na compreensão das transformações metabólicas dos agrotóxicos nas diversas classes de organismos, além das espécies alvo de ação destes compostos. No entanto, apesar da numerosa quantidade de agrotóxicos usada no mundo, poucos compostos têm sido avaliados quanto ao potencial de biotransformação nos peixes. Muitos progressos nessa área devem-se às pesquisas farmacêuticas e médicas, com foco em sistemas de mamíferos [30].

Exemplos de reações de oxidação da transformação metabólica de agrotóxicos em peixes são apresentados na Tabela 2. As CYP são o grupo de enzimas mais importantes da biotransformação oxidativa de fase I em peixes, principalmente para pesticidas organoclorados, hidrocarbonetos policíclico aromáticos (HPAs) e bifenilas policloradas (PCBs), muitos deles associados diretamente à indução dessa reação, observada pelo aumento dos níveis de isoenzimas correlacionadas [37]. Poucos xenobióticos lipofílicos são resistentes à degradação metabólica das CYP, sendo as principais exceções os compostos altamente halogenados como dioxina, *p,p'*-DDE e PCBs altamente clorados. Tais compostos resistentes à detoxificação possuem, particularmente, meia-vida biológica longa (dioxina TCDD) e/ou extremamente longa (dieldrin e *p,p'*-DDT) em solos [26].

Bagres africanos *Clarias gariepinus*, provenientes de represamentos de água doce na África do Sul, analisados quanto às concentrações de organoclorados apresentaram resíduos de DDT e metabólitos (*p,p'*-DDD; *p,p'*-DDE; *p,p'*-DDT; *o,p'*-DDT) no músculo, mesmo distantes no mínimo 500 km

de países que ainda aplicam estes pesticidas no controle de pragas, o que reforça a relevância da deposição atmosférica e escoamentos superficiais nas rotas de contaminação difusa dos ecossistemas aquáticos. Os níveis de dieldrin (que pode ser tanto composto original - inseticida comercial - quanto metabólito do aldrin) foram considerados até seis vezes

acima do “saudável” para a exposição ao longo da vida, aumentando as chances de risco de câncer em humanos para 1 em 1000 (sendo 1 em 100.000 o “risco aceitável”) caso o consumo destes peixes seja prolongado, hábito comum nas populações ribeirinhas [8].

Tabela 2. Reações catalisadas pelo citocromo P450 (CYP) na biotransformação de agrotóxicos em peixes.

	Reação química	Ref.
Dessulfurização oxidativa	<p>Paration → Paraoxon</p>	
	<p>Clorpirifós → Clorpirifós-oxon</p>	
Dearilação	<p>Clorpirifós → 3,5,6-Tricloropiridinol + Diethyl fosforotionato</p>	[38]
	<p>Paration → p-nitrofenol + Diethyl fosforotionato</p>	
Epoxidação	<p>Aldrin → Dieldrin</p>	[26]
O-desalquilação	<p>Clorfenvinfós → Diethyl fosforotionato + Acetaldeído</p>	

Efeitos teratogênicos em larvas e embriões de linguado *Psetta maxima* foram observados em exposição à clorpirifós e dieldrin. Ambos foram extremamente tóxicos para a espécie marinha, sendo as larvas mais sensíveis que os embriões. Além da mortalidade de embriões, foi relatada diminuição

significativa no sucesso de eclosão, malformações, edema pericárdico e deformidades esqueléticas [23].

Os agrotóxicos mais empregados no mundo atualmente estão no grupo dos organofosforados, carbamatos e piretróides. Organofosforados e carbamatos possuem efeitos tóxicos agudos muito

semelhantes, ambos são inibidores da acetilcolinesterase (AChE). No entanto, diferem quanto à estabilidade do complexo formado com a AChE. Os organofosforados são capazes de fosforilar resíduos de serina da AChE de maneira irreversível, enquanto a carbamilação dos mesmos resíduos é menos estável, e o processo reversível em cerca de 30 a 40 minutos [39, 40]. Os piretróides são toxinas funcionais, que causam efeitos secundários como consequência da hiperexcitabilidade neuronal. A alta afinidade dos piretróides aos canais de Na⁺ das membranas celulares causam prolongada abertura dos canais. Em baixas concentrações, observam-se atividades excitatórias repetitivas, enquanto em altas concentrações, a completa despolarização da membrana bloqueia a excitabilidade do neurônio [40].

A detoxificação dos organofosforados, carbamatos e piretróides ocorre principalmente por reações de oxidação e hidrólise, destacando-se na hidrólise as enzimas carboxilesterases e fosfotriesterases como as principais catalisadoras das reações. A hidrólise via carboxilesterases é a mais efetiva na degradação dos carbamatos e piretróides (Tabela 3). Nos piretróides, constituídos principalmente por moléculas de éster com um grupamento de álcool e um de ácido, a rota de biodegradação é a clivagem por esterases [40].

Nos peixes, assim como nos mamíferos, as enzimas UGT são apontadas como o principal grupo das enzimas das reações de fase II, convertendo (e inativando) compostos endógenos e exógenos a compostos polares e solúveis em água, capazes de serem excretados na bile (compostos maiores que 350 MW) ou urina (compostos menores que 300MW). Tais enzimas catalisam a transferência (conjugação) do ácido glucurônico a partir do nucleotídeo de alta energia de UDP- ácido glucurônico (UDPGA) a uma ampla variedade de substratos aceptores (agliconas) para formar β -glucuronídeos. O mais comum é a formação de *O*-glucuronídeos a partir de álcoois, fenóis e ácidos carboxílicos, e *N*-glucuronídeos de carbamatos, amidas e aminas. Dentre os agrotóxicos em que ocorrem glucuronidação nos peixes estão os inseticidas organofosforados (como malation e clorpirifós), carbamatos (carbaril), piretróides (piretrinas); e os fungicidas imidazol e pentaclorofenol [30].

Outro importante grupo de enzimas da fase II, também atuante nos peixes, é o das glutatona S-transferases (GSTs), que catalisam a conjugação da glutatona tripeptídica (gama-glutamil-cisteinil-

glicina) com um centro eletrofílico que pode ser um átomo de C, N, ou S. Após a formação do conjugado de glutatona, o metabólito pode ser submetido a duas reações de clivagem de aminoácidos seguidas por *N*-acetilação, para formar derivados de ácidos mercaptúricos. Os agrotóxicos alaclor, atrazina, DDT, lindano e metilparation estão entre as substâncias que atuam como substratos para essas conjugações. As GSTs são fundamentais no metabolismo endógeno da detoxificação dos produtos de estresse oxidativo resultantes da oxidação de lipídeos, ácidos nucléicos e proteínas [30]. Agrotóxicos organoclorados (2,4-D; *p,p'*-DDE; metoxiclor; endosulfan), organofosforados (azinfos metil), carbamatos (carbaril,) e piretróides (cipermetrina) são indutores da atividade de GSTs em organismos aquáticos [30, 37].

Exemplos de bioativação conhecidos são apresentados na Tabela 4. O diclorvós, derivado da hidrólise do triclorfon, é capaz de inibir a atividade da colinesterase até 100 vezes mais que o triclorfon [41]. Em experimento com pacus (*Piractus mesopotamicus*) simulando condições de piscicultura com uso de triclorfon, Lopes *et al.* [42] demonstraram baixa meia-vida deste composto na água (57 horas ou 2,5 dias) e média meia-vida nos peixes (290 horas ou 12 dias), revelando ainda baixo fator de bioconcentração nos peixes ($0,41 \pm 0,05 \text{ Lkg}^{-1}$), sendo $0,0302 \text{ mgkg}^{-1}$ a concentração máxima de triclorfon no peixe. Os autores consideraram necessário um período de 50 dias para a eliminação de 95% de resíduo do inseticida no tecido dos peixes [42]. Por outro lado, o diclorvós não se bioacumula em peixes, embora seja considerado de moderado à extremamente tóxico para peixes de água doce e estuarinos por sua neurotoxicidade e perturbações no metabolismo energético [43, 44].

Metil paration é um fraco inibidor de AChE, mas pode ser bioativado em seu metabólito oxon, (metil paraoxon) por reação de dessulfurização, catalizada pelo citocromo P-450. A detoxificação do metil paration pode ocorrer por desalquilação pela glutatona-S-transferase (GST), enquanto o metil paraoxon pode ser removido do sangue por enzimas como carboxilesterases e colinesterases, ou degradada por paraoxonase, obtendo-se 4-nitrofenol e ácido dimetilfosfórico. Os peixes de água doce pacu *Piractus mesopotamicus*, piavussu *Leporinus macrocephalus* e curimbata *Prochilodus lineatus* acumularam metil paration no cérebro cerca de quatro vezes mais que as concentrações observadas na água, sendo pacu e piavussu mais resistentes à metabolização em metil paraoxon [46].

Tabela 3. Reações catalisadas por carboxilesterases na biotransformação de agrotóxicos em peixes.

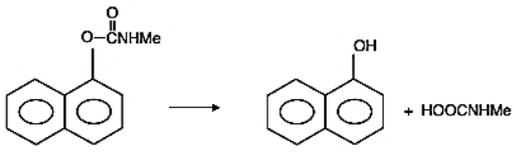
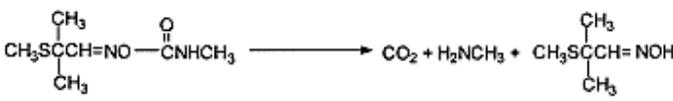
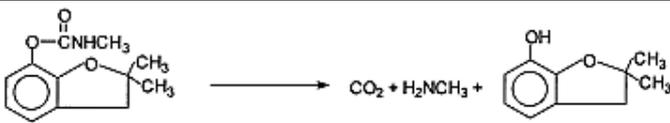
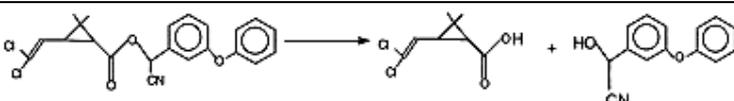
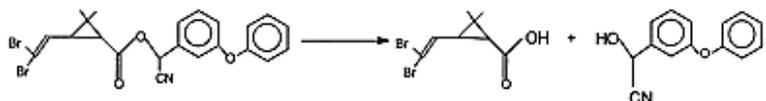
	Reação química	Ref.
	 <p style="text-align: center;">Carbaril 1-naftol</p>	[30]
	 <p style="text-align: center;">Aldicarb</p>	
Hidrólise	 <p style="text-align: center;">Carbofuran</p>	[40]
	 <p style="text-align: center;">Cipermetrina</p>	
	 <p style="text-align: center;">Deltametrina</p>	

Tabela 4. Agrotóxicos com metabólitos mais tóxicos que o composto original, em peixes.

Tipo/ Grupo químico	Composto original	Aplicação	Metabólito [Ref.]
Herbicida/ Tiocarbamato	Tiobencarbe	Cultura de arroz	Tiobencarb-S-óxido [30]
Inseticida/ Carbamato	Aldicarbe	Culturas de algodão, batata, café, cana-de-açúcar, citros e feijão (acaricida e nematicida) / uso irregular como raticida ("chumbinho")	Sulfóxido de aldicarbe [45]
Inseticida/ Organofosforado	Triclorfon	Uso veterinário (anti-helmíntico; controle de larvas de insetos); Piscicultura (controle de ectoparasitas)	Diclorvos [45]
Inseticida/ Organofosforado	Metil paration	Agricultura, abrigos de armazenamento de alimentos; Piscicultura (controle de ectoparasitas)	Metil paraoxon [46]

Um dos maiores desafios atuais no monitoramento da qualidade dos ecossistemas hídricos é a o entendimento dos múltiplos efeitos biológicos resultantes da integração das complexas misturas de contaminantes, incluindo os agrotóxicos, como ocorrem nos ambientes naturais. Efeitos aditivos de agrotóxicos podem elevar ainda mais a toxicidade nos organismos aquáticos [47]. Nesse sentido, dados sobre o modo de ação e destino dos metabólitos de

agrotóxicos em peixes contribuem para o entendimento da influência da toxicidade desses contaminantes e os riscos à qualidade ambiental, incluindo a saúde dos organismos aquáticos e do homem.

5. CONSIDERAÇÕES FINAIS

As habilidades de biotransformação de

xenobióticos em peixes são alvo de estudo há cerca de quarenta anos. Mesmo assim, aliado à imensa quantidade de agrotóxicos e outras substâncias de origem antrópica lançadas diariamente no ambiente e que alcançam os ecossistemas hídricos, o conhecimento sobre o destino final de muitos metabólitos nos peixes ainda é insuficiente.

Este trabalho revisou os fatores básicos que regem a bioacumulação dos agrotóxicos nos peixes, ressaltando as vias de detoxificação desses compostos e suas biotransformações. As reações metabólicas afetam a distribuição, o acúmulo e a toxicidade dos compostos químicos no organismo. A lipofilicidade, fortemente relacionada ao coeficiente de partição octanol-água ($\log K_{OW}$), é uma das principais características químicas que influenciam na bioacumulação das substâncias nos seres vivos. Quatro etapas de reações estão envolvidas na eliminação dos xenobióticos, sendo novas fases (0 e III) recentemente propostas e igualmente importantes neste processo. Embora visem à eliminação orgânica da substância, muitas vezes ocorre sua bioativação para formas mais tóxicas.

O monitoramento de resíduos de agrotóxicos em diversos organismos, além das espécies alvo, é fundamental para avaliar a toxicidade em ambientes prioritários para preservação, como áreas estuarinas (e manguezais), e verificar o impacto dos efeitos tóxicos nas biotas locais e nas relações ecossistêmicas. Além dos efeitos tóxicos advindos dos agrotóxicos e respectivos metabólitos bioativados, respostas aditivas de pesticidas podem potencializar a indução de efeitos letais e subletais em peixes, cuja intoxicação por agrotóxicos representa ameaça à saúde de seus consumidores, inclusive o homem.

Publicações em português também são importantes, pois ampliam a compreensão sobre relevantes assuntos científicos, particularmente para estudantes e pesquisadores brasileiros e outros que usam a língua portuguesa. Além disso, facilitam a comunicação interdisciplinar, o que favorece e incita discussões e soluções visando melhores avanços sociais.

6. AGRADECIMENTOS

À Fundação Cearense de Apoio ao Desenvolvimento Científico e Tecnológico (FUNCAP) pela concessão de bolsa pelo Programa de Pós-Doutorado para Jovens Doutores - Processo PJ2-0103-00065.01.00/15.

7. REFERÊNCIAS E NOTAS

- [1] Schlenk, D. *Biochemistry and Molecular Biology of Fishes. Environmental Toxicology*. Mommsen, T. P.; Moon, T. W., eds. Amsterdam: Elsevier, 2005, chapter 6. [\[CrossRef\]](#)
- [2] Sabra, F. S.; Mehana, E. S. E. D. *AJAFS*. **2015**, 3, 01. [\[Link\]](#)
- [3] Uno, S.; Shintoyo, A.; Kokushi, E.; Yamamoto, M.; Nakayama, K.; Koyama, J. *Environ. Sci. Pollut. Res.* **2012**, 19, 2595. [\[CrossRef\]](#)
- [4] Fisk, A. T.; Norstrom, R. J.; Cymbalisky, C. D.; Muir, D. C. G. *Environ. Toxicol. Chem.* **1998**, 17, 951. [\[CrossRef\]](#)
- [5] Lanfranchi, A. L.; Menone, M. L.; Miglioranza, K. S. B.; Janiot, L. J.; Aizpun, J. E.; Moreno, V. J. *Mar. Pollut. Bull.* **2006**, 52, 74. [\[CrossRef\]](#)
- [6] Gilliom, R. J. *Environ. Sci. Technol.* **2007**, 41, 3408. [\[CrossRef\]](#)
- [7] Stone, W. W.; Gilliom, R. J.; Ryberg, K. R. *Environ. Sci. Technol.* **2014**, 48, 11025. [\[CrossRef\]](#)
- [8] Barnhoorn, I. E. J.; Van Dyk, J. C.; Genthe, B.; Harding, W. R.; Wagenaar, G. M.; Bormman, M. S. *Chemosphere*. **2015**, 120, 391. [\[CrossRef\]](#)
- [9] Mallin, M. A.; McIver, M. R.; Fulton, M.; Wirth, E. *Arch. Environ. Contam. Toxicol.* **2011**, 61, 461. [\[CrossRef\]](#)
- [10] Deribe, E.; Rosseland, B. O.; Borgström, R.; Salbu, B.; Gebremariam, Z.; Dadebo, E.; Skipperud, L.; Eklo, O. M. *Ecotoxicol. Environ. Saf.* **2013**, 95, 10. [\[CrossRef\]](#)
- [11] Weijs, L.; Briels, N.; Adams, D. H.; Lepoint, G.; Das, K.; Blust, R.; Covaci, A. *Environ. Res.* **2015**, 137, 199. [\[CrossRef\]](#)
- [12] Robinson, T.; Ali, U.; Mahmood, A.; Chaudhry, M. J. I.; Li, J.; Zhang, G.; Jones, K. C.; Malik, R. N. *Sci Total Environ.* **2016**, 541, 1232. [\[CrossRef\]](#)
- [13] Ferreira, M.; Costa, J.; Reis-Henriques, M. A. *Front. Physiol.* **2014**, 5, 266. [\[CrossRef\]](#)
- [14] Köhler, H. R.; Triebkorn, R. *Science*. **2013**, 341 (6147), 759. [\[CrossRef\]](#)
- [15] Tsipi, D.; Botitsi, H.; Economou, A. *Mass Spectrometry for the Analysis of Pesticide Residues and Their Metabolites*. New Jersey: John Wiley & Sons, 2015. [\[CrossRef\]](#)
- [16] Ondarza, P. M.; Gonzalez, M.; Fillmann, G.; Miglioranza, K. S. B. *Chemosphere*. **2014**, 94, 135. [\[CrossRef\]](#)
- [17] MacBean, C. *The pesticide manual: a world compendium*, 6th ed. UK: British Crop Production Council, 2012. Disponível em: [\[Link\]](#). Acesso Janeiro, 2016.
- [18] *Compendium of Pesticide Common Names*. Disponível em: <http://www.alanwood.net/pesticides/>. Acesso Janeiro, 2016.
- [19] Burkhard, L. P. *Environ. Toxicol. Chem.* **2003**, 22, 351. [\[CrossRef\]](#)
- [20] Arnot, J. A.; Gobas, F. A. *Environ. Rev.* **2006**, 14, 257. [\[CrossRef\]](#)
- [21] Lewis, K.A.; Tzilivakis, J.; Warner, D.; Green, A. *Hum. Ecol. Risk Assess.* **2016**, 22, 1050. [\[CrossRef\]](#)
- [22] Barceló, D.; Hennion, M. *Trace Determination of Pesticides and their Degradation Products in Water*. Amsterdam: Elsevier, 1997.
- [23] Mhadhbi, L.; Beiras, R. *Water Air Soil Poll.* **2012**, 223, 5917. [\[CrossRef\]](#)
- [24] Katagi, T. *Bioconcentration, bioaccumulation, and metabolism of pesticides in aquatic organisms*. In: *Reviews of environmental contamination and toxicology*. New York:

- Springer, 2010. [\[CrossRef\]](#)
- [25] Russell, R. W.; Gobas, F. A. P. C.; Haffner, G. D. *Environ. Toxicol. Chem.* **1999**, *18*, 1250. [\[CrossRef\]](#)
- [26] Walker, C. H. Organic pollutants: an ecotoxicological perspective. CRC Press, 2008. [\[CrossRef\]](#)
- [27] Tierney, K. B.; Kennedy, C. J.; Gobas, F.; Gledhill, M.; Sekela, M. Organic Contaminants and Fish. In: Fish Physiology. Farrell, A. P.; Brauner, C. J., eds. UK: Elsevier, vol. 33, 2013, chapter 1. [\[CrossRef\]](#)
- [28] Guo, Y.; Meng, X. Z.; Tang, H. L.; Zeng, E. Y. *Environ. Poll.* **2008**, *155*, 150. [\[CrossRef\]](#)
- [29] Kleinow, K. M.; Melancon, M. J.; Lech, J. J. *Environ. Health Persp.* **1987**, *71*, 105. [\[CrossRef\]](#)
- [30] Schlenk, D.; Celander, M.; Gallagher, E. P.; George, S.; James, M.; Kullman, S. W.; Hurk, P. van den; Willett, K. Biotransformation in fishes. In: The Toxicology of Fishes. Di Giulio, R., Hinton, D.E., eds. London: CRC Press, Taylor and Francis Group. 2008, chapter 3. [\[CrossRef\]](#)
- [31] Martinez, C. B. R. Parâmetros bioquímicos de peixes para avaliação da qualidade da água. Sanidade de Organismos Aquáticos no Brasil. ABRAPOA, p. 43, 2006. Disponível em: [\[Link\]](#)
- [32] EU-Commission, 2013. Working document on the nature of pesticide residues in fish. SANCO/11187/2013; 31.01.2013 rev.3. Disponível em: [\[Link\]](#). Acesso Março, 2016.
- [33] Kennedy, C. J.; Tierney, K. B. Xenobiotic Protection/Resistance Mechanisms in Organisms. In: Environmental Toxicology. Laws, E., eds. New York : Springer, 2013 chapter 23. [\[CrossRef\]](#)
- [34] Fenner, K.; Canonica, S.; Wackett, L. P.; Elsner, M. *Science*. **2013**, *341* (6147), 752. [\[CrossRef\]](#)
- [35] Hodgson, E. Pesticide biotransformation and disposition. 3rd ed. UK: Elsevier Academic Press, 2012.
- [36] Chambers, J. E.; Yarbrough, J. D. *Comp. Biochem. Phys. C: Comp. Pharm.* **1976**, *55*, 77. [\[CrossRef\]](#)
- [37] Van der Oost, R.; Beyer, J.; Vermeulen, N. P. *Environ. Tox. Pharm.* **2003**, *13*, 57. [\[CrossRef\]](#)
- [38] Straus, D. L.; Schlenk, D.; Chambers, J. E. *Aquat. Toxicol.* **2000**, *50*, 141. [\[CrossRef\]](#)
- [39] Kuhr, R.J.; Dorough, H.W. Carbamate Insecticides: Chemistry, Biochemistry and Toxicology. Cleveland, OH: CRC Press, 1976.
- [40] Sogorb, M. A.; Vilanova, E. *Toxicol. Lett.* **2002**, *128*, 215. [\[CrossRef\]](#)
- [41] Hofer, W. *Acta Pharmacol. Scan.* **1981**, *49*, 7. [\[CrossRef\]](#)
- [42] Lopes, R. B.; Paraiba, L. C.; Ceccarelli, P. S.; Tornisielo, V. L. *Chemosphere*. **2006**, *64*, 56. [\[CrossRef\]](#)
- [43] Das, S. *Curr. World Environ.* **2013**, *8*, 143. [\[CrossRef\]](#)
- [44] Bui-Nguyen, T. M.; Baer, C. E.; Lewis, J. A.; Yang, D.; Lein, P. J.; Jackson, D. A. *BMC genomics*. **2015**, *16*, 853. [\[CrossRef\]](#)
- [45] Canadian Council of Ministers of the Environment. Canadian water quality guidelines for the protection of aquatic life: Trichlorfon. 2012. Disponível em: [\[Link\]](#)
- [46] De Salles, J. B.; Lopes, R. M.; de Salles, C. M.; Cassano, V. P.; de Oliveira, M. M.; Bastos, V. L. C.; Bastos, J. C. *BioMed Res. Int.* **2015**. [\[CrossRef\]](#)
- [47] Deneer, J. W. *Pest Manag. Sci.* **2000**, *56*, 516. [\[CrossRef\]](#)