



**INSTITUTO LATINO-AMERICANO DE
CIÊNCIAS DA VIDA E DA NATUREZA
(ILACVN)**

BIOTECNOLOGIA

EFEITOS ADVERSOS DO INSETICIDA MALATION SOBRE PEIXES

AMANDA KAWKA FISCHER

Foz do Iguaçu
2021



**INSTITUTO LATINO-AMERICANO DE CIÊNCIAS
DA VIDA E DA NATUREZA (ILACVN)**

BIOTECNOLOGIA

EFEITOS ADVERSOS DO INSETICIDA MALATION SOBRE PEIXES

AMANDA KAWKA FISCHER

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado ao Instituto Latino-Americano de Ciências da Vida e da Natureza da Universidade Federal da Integração Latino-Americana, como requisito parcial à obtenção do título de Bacharel em Biotecnologia.

Orientador: Profa. Dra. Carla Vermeulen Carvalho
Grade

Foz do Iguaçu
2021

AMANDA KAWKA FISCHER

EFEITOS ADVERSOS DO INSETICIDA MALATION SOBRE PEIXES

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado ao Instituto Latino-Americano de Ciências da Vida e da Natureza da Universidade Federal da Integração Latino-Americana, como requisito parcial à obtenção do título de Bacharel em Biotecnologia.

BANCA EXAMINADORA

Orientador: Prof. Dra. Carla Vermeuleun Carvalho Grade
UNILA

Prof. Dra. Marcela Boroski
UNILA

Prof. Dra. Ana Claudia de Castro Marcato
UNILA

Foz do Iguaçu, 07 de outubro de 2021

TERMO DE SUBMISSÃO DE TRABALHOS ACADÊMICOS

Nome completo do autor(a): Amanda Kawka Fischer_____

Curso: Biotecnologia_____

Tipo de Documento	
<input checked="" type="checkbox"/> graduação	<input type="checkbox"/> artigo
<input type="checkbox"/> especialização	<input checked="" type="checkbox"/> trabalho de conclusão de curso
<input type="checkbox"/> mestrado	<input type="checkbox"/> monografia
<input type="checkbox"/> doutorado	<input type="checkbox"/> dissertação
	<input type="checkbox"/> tese
	<input type="checkbox"/> CD/DVD – obras audiovisuais
	<input type="checkbox"/> _____

Título do trabalho acadêmico: Efeitos adversos do inseticida malation sobre peixes_____

Nome do orientador(a): Dra. Carla Vermeulen Carvalho Grade_____

Data da Defesa: 07/10/2021

Licença não-exclusiva de Distribuição

O referido autor(a):

a) Declara que o documento entregue é seu trabalho original, e que o detém o direito de conceder os direitos contidos nesta licença. Declara também que a entrega do documento não infringe, tanto quanto lhe é possível saber, os direitos de qualquer outra pessoa ou entidade.

b) Se o documento entregue contém material do qual não detém os direitos de autor, declara que obteve autorização do detentor dos direitos de autor para conceder à UNILA – Universidade Federal da Integração Latino-Americana os direitos requeridos por esta licença, e que esse material cujos direitos são de terceiros está claramente identificado e reconhecido no texto ou conteúdo do documento entregue.

Se o documento entregue é baseado em trabalho financiado ou apoiado por outra instituição que não a Universidade Federal da Integração Latino-Americana, declara que cumpriu quaisquer obrigações exigidas pelo respectivo contrato ou acordo.

Na qualidade de titular dos direitos do conteúdo supracitado, o autor autoriza a Biblioteca Latino-Americana – BIUNILA a disponibilizar a obra, gratuitamente e de acordo com a licença pública *Creative Commons Licença 3.0 Unported*.

Foz do Iguaçu, 07 de outubro de 2021.

Assinatura do Responsável

AGRADECIMENTOS

Primeiramente, agradeço a Deus por sempre atender minhas orações.

Agradeço à minha professora orientadora Profa. Dra. Carla Vermeulen Carvalho Grade, por toda orientação, todos os ensinamentos passados, toda paciência e compreensão, pelo apoio, pelos conselhos oferecidos e pela amizade durante esses três anos de orientação.

À Profa. Dra. Marcela Boroski, pela coorientação de iniciação científica, pelo apoio durante a pesquisa, e pelos ensinamentos que não serão esquecidos. A todos os professores do curso, que ensinaram muito mais que conhecimentos acadêmicos, oferecendo conselhos valiosos e amizade.

À minha família, que sempre me apoiou e me levantou em minhas quedas. À minha mãe, que foi colo sempre que precisei. Ao meu pai, pelo incentivo, e à minha irmã Sarah, pela companhia e risadas que tornam meus dias mais leves. À minha avó Idelci e minha madrinha Cynthia, por serem meu segundo lar.

Às minhas colegas de laboratório, pela companhia do dia-a-dia, em especial à Ingridy Jung, que além de colega, me ofereceu sua amizade e seu apoio. À Beatriz Arcain, pela sua amizade, orientação e conselhos, por me ouvir sempre que precisei.

Aos meus demais colegas de curso, em especial à Sabrina Masseron, por estar sempre ao meu lado, tanto na vida acadêmica quanto pessoal. À Dulce González e Angelo Vidal por tornar os dias na faculdade mais agradáveis. A todos os meus amigos que estiveram comigo.

Às minhas amigas Gabriela Saczuk, Natalia Demari e Isabella Pedrozo, por tanta compreensão, apoio e amor. À Daniele Frigo, que mesmo de longe se faz presente e me apoia tanto. Sem a amizade de vocês, nada eu seria.

Por fim, agradeço à Universidade Federal da Integração Latino-Americana (UNILA) pela grande oportunidade de estudar na área que tanto gosto, pela qualidade do ensino e por abrir meus olhos para o mundo.

Às estrelas que ouvem, e aos sonhos que são atendidos
Sarah J. Maas

FISCHER, Amanda Kawka. **EFEITOS ADVERSOS DO INSETICIDA MALATION SOBRE PEIXES**. 2021. 89 páginas. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Biotecnologia) – Universidade Federal da Integração Latino-Americana, Foz do Iguaçu, 2021.

RESUMO

O malation é um inseticida organofosforado de amplo espectro utilizado no controle de pragas tanto na área rural quanto em áreas urbanas, sendo muito utilizado para o controle de vetores, como o mosquito da dengue, através do fumacê. Dentre a extensa lista de agrotóxicos comercializados no Brasil, o malation encontrava-se em oitavo lugar no ano de 2019. Os peixes apresentam um papel importante em ensaios de ecotoxicidade por sua sensibilidade e capacidade de demonstrar implicações variadas em resposta à exposição a xenobióticos. Ainda, sua posição na cadeia alimentar permite estudar os parâmetros de bioacumulação e biomagnificação, e por estarem presentes na dieta cotidiana, a contaminação desses animais traz risco de intoxicação aos seres humanos. Assim, os peixes são considerados ótimos bioindicadores. O presente estudo teve como objetivo a realização de uma revisão da literatura acerca dos efeitos adversos do inseticida malation sobre peixes. Através da busca pelos termos “Fish” e “Malathion” presentes em títulos e resumos de artigos disponíveis no site PUBMED, foi realizado um levantamento dos diferentes resultados significantes. Foram extraídas informações de 90 estudos, descrevendo efeitos causados pela exposição ao malation sobre 60 espécies de peixes. A partir dos artigos estudados, observou-se que a exposição do malation pode gerar efeitos negativos sobre a taxa de sobrevivência, reprodução e comportamento, ocasionar danos oxidativos e ao DNA, alterações de parâmetros bioquímicos e fisiológicos, inibição da acetilcolinesterase e bioacumulação em tecidos de diversas espécies de peixes. Dentre os resultados observados, ressalta-se a presença de resíduos do inseticida em peixes coletados na natureza, salientando o risco ao ecossistema e de intoxicação aos seres humanos. Assim como as diferentes metodologias utilizadas, os valores de LC₅₀ encontrados são altamente variáveis, alcançando níveis desde 4,51 µg L⁻¹ até 45 mg L⁻¹. Todas as informações obtidas foram sintetizadas em formato de tabela, facilitando a visualização das espécies afetadas e as implicações provocadas, assim como índices de toxicidade determinados nos estudos. A quantidade de estudos acerca dos efeitos da exposição aguda e crônica do malation sobre peixes é significativa e demonstra os extensos danos resultantes.

Palavras-chave: Agrotóxico; Organofosforado; Toxicidade; Vertebrados.

FISCHER, Amanda Kawka. **EFEITOS ADVERSOS DO INSETICIDA MALATION SOBRE PEIXES**. 2021. 89 páginas. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Biotecnologia) – Universidade Federal da Integração Latino-Americana, Foz do Iguaçu, 2021.

RESUMEN

El malatión es un insecticida organofosforado de amplio espectro utilizado en el control de plagas tanto en áreas rurales como urbanas, siendo ampliamente utilizado para controlar vectores, como el mosquito del dengue, a través del fumace. Entre la extensa lista de pesticidas vendidos en Brasil, el malatión ocupó el octavo lugar en 2019. Los peces juegan un papel importante en los ensayos de ecotoxicidad por su sensibilidad y capacidad para demostrar diversas implicaciones en respuesta a la exposición a xenobióticos. Además, su posición en la cadena alimentaria permite el estudio de los parámetros de bioacumulación y biomagnificación, y al estar presentes en la dieta diaria, la contaminación de estos animales conlleva un riesgo de intoxicación para el ser humano. Por lo tanto, los peces se consideran excelentes bioindicadores. El presente estudio tuvo como objetivo realizar una revisión de la literatura sobre los efectos adversos del insecticida malatión en peces. Mediante la búsqueda de los términos “Fish” y “Malathion” presentes en los títulos y resúmenes de los artículos disponibles en el sitio web de PUBMED, se realizó una encuesta de los diferentes resultados significativos. Se extrajo información de 90 estudios que describen los efectos causados por la exposición al malatión en 60 especies de peces. A partir de los artículos estudiados, se observó que la exposición al malatión puede generar efectos negativos sobre la tasa de supervivencia, reproducción y comportamiento, provocar daño oxidativo y del ADN, cambios en los parámetros bioquímicos y fisiológicos, inhibición de la acetilcolinesterasa (AChE) y bioacumulación en los tejidos de diferentes especies de peces. Entre los resultados observados, destaca la presencia de residuos del insecticida en peces recogidos en la naturaleza, destacando el riesgo para el ecosistema y la intoxicación al ser humano. Además de las diferentes metodologías empleadas, los valores de LC₅₀ encontrados son muy variables, alcanzando niveles de 4.51 µg L⁻¹ a 45 mg L⁻¹. Toda la información obtenida fue sintetizada en formato de tabla, facilitando la visualización de las especies afectadas y las implicaciones ocasionadas, así como los índices de toxicidad determinados en los estudios. El número de estudios sobre los efectos de la exposición aguda y crónica al malatión en los peces es significativo y demuestra el gran daño que resulta.

Palabras clave: Plaguicidas; Organofosforado; Toxicidad; Vertebrados.

FISCHER, AMANDA KAWKA. **EFEITOS ADVERSOS DO INSETICIDA MALATION SOBRE PEIXES**. 2021. 89 páginas. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Biotecnologia) – Universidade Federal da Integração Latino-Americana, Foz do Iguaçu, 2021.

ABSTRACT

Malathion is an organophosphate broad-spectrum insecticide, used to control plagues in industrial and urban areas, being also used to control disease vectors, such as dengue mosquito, through fumigation. Among the extensive list of pesticides sold in Brazil, malathion was ranked in the eighth position in 2019. Fish play an important role in ecotoxicity assays due their sensibility and ability to show varied implications in response to exposure to xenobiotics. Furthermore, their position in the food chain allows the study of bioaccumulation and biomagnification parameters, and because they are present in the daily diet, contamination of these animals represents risk of poisoning to human beings. Thus, fish are considered great bioindicators. This study aimed to review the literature on the adverse effects of the insecticide malathion on fish. By searching for the terms “Fish” and “Malathion” in titles and abstracts of articles available on the PUBMED website, a survey of the different significant results was carried out. From the articles studied, it was observed that exposure to malathion can cause negative effects on the rate of survival, reproduction and behavior, lead to oxidative and DNA damage, change biochemical and physiological parameters, inhibit AChE and bioaccumulate in tissues of different fish species. Among the results observed, the presence of insecticide residues in fish collected in nature stands out, highlighting the risks for the ecosystem and poisoning to human beings. As well as the different methodologies described, the LC₅₀ values found are highly variable, reaching levels from 4.51 µg L⁻¹ to 45 mg L⁻¹. All the information obtained was synthesized in a table, facilitating the visualization of affected species and the implications caused, as well as the toxicity indexes determined in the studies. The number of studies on the effects of acute and chronic malathion exposure on fish is significant and demonstrates the extensive damage that can be caused.

Key words: Pesticide; Organophosphate; Toxicity; Vertebrates.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1 – Fórmulas estruturais do malation e malaoxon	15
Figura 2 – Esquema de rotas dos agrotóxicos para ambientes aquáticos	17
Figura 3 – Hidrólise da Acetilcolinesterase	38

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Espécies afetadas negativamente pela exposição ao malation, efeitos observados e índices de toxicidade.....	22
---	----

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ACh	Acetilcolina
AChE	Acetilcolinesterase
ALP	Fosfatase Alcalina
ALT	Alanina Aminotransferase
AST	Aspartato Aminotransferase
BChE	Butirilcolinesterase
CarbE	Carboxilesterase
CAT	Catalase
Ch	Colina
DCA	Ácido Dicarboxílico de Malaoxon
EC ₅₀	Concentração de Eficiência Mediana
EPC	<i>epithelioma papillosum cyprini</i>
E ₂	Estradiol-17 β
FAO	Organização para Alimentação e Agricultura
FDA	Food and Drug Administration
FSH	Hormônio folículo estimulante
GH	Hormônio de crescimento
GPX	Glutaciona Peroxidase
GR	Glutaciona Redutase
GSH	Glutaciona Reduzida
GST	Glutaciona S-transferase
G-6-PD	Glicose-6-fosfato desidrogenase
Hb	Concentração de hemoglobina
IC ₅₀	Concentração Inibitória Mediana
IGF - 1	Fator de crescimento de insulina 1
LC ₅₀	Concentração Letal Mediana
LH	Hormônio luteinizante
LOEC	Menor concentração de efeito observado
LRG	<i>Lohu gill cell line</i>
MCA	Ácido Monocarboxílico de Malaoxon
MDA	Malondialdeído

mGST	Glutathione S-transferase microsomal
NR ₅₀	Toxicidade de ponto médio
PA	Atividade de fagócitos
RBC	Hemácias
ROS	Espécies reativas de oxigênio
SC	Concentração segura
SL	Concentração subletal máxima
SOD	Superóxido dismutase
T	Testosterona
T ₃	Triiodotironina
T ₄	Tiroxina
TPO	Tireoperoxidase
WBC	Glóbulos Brancos
32 P	Fósforo 32
$\Delta^5,3\beta$ -HSD	5-3 beta-hidroxisteróide desidrogenase

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	14
2 OBJETIVOS	20
2.1 OBJETIVO GERAL	20
2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	20
3 METODOLOGIA	21
4 RESULTADOS	22
4.1 EFEITOS SOBRE A MORTALIDADE E LC ₅₀	30
4.2 EFEITOS SOBRE A ACETILCOLINESTERASE (AChE)	37
4.3 INTOXICAÇÃO, DANO OXIDATIVO E ESTRESSE OXIDATIVO	42
4.4 ALTERAÇÕES BIOQUÍMICAS E FISIOLÓGICAS.....	44
4.5 ANORMALIDADES NUCLEARES E DANO AO DNA	50
4.6 ALTERAÇÕES HISTOLÓGICAS	51
4.7 EFEITOS SOBRE A REPRODUÇÃO E DESENVOLVIMENTO.....	52
4.8 BIOACUMULAÇÃO	58
4.9 EFEITOS COMPORTAMENTAIS.....	62
4.10 OUTROS EFEITOS	65
4.11 EFEITOS PROTETIVOS CONTRA O MALATION	66
5 DISCUSSÃO	68
6 CONSIDERAÇÕES FINAIS	72
REFERÊNCIAS	73

1 INTRODUÇÃO

Denomina-se agrotóxico a substância química, ou a mistura de substâncias utilizadas para destruição ou controle de categorias de organismos vivos indesejáveis (QUEIROZ et al., 2014). O uso de agrotóxicos, no Brasil, se iniciou com a Revolução Verde, nas décadas de 60 e 70, e seu uso indiscriminado, dentre outros fatores, ocasionou o desenvolvimento do setor agrícola e o aumento do produto interno bruto nos últimos anos (RANGEL et al., 2011; WAICHMAN, 2012).

O Brasil é líder no comércio mundial de agrotóxicos, e as plantações brasileiras em 2012 consumiram cerca de U\$\$ 7,3 bilhões, equivalente a 19% do mercado mundial, com importação de cerca de 296,8 mil toneladas dos mesmos. Os consumidores são estimulados à utilização através da diminuição de preços e isenção de impostos sobre os agrotóxicos (QUEIROZ et al., 2014; SILVA, 2017).

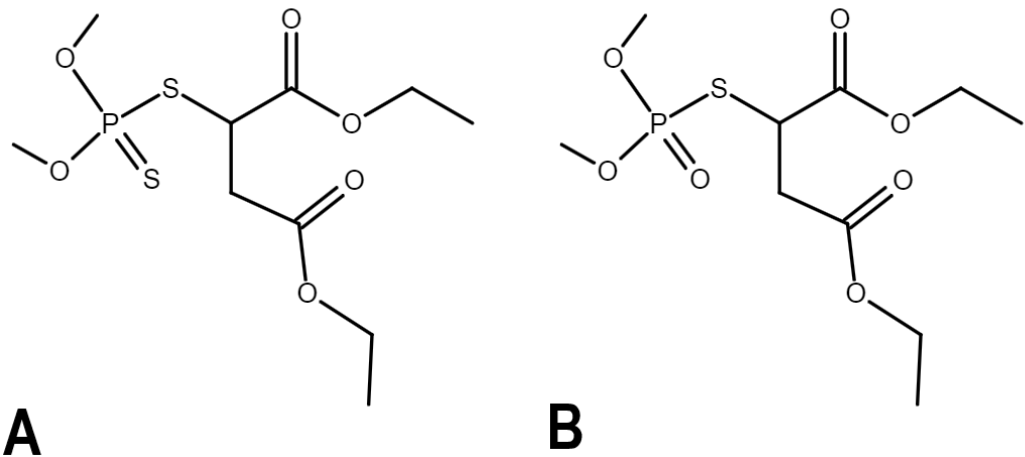
A preocupação de controle do uso de agrotóxicos no Brasil é escassa, expondo o homem e o meio ambiente a diversos tipos de danos, uma vez que há grande disponibilidade e acesso a esses produtos, combinado a uma legislação ineficiente (QUEIROZ et al., 2014). Agrotóxicos reconhecidos cientificamente como danosos à saúde humana e ao meio ambiente são permitidos no Brasil, enquanto proibidos em diversos outros países. Apesar de constantes avaliações acerca de seus componentes ativos, dos 50 produtos permitidos e mais utilizados no país, 22 são proibidos na União Europeia (SILVA, 2017). Com o crescimento do mercado mundial de agroquímicos a cada ano, centenas de ingredientes ativos e milhares de formulações estão disponíveis, sendo fabricadas aproximadamente 115 milhões de toneladas de inseticidas ao ano (SCARDOELLI et al., 2011).

O uso excessivo desses químicos no país não se limita às áreas agrícolas, uma vez que os mesmos são incorporados no uso urbano para o controle de vetores de doenças, como o mosquito *Aedes aegypti*, responsável pela transmissão do zika vírus, da dengue, febre amarela e chikungunya. A pulverização de agrotóxicos em áreas urbanas para o controle do mosquito da dengue é regulamentada através da Lei Federal 13.301/2016 (BRASIL, 2016). Atualmente, o inseticida mais utilizado para este fim é o malation (COLEONE; PAGANINI, 2014).

O malation (Diethyl (dimethoxythiophosphorylthio) succinate), também conhecido como malathion, malatião ou malationa, é um inseticida pertencente a classe

química dos organofosforados e apresenta fórmula molecular $C_{10}H_{19}O_6PS_2$ (Figura 1A). Seu metabólito principal, o malaoxon, de fórmula molecular $C_{10}H_{19}O_6PS$ (Figura 1B), apresenta maior toxicidade que o malation (REED; RUBIN, 2014; FMC, 2021; PUBCHEM, 2021).

Figura 1. Fórmulas estruturais do malation e malaoxon. A – Malation; B - Malaoxon



Em condições ambientais o malation se apresenta em forma líquida de coloração clara amarelada ou amarronzada, com odor forte. Sendo um composto organofosforado, apresenta baixa polaridade e por isso não apresenta alta solubilidade em água ($130\text{--}145\text{ mg L}^{-1}$ em $20\text{--}25\text{ }^{\circ}\text{C}$). É altamente solúvel em solventes orgânicos como metanol e acetona (COLEONE; PAGANINI, 2014; REED; RUBIN, 2014).

O malation foi registrado pela primeira vez como inseticida organofosforado em 1956 nos Estados Unidos. No Brasil, seu uso é regulamentado pela Resolução RE nº 2.475 de 08/06/12 (DOU de 11/06/12) e é comercializado sob diversas formulações (ANVISA, 2012; REED; RUBIN, 2014). É um inseticida e acaricida de amplo espectro, sendo utilizado para controle de pragas na agricultura, indústria, ambientes ao ar livre e jardins domiciliares, além de campanhas de saúde pública para controle de vetores de doenças regionais, como mosquitos. Pode ainda ser utilizado para controle de ectoparasitas em animais e piolhos em humanos (REED; RUBIN, 2014).

Na agricultura, sua aplicação pode ser foliar em diversas culturas, como alface, algodão, berinjela, brócolis, cacau, café, citrus, feijão, soja, orquídeas, entre outros, além de uso em arroz, feijão, milho, sorgo e trigo armazenados (ANVISA, 2021). No Brasil,

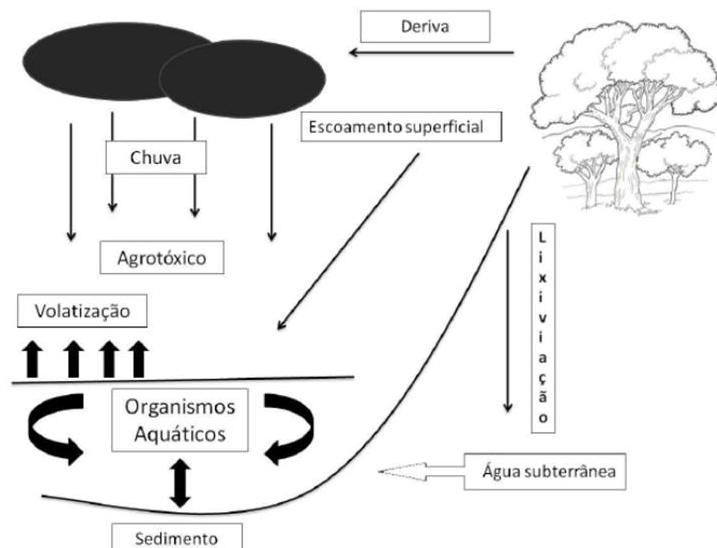
seu uso é majoritariamente voltado para o controle do mosquito da dengue (*Aedes aegypti*), através da nebulização do inseticida em áreas urbanas (COLEONE; PAGANINI, 2014) como acontece em Foz do Iguaçu (CCZ, 2018), apesar de estudos já terem demonstrado a ineficácia na diminuição populacional do *Aedes aegypti* com uso de fumacês (LEANDRO et al., 2020). Além disso, a nebulização de inseticidas em áreas urbanas acarreta em deposição residual em superfícies, ampliando os riscos da exposição através da via inalatória, oral e dérmica aos seres humanos (FRIEDRICH et al., 2018).

Pertencente à classe de organofosforados, o malation tem como mecanismo de ação a inibição da enzima acetilcolinesterase (AChE), a inativando permanentemente através de sua fosforilação. Dessa forma, ocorre acumulação da acetilcolina (ACh), que não é degradada devido à inativação da AChE, resultando em hiperestimulação colinérgica no cérebro, junções neuromusculares e nervos autônomos. Os insetos atingidos apresentam paralisia e subsequente morte. O metabolismo oxidativo de animais e humanos tende a converter o malation em malaoxon (ligação P=S em ligação mais tóxica P=O), responsável pela maior parte da toxicidade. A via de desintoxicação, então, volta a converter o malaoxon à malation, ou em ácido monocarboxílico (MCA) e ácido dicarboxílico de malaoxon (DCA) (COLEONE; PAGANINI, 2014; REED; RUBIN, 2014).

Ocupando o oitavo lugar na lista dos 10 compostos ativos mais comercializados no Brasil em 2019, o malation apresenta Classe III – Produto Moderadamente Tóxico – como classificação toxicológica, e é considerado um Produto Muito Perigoso ao Meio Ambiente – Classe II – quanto ao seu potencial de periculosidade ambiental (IBAMA, 2020; ANVISA, 2021; FMC, 2021). A Resolução nº 357/2005 do Conselho Nacional do Meio Ambiente (CONAMA) regulamenta os limites de concentração de poluentes em corpos hídricos, sendo o limite estabelecido para o malation em $0,1 \mu\text{g L}^{-1}$ em locais utilizados para o abastecimento populacional, enquanto corpos hídricos que não tem essa finalidade, podem apresentar até $100 \mu\text{g L}^{-1}$ do composto (BRASIL, 2005). Em outros países do mundo, como Estados Unidos e países da União Europeia, o limite máximo de concentração de malation em água para abastecimento humano também é estabelecido como $0,1 \mu\text{g L}^{-1}$ (IMOSKI, 2019). O malation apresenta baixa persistência no solo, no ar e na água (REED; RUBIN, 2014). Sua degradação no ambiente pode ocorrer através da biodegradação, hidrólise ou fotólise, enquanto no ar é degradado através de reações com radicais de hidroxila e fotólise, com estimada meia-vida de 5 horas. A meia vida do malation varia de acordo com o pH e do teor de matéria orgânica do meio, com degradação rápida em pH alcalino, enquanto em pH ácido, se mantém estável, podendo

persistir por meses no ambiente (COLEONE; PAGANINI, 2014; REED; RUBIN, 2014). Embora apresente fácil degradação, pode permanecer adsorvido em partículas do solo ou serem lixiviados pela água, tendo potencial de contaminação de ecossistemas inteiros. Adicionalmente, o subproduto gerado pela degradação ambiental do malation, o malaoxon, já descrito como um composto mais tóxico, pode se tornar disponível no ambiente, expondo ecossistemas inteiros, incluindo os seres humanos. Além do malaoxon, MCA e DCA, outros subprodutos podem ser gerados como dietil fumarato + ácido O,O dimetilfosforoditioico e dietil tiomalato + ácido O,O dimetilfosforotionico (COLEONE; PAGANINI, 2014). Estudos de contaminação já realizados no Brasil demonstraram concentrações excedentes do pesticida em águas superficiais, água da chuva, e sedimentos de rios, provenientes do uso agrônômico do pesticida, e também o uso urbano voltado ao combate do mosquito *A. aegypti* (MOREIRA et al., 2012; POSSAVATZ, 2013; DUAVI et al., 2015; CHAGAS; TEIXEIRA, 2016). A presença do malation e seus resíduos em corpos d'água representam risco para todos os organismos vivos que ali habitam. Os ambientes aquáticos são destino de diversos compostos químicos, contaminando o meio e afetando ecossistemas inteiros. A figura 3 esquematiza as possíveis rotas de contaminação (SILVA et al., 2013).

Figura 3. Esquema de rotas dos agrotóxicos para ambientes aquáticos.



Fonte: SILVA et al., 2013.

Processos químicos, físicos e microbiológicos que estão envolvidos no destino dos contaminantes no ambiente incluem a degradação, volatilização, escoamento, absorção, sorção e lixiviação (IMOSKI, 2019). Além disso, o uso desenfreado dos químicos

e o desmatamento crescente amplificam o risco de contaminação e de persistência do inseticida e outros compostos no ambiente (SILVA et al., 2013).

Os peixes são considerados ótimos organismos bioindicadores da qualidade de ambientes aquáticos, sendo capazes de demonstrar perturbações geradas por xenobióticos em diversas escalas, como por exemplo através da taxa de crescimento e maturação sexual. Outra característica notável desses animais é sua grande diversidade ecológica, com diferentes características de estilo de vida, habitat e locomoção. Os distúrbios causados nos ecossistemas aquáticos por contaminantes podem ser demonstrados através de alterações na abundância e diversidade de espécies, indicando impactos não só espécie específico, mas também na comunidade ecológica como um todo (FREITAS; SIQUEIRA-SOUZA, 2009).

No ambiente aquático, os peixes se encontram no topo da cadeia alimentar, se relacionando diretamente com todos os níveis inferiores e oferecendo respostas à diversos parâmetros de contaminação, como efeitos crônicos, acumulativos e de biomagnificação ao longo da cadeia (LINS et al., 2010). Ainda, essa posição na cadeia alimentar aquática pode afetar diretamente os humanos, uma vez que peixes são utilizados como fonte de proteína pelos mesmos, se tornando vetores de contaminação (ZHOU et al., 2008; ISLA, 2016).

Os peixes são animais sensíveis às mudanças nas características químicas da água, como pH e oxigênio dissolvido, podendo essas alterações serem causadas por contaminantes orgânicos e inorgânicos (FREITAS; SIQUEIRA-SOUZA, 2009). Essa sensibilidade também inclui os agrotóxicos, que causam diversos danos a esses animais (efeito subletal), incluindo a morte (efeito letal), dependendo da dose a qual foram expostos. Os danos causados envolvem alterações histológicas e morfológicas, bioquímicas, fisiológicas, alterações na reprodução, crescimento, comportamento, além de bioacumulação (ZHOU et al., 2008; FREITAS; SIQUEIRA-SOUZA, 2009; LINS et al., 2010; 2013; RIBEIRO; AMÉRICO-PINHEIRO, 2018).

Um levantamento feito por Albuquerque et al. (2016) indicou que inseticidas são a classe de agrotóxicos que apresenta maior risco à vida aquática no Brasil, exaltando a necessidade de um programa de monitoramento nacional para prevenção e remediação dos danos (ALBUQUERQUE et al., 2016). Segundo o site G1 – DF (2019), em 2016 o Ministério da Saúde investiu cerca de R\$ 40,4 milhões para comprar 1,65 milhão de litros de malation, utilizado no fumacê urbano, em combate ao mosquito da dengue (*Aedes aegypti*), com o potencial risco de atingir os corpos de água e contaminar a vida aquática,

incluindo os peixes, além de outros organismos (MELLO et al., 2020).

Considerando o uso significativo do malation no Brasil, principalmente através do fumacê para o controle do mosquito da dengue, e considerando o papel dos peixes em estudos de ecotoxicidade, o presente trabalho teve por objetivo revisar a literatura sobre os efeitos conhecidos do inseticida malation sobre a ictiofauna, buscando enriquecer a investigação acerca dos efeitos deste contaminante às mais variadas espécies, permitindo maior conhecimento sobre os riscos potenciais deste composto.

2 OBJETIVOS

2.1 OBJETIVO GERAL

Analisar os efeitos do inseticida malation sobre peixes com base na literatura.

2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

a) Realizar uma revisão bibliográfica em artigos científicos que abordem os efeitos do malation sobre espécies de peixes.

b) Analisar e categorizar os tipos de efeitos observados pelos autores dos trabalhos científicos.

c) Elaborar uma tabela contendo um resumo das informações sobre tipos de efeitos e índices de toxicidade sobre as diferentes espécies.

3 METODOLOGIA

Para a obtenção de dados sobre os efeitos adversos do inseticida malation sobre peixes, realizou-se um levantamento de artigos através da busca no site PUBMED (<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/>) pelas palavras chave: “Malathion” e “Fish” nos títulos e resumos dos artigos científicos disponíveis na plataforma.

Não foi imposto limite no ano de busca, e todos os artigos disponíveis foram avaliados quanto ao objetivo do presente estudo. Ao total, foram encontrados 90 artigos, que datam desde 1962 até 2021 e abordam os efeitos do malation em 60 espécies de peixes. Foi realizada a leitura dos artigos de maneira cronológica, extraíndo dados referentes à metodologia de estudo e resultados, principalmente.

A partir dos dados obtidos, foi proposta uma classificação dos efeitos observados, conforme apresentado nos resultados do presente trabalho. Além disso, as informações foram compiladas na forma de uma tabela, a qual indica os efeitos observados e índices de toxicidade para cada espécie estudada, de forma a facilitar a busca por espécies de interesse.

4 RESULTADOS

Os resultados encontrados neste estudo estão resumidos na tabela 1.

Tabela 1 – Espécies afetadas negativamente pela exposição ao malation, efeitos observados e índices de toxicidade.

Espécie	Efeitos	Índice de toxicidade	Autores
<i>Pimephales promelas</i>	Mortalidade; Alterações histológicas; Diminuição da taxa de eclosão de larvas	LC ₅₀ = 26 ppm (24h), 24 ppm (48h) e 23 ppm (96h)	PICKERING et al., 1962; MOUNT; STEPHAN, 1967
<i>Lepomis macrochirus</i>	Mortalidade	LC ₅₀ = 23 ppm (24h), 18 ppm (48h) e 16 ppm (96h)	PICKERING et al., 1962
<i>Carassius auratus</i>	Mortalidade; Inibição da atividade da AChE;	LC ₅₀ = 0,14 ppm (24h), 0,12 ppm (48h) e 0,09 ppm (96h); 11,3 ppm (96h)	PICKERING et al., 1962; SHAO-NAN; DE-FANG, 1996
<i>Lebistes reticulatus</i>	Mortalidade	LC ₅₀ = 0,93 (24h), 0,88 (48h) e 0,84 ppm (96h)	PICKERING et al., 1962
<i>Lagodon rhomboides</i>	Mortalidade; Inibição da atividade da AChE; Bioacumulação		COOK et al., 1976
<i>Jordanella floridae</i>	Mortalidade; Efeito negativo sobre o crescimento larval	LC ₅₀ = 349 µg L ⁻¹ (96h), 235 µg L ⁻¹ (216h)	HERMANUTZ, 1978
<i>Notropis cornutus</i>	Mortalidade; Intoxicação; Tetania muscular; Diminuição da regulação da temperatura corporal	LC ₅₀ = 10 µg L ⁻¹ (96h)	DOMANIK; ZAR, 1978
<i>Oreochromis mossambicus</i>	Mortalidade; Inibição da atividade da AChE; Aumento da atividade da protease; Desregulação dos níveis de aminoácidos livres; Aumento da síntese proteica; Diminuição da taxa de respiração; Alteração no nível de enzimas respiratórias;	LC ₅₀ = 5,5 ppm (48h), 5,7 ppm (48h), 0,367 ppm (48h)	SAHIB; RAO, 1980; BASHA et al., 1983; BASHA et al., 1984; SAHIB et al., 1984a; SAHIB et al., 1984b; SAPOZHNIKOVA et al., 2004

	Bioacumulação em amostras coletadas na natureza		
<i>Heteropneustes fossilis</i>	Mortalidade; Alterações atividade da glândula pituitária; Alteração na produção de gonadotrofina e de LH; Alterações hematológicas e bioquímicas; Hiperglicemia; Hiper e Hipocloremia; Alterações da atividade tireoidiana; Alterações histopatológicas nas guelras; Alteração na atividade ovariana; Alterações comportamentais; Secreção e deposição de muco em excesso; Pupilas dilatadas; Embranquecimento da pele	LC ₅₀ = 45 ppm (96h); 9,5 ppm (24h), 9,25 ppm (48h), 8,62 (72h) e 8,5 (96h); 5,80 ppm (24h), 3,35 ppm (48h), 4,50-6,00 ppm (72h), 4,00-4,50 ppm (96h)	SINGH; SINGH, 1980; MISHRA; SRIVASTAVA, 1983; SINGH et al., 1984; YADAV; SINGH, 1986; YADAV; SINGH, 1987; DUTTA et al., 1996
<i>Channa punctatus</i>	Mortalidade; Inibição da AChE; Estresse oxidativo; Alterações bioquímicas; Diminuição no nível de glicogênio e proteínas; Aumento no nível de colesterol; Inibição da síntese de-novo de proteínas e lipídios; Dano histopatológico ao rim e fígado; Dano ao DNA; Indução de micronúcleos; Inibição da esteroidogênese; Alterações comportamentais; Secreção e deposição de muco em excesso; Pupilas dilatadas; Embranquecimento da pele	LC ₅₀ = 4,20 ppm (24h), 3,70 ppm (48h), 3,32 ppm (72h) e 2,90 ppm (96h); 9,16 µg L ⁻¹ (24h); 6,59 µg L ⁻¹ (48h); 5,10 µg L ⁻¹ (72h); e 4,51 µg L ⁻¹ (96h); Formulação comercial (Malathion 50 EC): 9,93 µg L ⁻¹ (24h); 8,21 µg L ⁻¹ (48h); 5,94 µg L ⁻¹ (72h); e 3,89 µg L ⁻¹ (96h); 6,65 ppm (96h); 6,51 ppm (96h); 5,93 ppm (96h); 8 ppm (96h)	AWASTHI et al., 1984; SINGH et al., 1984; HAIDER; INBARAJ, 1987; INBARAJ; HAIDER, 1988; SAXENA et al., 1989; PANDEY et al., 2004; KUMAR et al., 2010; BHARTI; RASOOL, 2021
<i>Danio rerio</i>	Mortalidade; Diminuição da atividade da AChE;	LC ₅₀ = 1,45 ppm (24h), 1,25 ppm (48h), 1,15	KUMAR; ANSARI, 1983;

	<p>Alterações bioquímicas; Diminuição nos níveis de proteínas, DNA, RNA, e atividade das fosfatases alcalinas; Alterações na regulação gênica (AChE e LINGO-1B); Diminuição da atividade da carboxilesterase; Diminuição no nível de aminoácidos livres; Aumento na atividade da arginase; Diminuição da massa das gônadas; Perda de peso corporal; Falha na desova; Mortalidade embrionária e larval; Malformações; Perturbações no crescimento larval; Alterações no comportamento larval; Perturbação no desenvolvimento dos órgãos; Escurecimento da pele; Fraturas e alterações ósseas na coluna</p>	<p>ppm (72h) e 1,05 ppm (96h); LOEC: 10 mg L⁻¹ (sobrevivência embrionária); 3 mg L⁻¹ (sobrevivência larval; eclosão e malformações); 1 mg L⁻¹ (crescimento larval)</p>	<p>ANSARI; KUMAR, 1984; KUMAR; ANSARI, 1986; NGUYEN; JANSSEN, 2001; COOK et al., 2005; GONZÁLEZ et al., 2011; SCHMITT et al., 2019</p>
<i>Gambusia affinis</i>	<p>Mortalidade; Inibição da atividade da AChE; Alterações histopatológicas das guelras; Necrose</p>	<p>LC₅₀ = 0,2 mg L⁻¹ (96h); 0,7 ppm (96h); 1,23 mg L⁻¹ (48h)</p>	<p>NAQVI; HAWKINS, 1988; SHAO-NAN; DE-FANG, 1996; MILAM et al., 2000; CENGIZ; UNLU, 2003</p>
<i>Cyprinus carpio</i>	<p>Mortalidade; Estresse oxidativo (<i>in vivo</i> e <i>in vitro</i>: linhagem celular <i>epithelioma papillosum cyprini</i>); Alterações hematológicas; Alterações imunológicas; Alterações comportamentais; Locomoção prejudicada; Escoliose; Escurecimento da pele;</p>	<p>LC₅₀ = 13,8 (96h), 12,81 ppm (96h); 1,4 ppm (40d), 0,8 ppm (70d)</p>	<p>BENDER, 1969; ALAM; MAUGHAN, 1992; RUIZ-LEAL; GEORGE, 2004; SAPOZHNIKOVA et al., 2005; YONAR, 2013; YONAR et al., 2014; URAL et al., 2015</p>

	Bioacumulação; Bioacumulação em amostras coletadas na natureza		
<i>Barilius vagra</i>	Mortalidade; Escurecimento da pele	LC ₅₀ = 7,39 ppm (96h), 7,66 ppm (96h)	ALAM; MAUGHAN, 1992
<i>Pseudorasbora parva</i>	Mortalidade; Inibição da atividade da AChE	LC ₅₀ = 14,5 ppm (96h)	SHAO-NAN; DE-FANG, 1996
<i>Tilapia nilotica</i>	Mortalidade; Inibição da atividade da AChE; Aumento da atividade de biomarcadores enzimáticos do fígado, evidenciando lesão hepática em larvas; Alterações no comportamento em larvas; Convulsões em larvas	LC ₅₀ = 4,6 ppm (96h); 0,43 mg L ⁻¹ (96h) - larval	SHAO-NAN; DE-FANG, 1996; EL-NAHHAL, 2018
<i>Salmo gairdneri</i>	Mortalidade; Inibição da atividade da AChE	LC ₅₀ = 0,25 ppm (96h)	SHAO-NAN; DE-FANG, 1996
<i>Oryzias latipes</i>	Mortalidade; Bioacumulação; Alterações bioquímicas e metabólicas; Indução da gliconeogênese e proteólise; Alterações comportamentais; Alterações no sistema imunológico	LC ₅₀ = 2,4 mg L ⁻¹ (24h), 1,8 mg L ⁻¹ (48h); 2,3 mg L ⁻¹ (96h)	TSUDA et al., 1997; BEAMAN et al., 1999; UNO et al., 2012
<i>Colisa fasciatus</i>	Mortalidade; Alterações bioquímicas; Glicólise anaeróbica; Proteólise	LC ₅₀ = 3,15 mg L ⁻¹ (24h), 2,85 mg L ⁻¹ (48h), 2,43 mg L ⁻¹ (72h) e 2,12 mg L ⁻¹ (96h)	SINGH et al., 2004
<i>Cirrhinus mrigala</i>	Mortalidade; Inibição da atividade da AChE; Diminuição dos níveis de Ach; Alterações bioquímicas; Aumento dos níveis de aminoácidos livres e atividade de proteases; Diminuição dos níveis de proteínas totais	LC ₅₀ = 15 µL L ⁻¹ (96h)	DAVID et al., 2007
<i>Labeo rohita</i>	Mortalidade; Inibição da atividade da AChE; Aumento de espécies	LC ₅₀ = 9 µL L ⁻¹ (96h); 4,5 µg L ⁻¹ (96h); 5 µg L ⁻¹ (96h); 15 mg L ⁻¹	DUTTA et al., 1992; PATIL; DAVID, 2008;

	<p>reativas de oxigênio; Diminuição nos níveis de proteínas; Diminuição nos níveis de glicogênio; Diminuição nos níveis de aminoácidos livres; Diminuição nos níveis de ácidos nucleicos; Diminuição da peroxidação lipídica; Diminuição da atividade de enzimas metabólicas; Estresse oxidativo; Anormalidades nucleares; Dano ao DNA; Alterações histopatológicas no fígado, rins e guelras; Alterações comportamentais; Hiperexcitabilidade; Secreção e deposição de muco em excesso; Perturbações no consumo do oxigênio; Inibição <i>in vitro</i> de linhagem celular proveniente das guelras (LRG); Bioacumulação</p>	(96h); 14,09 mg L ⁻¹ (96h)	<p>PATIL; DAVID, 2010; THENMOZHI et al., 2011; PATIL; DAVID, 2013; ABDUL MAJEED et al., 2013; KARMAKAR et al., 2016; ULLAH et al., 2018</p>
<i>Hyphessobrycon erythrostigma</i>	Mortalidade	LC ₅₀ = 252 µg L ⁻¹ (96h)	RICO et al., 2011
<i>Paracheirodon axelrodi</i>	Mortalidade	LC ₅₀ = 247 µg L ⁻¹	RICO et al., 2011
<i>Nannostomus unifasciatus</i>	Mortalidade	LC ₅₀ = 111 µg L ⁻¹ (96h)	RICO et al., 2011
<i>Otocinclus affinis</i>	Mortalidade	LC ₅₀ = 1067 µg L ⁻¹	RICO et al., 2011
<i>Colossoma macropomum</i>	<p>Mortalidade; Aumento da atividade de enzimas antioxidantes; Dano ao DNA em células sanguíneas; Dano histopatológico nas guelras; Aumento na expressão do proto-oncogene ras</p>	<p>LC₅₀ = 1507 µg L⁻¹ (96h) (fase larval); 15,77 mg L⁻¹ (96h)</p>	<p>RICO et al., 2011; DE SOUZA et al., 2020</p>
<i>Oreochromis</i>	Mortalidade;	LC ₅₀ = 5 ppm (96h)	KANDIEL et al.,

<i>niloticus</i>	Desregulação hormonal: LH, FSH, testosterona e estradiol; Aberrações cromossômicas; fragmentação do DNA; Indução de micronúcleo; Diminuição da motilidade do esperma		2014
<i>Oncorhynchus tshawytscha</i>	Mortalidade; Inibição da atividade da AChE	LC ₅₀ = 346,2 µg L ⁻¹ (11 °C) e 274,1 µg L ⁻¹ (19 °C); IC ₅₀ da atividade enzimática da AChE = 4,1 µg L ⁻¹	SCHOLZ et al., 2006; DIETRICH et al., 2014
<i>Lepomis gibbosus</i>	Inibição da atividade da AChE		MURPHY et al., 1968
<i>Ictalurus melas</i>	Inibição da atividade da AChE		MURPHY et al., 1968
<i>Micropterus dolomieu</i>	Inibição <i>in vitro</i> da atividade da AChE		MURPHY et al., 1968
<i>Pseudopleuronectes americanus</i>	Inibição <i>in vitro</i> da atividade da AChE		MURPHY et al., 1968
<i>Myoxocephalus scorpius</i>	Inibição <i>in vitro</i> da atividade da AChE		MURPHY et al., 1968
<i>Seriola dumerilli</i>	Inibição da atividade da AChE		JEBALI et al., 2006
<i>Penaeus indicus</i>	Inibição da atividade da AChE e BChE		STURVE et al., 2016
<i>Periophthalmus argentilineatus</i>	Inibição da atividade da AChE e BChE		STURVE et al., 2016
<i>Oreochromis mossambicus</i>	Inibição da atividade da AChE e BChE		STURVE et al., 2016
<i>Sparus aurata</i>	Estresse oxidativo; Aumento de peroxidação lipídica microsossomal; Aumento da ativação de arilaminas		PEDRAJAS et al., 1995; RODRÍGUEZ-ARIZA et al., 1995
<i>Carassius auratus gibelio</i>	Estresse oxidativo; Bioacumulação em amostras coletadas na natureza		SAPOZHNIKOVA et al., 2005; HUCULECI et al., 2008
<i>Ctenopharyngodon idella</i>	Citotoxicidade (<i>in vitro</i> : linhagem celular ZC-7901)	IC ₅₀ = 37,94 mg L ⁻¹ (12h); 3,04 mg L ⁻¹ (72h)	CHEN et al., 2006

<i>Clarias batrachus</i>	Alterações hormonais; Disfunção endócrina; Diminuição nos níveis de proteínas; Indução de lipólise; Diminuição do tamanho dos ovários		Lal et al., 2013
<i>Clarias gariepinus</i>	Mortalidade embrionária e larval; Perturbações no desenvolvimento embrionário e larval; Malformações; Perturbações no processo de eclosão	LOEC: 2,5 mg L ⁻¹ (sobrevivência larval); 5 mg L ⁻¹ (sobrevivência embrionária e eclosão); 1,5 mg L ⁻¹ (malformações e crescimento)	LIEN et al., 1997; NGUYEN; JANSSEN, 2001; NGUYEN; JANSSEN, 2002
<i>Sciaenops ocellatus</i>	Perda do peso corporal em larvas; Aumento da síntese proteica em larvas		MCCARTHY; FUIMAN, 2008
<i>Pagrosomus major</i>	Mortalidade embrionária e larval; Perturbações no desenvolvimento embrionário e larval; Perturbações no processo de eclosão	LC ₅₀ = 4,7 µg L ⁻¹ (48h) - embriões; 3,75 µg L ⁻¹ (48h) - larvas;	ZHAO et al., 2017
<i>Salmo trutta</i>	Estresse oxidativo nos espermatozoides; Diminuição na motilidade do esperma; Aumento dos níveis da peroxidação lipídica e de glutatona; Diminuição nos níveis de glutatona peroxidase e superóxido dismutase		KOCABAŞ et al., 2018
<i>Solea senegalensis</i>	Inibição da atividade da AChE, BChE e carboxilesterase em larvas; Alterações histopatológicas em larvas		ORTIZ-DELGADO et al., 2021
<i>Mugil species</i>	Bioacumulação		OSFOR et al., 1998
<i>Channa striata</i>	Bioacumulação; Concentrações de resíduos em amostras coletadas na natureza		AMARANENL; PLLLALA, 2001

	acima das permitidas pela FAO		
<i>Catla catla</i>	Bioacumulação; Concentrações de resíduos em amostras coletadas na natureza acima das permitidas pela FAO		AMARANENL; PLLLALA, 2001
<i>Cynoscion xanthulu</i>	Bioacumulação em amostras coletadas na natureza		SAPOZHNIKOVA et al., 2004
<i>Abramis brama</i>	Bioacumulação em amostras coletadas na natureza		SAPOZHNIKOVA et al., 2005
<i>Rutilus rutilus heckeli</i>	Bioacumulação em amostras coletadas na natureza		SAPOZHNIKOVA et al., 2005
<i>Perca fluviatilis</i>	Bioacumulação em amostras coletadas na natureza		SAPOZHNIKOVA et al., 2005
<i>Chondrostoma nasus</i>	Bioacumulação em amostras coletadas na natureza		SAPOZHNIKOVA et al., 2005
<i>Tilapia spp</i>	Bioacumulação em amostras coletadas na natureza		ABDEL-HALIM et al., 2005
<i>Pangasianodon hypophthalmus</i>	Bioacumulação em amostras coletadas na natureza		CHATTERJEE et al., 2016
<i>Piaractus mesopotamicus</i>	Bioacumulação em amostras coletadas na natureza		BRODEUR et al., 2021
<i>Anabas testudineus</i>	Alterações comportamentais; Hipoatividade; Diminuição da função visual; Letargia; Nado errático		DUTTA et al., 1994
<i>Oncorhynchus mykiss</i>	Inibição da atividade enzimática da AChE; Alterações comportamentais; Alterações na distância e velocidade do nado		BREWER et al., 2001
<i>Poeciliopsis lucida</i>	Inibição <i>in vitro</i> do crescimento da linhagem celular PLHC-	NR ₅₀ = 53,5 µg mL ⁻¹ (24h)	BABICH et al., 1991

4.1 EFEITOS SOBRE A MORTALIDADE E LC₅₀

Diversos estudos com diferentes espécies de peixe demonstraram os efeitos do malation sobre a sobrevivência dos animais. Ensaio de toxicidade aguda com as espécies de peixes *Pimephales promelas*, *Lepomis macrochirus*, *Carassius auratus* e *Lebistes reticulatus* foram realizados para determinação da concentração letal mediana (LC₅₀) do malation. Grupos de cinco peixes de cada espécie foram expostos durante 96 horas à diversas concentrações de malation, diluído em acetona e adicionado à água do aquário no qual estavam acondicionados. A mortalidade foi observada nos tempos de 24, 48 e ao final, após as 96 horas, e o teste foi realizado em duplicata. A LC₅₀ encontrada, para cada espécie, foi de: *Pimephales promelas* = 26 ppm (24h), 24 ppm (48h) e 23 ppm (96h), *Lepomis macrochirus* = 23 ppm (24h), 18 ppm (48h) e 16 ppm (96h), *Carassius auratus* = 0,14 (24h), 0,12 ppm (48h) e 0,09 ppm (96h) e *Lebistes reticulatus* = 0,93 (24h), 0,88 (48h) e 0,84 ppm (96h). O estudo também demonstrou que a formulação comercial do inseticida interfere na mortalidade das espécies *Pimephales promelas* e *Lepomis macrochirus*, sendo as formulações comerciais com maior concentração do malation mais tóxicas a esses animais (PICKERING et al., 1962).

A exposição crônica de adultos de *Pimephales promelas* ao malation resultou em mortalidade significativa em exposição à concentração de 0,58 mg L⁻¹. Grupos de 10 animais foram expostos à quatro concentrações (0,58, 0,20, 0,07 e 0,03 mg L⁻¹) além de um grupo controle, todos em duplicata, durante 10 meses. Após 4 meses, o número de animais diminuiu para cinco em cada aquário, após os autores concluírem que essa quantidade foi suficiente para o estudo. A exposição ocorreu através da presença do malation na água do aquário. Na concentração de 0,58 mg L⁻¹ houve 20% de mortalidade, ocorrida durante as 7 primeiras semanas do experimento. Alguns dos peixes sobreviventes nessa concentração se apresentaram deformados e doentes. Na concentração de 0,20 mg L⁻¹, houve apenas uma morte (MOUNT; STEPHAN, 1967).

A mortalidade de peixes adultos da espécie *Lagodon rhomboides* foi testada após a exposição de oito réplicas de 10 peixes à concentração de 30 µg L⁻¹ de malation, diluído na água do aquário, durante 72 horas. Em 48 horas de exposição, já foram observados índices significativos de mortalidade, em porcentagem de 10%, chegando a 60% em 72 horas (COOK et al., 1976). A investigação da toxicidade aguda do malation

sobre a espécie *Notropis cornutus* resultou no valor da LC_{50} como $10 \mu\text{g L}^{-1}$ após 96 horas (DOMANIK; ZAR, 1978).

Grupos de 14 a 20 peixes da espécie *Jordanella floridae* foram expostos às concentrações de 31,5, 24,7, 19,3, 15, 10,9, 8,6 e $5,8 \mu\text{g L}^{-1}$ de malation, diluído na água do recipiente no qual estavam acondicionados, durante 30, 65 e 110 dias, desde sua fase larval, sendo avaliados quanto a taxa de sobrevivência. A sobrevivência diminuiu significativamente nas concentrações de 31,5 e $24,7 \mu\text{g L}^{-1}$ nos primeiros 30 dias, não sendo observada maior mortalidade nos dias restantes de exposição. A segunda geração desses animais foi igualmente exposta e observada por 30 dias, e não houve diferença significativa na sobrevivência. Testes agudos foram realizados em peixes adultos utilizando diversas concentrações para obtenção da LC_{50} , que após 96 horas resultou em $349 \mu\text{g L}^{-1}$, e após 216 horas, em $235 \mu\text{g L}^{-1}$ (HERMANUTZ, 1978).

Peixes da espécie *Oreochromis mossambicus* foram submetidos às concentrações de 1, 2, 4, 6, 8 e 10 ppm de malation, adicionados na água dos aquários nos quais estavam acondicionados, em grupo de 10 peixes para cada tratamento, com cinco réplicas cada, para teste de mortalidade e de LC_{50} por 48 horas. Os resultados apresentaram mortalidade a partir de 4 ppm, com taxa de 10%; em 6 ppm, 60%; em 8 ppm, 90%; e 100% de mortalidade em 10 ppm. A LC_{50} encontrada, utilizando o método gráfico descrito por Finney (1964), foi de 5,5 ppm e pelo método "Dragstedt and Behrens" descrito por Carpenter (1975), utilizando-se cinco outras concentrações (1 a 16 ppm), foi de 5,7 ppm (SAHIB; RAO, 1980). Em um estudo posterior sobre LC_{50} do malation em *Oreochromis mossambicus*, o inseticida foi adicionado a água dos aquários, para resultar em concentração de 0,2 a 0,6 ppm, e os peixes ficaram expostos durante 48 horas. A LC_{50} encontrada foi de 0,367 ppm (BASHA et al., 1983). Ainda, Sahib et al. (1984a) encontraram como valor de LC_{50} do malation para a mesma espécie 5,6 ppm, após 48 horas de exposição. Apesar dos dois primeiros estudos citados possuírem um autor em comum e os desenhos experimentais serem extremamente semelhantes, os resultados obtidos de LC_{50} foram divergentes. Nenhum dos estudos cita um ao outro, nem explica o motivo para tais resultados. Os estudos de Sahib e Rao (1980) e Sahib et al. (1984a) também compartilham um autor, porém observa-se que os resultados são similares.

Os efeitos do malation sobre o peixe *Heteropneustes fossilis*, foram estudados através da utilização da formulação comercial Cythion. Diversas concentrações foram testadas, expondo grupos de quatro peixes durante 96 horas. Assim, fez-se possível a obtenção da LC_{50} de 45 ppm para essa espécie. O experimento delimitou também a

concentração segura (SC), que não causa nenhum efeito letal a esses peixes, como sendo 9 ppm (SINGH; SINGH, 1980). Em outro estudo com *Heteropneustes fossilis*, utilizando o composto ativo malation, grupos de 20-25 peixes foram expostos à concentração subletal de 7,6 ppm, após estudo prévio acerca da LC₅₀, por 24, 48, 72 e 96 horas. Grupos controle foram realizados, adicionando na água do aquário apenas acetona, solvente utilizado para dissolver o malation. Os valores de LC₅₀ encontrados foram: 24h: 9,5 ppm; 48h: 9,25 ppm; 72h: 8,62 ppm; e 96h: 8,5 ppm (MISHRA; SRIVASTAVA, 1983). Em um trabalho posterior para verificar a toxicidade aguda do malation sobre esta espécie, grupos de 10 peixes foram submetidos à diversas concentrações de malation por 24 a 96 horas. Os valores de LC₅₀ obtidos foram as seguintes: 24 horas: 5,80 ppm; 48 horas: 3,35 ppm; 72 horas: 4,50-6,00 ppm; 96 horas: 4,00-5,50 ppm (SINGH et al., 1984). Ainda, com essa espécie, o estudo de Yadav e Singh (1986) previu através do método de ensaio estatístico de Ludke et al. (1971) que a LC₅₀ do malation após 96 horas de exposição é de 45 ppm, sendo a concentração subletal máxima (SL) de 35 ppm (YADAV; SINGH, 1986). É possível observar a divergência de valores obtidos para a LC₅₀ entre os estudos descritos. Estudos de Singh e Singh (1980) e Yadav e Singh (1986) compartilham um autor, e seus resultados são análogos, porém, ressalta-se que Singh e Singh (1980) utilizaram uma formulação comercial do malation. Yadav e Singh (1986) não especificam o composto utilizado. Os outros dois estudos pertencem à autores diferentes, fazem uso do composto ativo malation e obtiveram resultados semelhantes, mas que divergem significativamente dos outros estudos.

Resultados semelhantes aos citados acima foram encontrados para *Channa punctatus*, onde as seguintes LC₅₀ foram encontradas: 24 horas: 4,20 ppm; 48 horas: 3,70 ppm; 72 horas: 3,32 ppm; e 96 horas: 2,90 ppm (SINGH et al., 1984).

A toxicidade do malation como composto ativo e em sua formulação comercial (Malathion 50 EC) sobre a espécie *Channa punctatus* foi estudada. A exposição ocorreu em grupos de 10 peixes, expostos a diversas concentrações dos dois compostos, durante 24, 28, 72 e 96 horas a fim de determinar a LC₅₀ de todos os períodos citados. Os resultados de LC₅₀ obtidos para o composto ativo malation foram de 9,16 µg L⁻¹ (24h); 6,59 µg L⁻¹ (48h); 5,10 µg L⁻¹ (72h); e 4,51 µg L⁻¹ (96h); e para a formulação comercial os resultados de LC₅₀ foram de 9,93 µg L⁻¹ (24h); 8,21 µg L⁻¹ (48h); 5,94 µg L⁻¹ (72h); e 3,89 µg L⁻¹ (96h) (HAIDER; INBARAJ, 1987).

Outro estudo de determinação da LC₅₀ do malation em *Channa punctatus* foi realizado através da exposição de grupos de 10 indivíduos à seis concentrações diferentes de malation, de 2, 4, 6, 8, 12 e 16 ppm, durante 96 horas, sendo cada

concentração realizada em duplicata. O valor de LC₅₀ foi calculado a partir da taxa de mortalidade obtida no ensaio, através do método de análise “probit” descrito por Finney (1964) e através do software estatístico SPSS, sendo encontrado o valor de 6,65 e 6,51 ppm a partir de cada método, respectivamente (PANDEY et al., 2004). Ainda, sobre essa espécie, a exposição às concentrações de 2, 4, 6, 8, 12 e 16 ppm de malation durante 96 horas resultou na determinação de LC₅₀ como 5,93 ppm (KUMAR et al., 2010). Outro estudo, determinou a LC₅₀ como 8 mg L⁻¹ (ppm) após 96 horas (BHARTI; RASOOL, 2021). Os autores discutem a divergência do valor encontrado com os valores anteriormente descritos por outros estudos, uma vez que esse parâmetro pode sofrer variações de acordo com a taxa de absorção, acumulação, metabolização e excreção do peixe. Ainda, a disponibilidade do inseticida na água para absorção pelos animais irá depender da taxa de hidrólise, sendo essa dependente das propriedades da água, podendo variar de experimento para experimento (BHARTI; RASOOL, 2021).

A exposição de grupos de 20 peixes-zebra (*Danio rerio*) à diversas concentrações de malation, durante 96 horas, permitiu a determinação da LC₅₀ como 1,45 ppm (24h), 1,25 ppm (48h), 1,15 ppm (72h) e 1,05 ppm (96h) (KUMAR; ANSARI, 1983). Outros estudos sobre os efeitos do malation sobre o peixe-zebra (*Danio rerio*) foram realizados, em dois tratamentos. No primeiro, grupos de 20 peixes foram expostos às concentrações de 0,5, 0,7, 0,9 e 1,1 ppm de malation por sete dias, sendo cada concentração realizada em seis replicatas. No segundo, realizado em seis replicatas, grupos de 20 peixes foram expostos à concentração de 0,5 ppm de malation por quatro meses. Grupos de 20 peixes foram expostos a somente acetona, como grupo controle, também em seis replicatas. Houve mortalidade dos peixes expostos, chegando 50% de taxa de morte em concentração de 1,1 ppm, quando expostos por sete dias (ANSARI; KUMAR, 1984).

Testes agudos e crônicos foram realizados sobre indivíduos juvenis da carpa comum (*Cyprinus carpio*) expostas ao malation de forma a avaliar a mortalidade e determinar a LC₅₀. Os testes de toxicidade aguda foram realizados expondo grupos de 10 peixes às concentrações de 8,55, 11,4, 14,25, 14,8 e 17,1 ppm durante 96 horas, além de um grupo controle. Os peixes juvenis expostos foram separados por dois tamanhos: 2,5 e 5 cm. Houve mortalidade em todas as concentrações, exceto o grupo de juvenis de 2,5 cm expostos à 8,55 ppm. Os valores de LC₅₀ obtidos foram de 13,8 e 12,81 ppm para os grupos de 2,5 e 5 cm, respectivamente. Os testes de toxicidade crônica foram realizados expondo grupos de 10 a 20 peixes às concentrações de 0,1, 0,57, 1, e 2 ppm durante 40 e 70 dias.

As LC₅₀ resultantes foram de 1,4 e 0,8 ppm para os grupos expostos por 40 e 70 dias respectivamente (ALAM; MAUGHAN, 1992).

Alam e Maughan (1992) ainda avaliaram os efeitos do malation sobre a mortalidade de adultos *Barilius vagra* expostos de forma aguda. Dois grupos de 10 animais foram expostos às concentrações de 4, 6,5, 8,55 e 11,4 ppm de malation durante 96 horas. Houve mortalidade em todas as concentrações, sendo determinado 7,39 e 7,66 ppm como LC₅₀ após 96 horas, de cada réplica realizada (ALAM; MAUGHAN, 1992).

As espécies *Pseudorasbora parva*, *Carassius auratus*, *Tilapia nilotica*, *Gambusia affinis* e *Salmo gairdneri* foram expostas à diversas concentrações de malation por 96 horas, obtendo-se os valores de LC₅₀ para: *P. parva* = 14,5 ppm; *C. auratus* = 11,3 ppm; *T. nilotica* = 4,6 ppm; *G. affinis* = 0,7 ppm; *S. gairdneri* = 0,25 ppm. Adicionalmente, a exposição dos peixes previamente ao tratamento à fosfato de trifenila resultou em toxicidade aumentada do malation (SHAO-NAN; DE-FANG, 1996). Observa-se que os valores de LC₅₀ determinados para *Carassius auratus* variam muito dos valores determinados por Pickering (1962), entretanto, os autores não discutem essa diferença de resultado.

A toxicidade do malation em sua formulação comercial Security® foi testada sobre a espécie *Gambusia affinis* para a determinação da LC₅₀. Grupos de 10 peixes foram expostos às concentrações de 0,1, 0,2, 0,3, 0,4 e 0,5 mg L⁻¹ de Security® durante 96 horas, sendo cada concentração testada em seis réplicas. A LC₅₀ obtida a partir das taxas de mortalidade observadas foi de 0,2 mg L⁻¹ da formulação comercial contendo malation. Ainda, calculou-se a LC₅ no valor de 0,0041 mg L⁻¹ e a LC₉₉ sendo 0,0531 mg L⁻¹ (NAQVI; HAWKINS, 1988). É curioso o fato de que o valor de LC₉₉ apresentado seja menor que o valor de LC₅₀, uma vez que é coerente que concentrações maiores acarrete em maior mortalidade em um período de tempo. Os autores apresentaram os valores de LC₅ e LC₉₉ na unidade de medida µg L⁻¹, enquanto a LC₅₀ é apresentada na unidade de medida mg L⁻¹, havendo a possibilidade de equívocos no momento de conversão desses valores. Esses valores poderiam ser alternativamente explicados devido ao fenômeno da hormese causado por alguns químicos, onde as respostas fisiológicas do organismo se comportam como uma curva em U invertido, havendo aumento de resposta em níveis baixos/médios, mas uma redução em níveis mais altos do composto (CALABRESE; BALDWIN, 2001).

A espécie *Gambusia affinis* foi novamente utilizada em estudo onde foram avaliados os efeitos de diversos inseticidas utilizados para o controle de mosquitos em organismos não-alvos. Os peixes foram coletados de áreas sem exposição prévia ao

malation e grupos de cinco animais foram expostos à diversas concentrações do malation durante 48 horas para avaliação da mortalidade e determinação da LC₅₀. Cada concentração testada foi realizada em quatro réplicas, além do grupo controle. A LC₅₀ encontrada após 48 horas de exposição foi de 1,23 mg L⁻¹ (MILAM et al., 2000).

Ensaio de toxicidade aguda foram realizados sobre a espécie *Oryzias latipes* para determinação da LC₅₀. Duplicatas de cinco peixes cada foram submetidas às concentrações de 0,76, 1,2, 2, 3,1 e 5 mg L⁻¹ durante 48 horas, sendo a mortalidade checada em 24 e 48 horas. O ensaio contava com grupo controle também em duplicata. A LC₅₀ após 24 horas encontrada para essa espécie foi de 2,4 mg L⁻¹ e após 48 horas de 1,8 mg L⁻¹. O mesmo ensaio foi realizado com o malaoxon, em concentrações de 0,076, 0,12, 0,2, 0,31 e 0,5 mg L⁻¹. A LC₅₀ encontrada foi de 0,45 mg L⁻¹ e 0,28 mg L⁻¹ para 24 e 48 horas, respectivamente (TSUDA et al., 1997). Outro estudo com a mesma espécie, utilizando o malation, determinou como LC₅₀ após 96 horas como sendo 2300 µg L⁻¹ (2,3 mg L⁻¹) (UNO et al., 2012).

Peixes da espécie *Colisa fasciatus* foram expostos, durante 96 horas, às concentrações de 2, 2,5, 3 e 3,5 mg L⁻¹, sendo a mortalidade registrada a cada 24 horas. Observou-se mortalidade dose e tempo dependente, com valores de LC₅₀ de: 3,15 mg L⁻¹ (24h), 2,85 mg L⁻¹ (48h), 2,43 mg L⁻¹ (72h) e 2,12 mg L⁻¹ (96h) (SINGH et al., 2004).

Testes de toxicidade aguda foram realizados com a espécie *Cirrhinus mrigala*, expondo os animais à diversas concentrações durante 96 horas. A LC₅₀ encontrada através do método de Finney (1971) foi de 15 µL L⁻¹ (DAVID et al., 2007). Valores baixos foram também encontrados para a espécie *Labeo rohita*, onde grupos de 10 peixes foram expostos à diversas concentrações de malation, variando entre 6 a 10,1 µL L⁻¹, durante 96 horas para determinação da LC₅₀, sendo cada concentração realizada em seis réplicas, além de um grupo controle. O valor de LC₅₀ encontrado foi de 9 µL L⁻¹ (PATIL; DAVID, 2008). Outra exposição de *Labeo rohita* à diversas concentrações de malation possibilitou a determinação da LC₅₀ como 4,5 µg L⁻¹ (PATIL; DAVID, 2010). Ainda, com a espécie *Labeo rohita*, grupos de 10 peixes por aquário foram expostos às concentrações de 2 a 8 µg L⁻¹ de malation, sendo possível obter a LC₅₀ após 96 horas, de 5 µg L⁻¹ (ULLAH et al., 2018). Interessantemente, outros estudos demonstram que a exposição de grupos de 10 peixes às concentrações de 5, 10, 15, 20 e 30 mg L⁻¹ durante 96 horas gerou resultado de LC₅₀ no valor de 15 mg L⁻¹ (THENMOZHI et al., 2011) e 14,09 mg L⁻¹ (ABDUL MAJEED et al., 2013), apesar dos autores não discutirem essas inconsistências. Utilizando uma linhagem celular proveniente das guelras desta mesma espécie (*Lohu gill cell line* - LRG), foi realizada

exposição ao malation durante 24 horas, às concentrações de 5, 10, 15, 20, 25 e 30 $\mu\text{g mL}^{-1}$ para avaliação de viabilidade e inibição celular, através de análises de morfologia celular, ensaio MTT, ensaio de absorção do vermelho neutro, ensaio de redução do azul Alamar e ensaio de proteína celular através de coloração azul Coomassie. Todos esses ensaios são análises indiretas de viabilidade celular. A menor concentração testada (5 $\mu\text{g mL}^{-1}$) já se mostrou citotóxica para essa linhagem celular, com a taxa de inibição aumentando de maneira dose dependente. A concentração de eficiência mediana (EC_{50}), ou seja, a concentração de malation que gerou 50% de inibição nos resultados de cada ensaio foi determinada como 12,88 $\mu\text{g mL}^{-1}$ para ensaio MTT, 14,07 $\mu\text{g mL}^{-1}$ para ensaio de absorção do vermelho neutro, 13,47 $\mu\text{g mL}^{-1}$ para o ensaio de redução do azul Alamar e 12,47 $\mu\text{g mL}^{-1}$ para o ensaio de coloração azul Coomassie (ABDUL MAJEED et al., 2013).

Quatro espécies de peixes da região da Amazônia foram testadas de forma a avaliar e comparar suas sensibilidades à exposição ao malation. As espécies *Hyphessobrycon erythrostigma*, *Paracheirodon axelrodi*, *Nannostomus unifasciatus* e *Otocinclus affinis* foram submetidos à diferentes concentrações de malation em sua formulação comercial Malathion 500® durante 96 horas, em grupos de 10 indivíduos, sendo cada concentração realizada em triplicata. Os valores de LC_{50} encontrados após os ensaios foram de 252 $\mu\text{g L}^{-1}$ para *Hyphessobrycon erythrostigma*, 247 $\mu\text{g L}^{-1}$ para *Paracheirodon axelrodi*, 111 $\mu\text{g L}^{-1}$ para *Nannostomus unifasciatus* e 1067 $\mu\text{g L}^{-1}$ para *Otocinclus affinis*, demonstrando que *N. unifasciatus* é a espécie mais sensível seguida de *P. axelrodi*, *H. erythrostigma* e por último, *O. affinis* (RICO et al., 2011).

Grupos de oito peixes tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*) foram expostos à diversas concentrações de malation (entre 0 a 8 ppm), presente na água do tanque no qual estavam acondicionados, durante 96 horas, como forma de teste de toxicidade aguda, permitindo a identificação da LC_{50} em 5 ppm (KANDIEL et al., 2014).

Os efeitos tóxicos da exposição aguda do malation ao Rei Salmão (*Oncorhynchus tshawytscha*) foram estudados através da exposição aguda de malation em cinco doses subletais (200, 290, 340, 410 e 520 $\mu\text{g L}^{-1}$), sobre diferentes temperaturas (11 e 19 °C), com grupos controles expostos somente ao solvente utilizado, metanol. Curvas de concentração letal foram geradas a partir de 96 horas de exposição. Em 11 °C a LC_{50} obtida foi de 346,2 $\mu\text{g L}^{-1}$ e em 19 °C, 274,1 $\mu\text{g L}^{-1}$. Tais resultados indicam que estressores naturais, como a diminuição da temperatura por exemplo, podem aumentar significativamente a sensibilidade dessa espécie de peixe à exposição ao malation (DIETRICH et al., 2014).

Estudos também foram realizados sobre o peixe tambaqui (*Colossoma macropomum*). Testes de toxicidade aguda foram realizados com 8 peixes por tanque, expostos às concentrações médias de $8,16 \pm 0,76$, $12,42 \pm 2,65$, $14,55 \pm 2,18$, $18,12 \pm 2,46$, $18,83 \pm 1,46$ e $23,16 \pm 0,82$ mg L⁻¹, por 96 horas, onde foi identificada a LC₅₀ com valor de $15,77 \pm 3,30$ mg L⁻¹ (DE SOUZA et al., 2020).

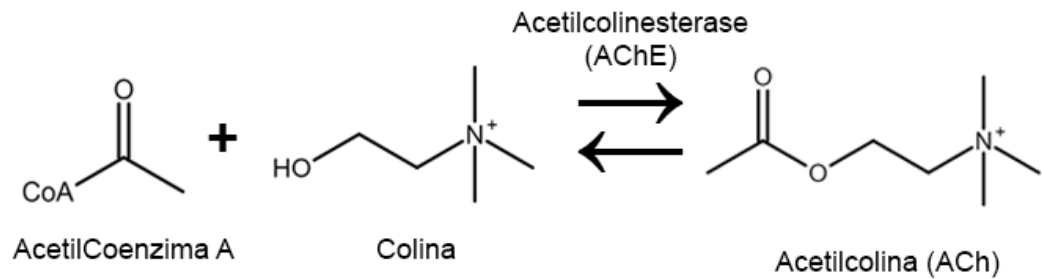
Os efeitos citotóxicos *in vitro* do malation e diversos outros compostos sobre a linhagem celular de hepatoma de peixe (PLHC-1), proveniente da espécie *Poeciliopsis lucida* foram investigados. Os testes foram conduzidos expondo o cultivo celular previamente estabelecido à diversas concentrações de malation durante 1-3 dias, seguido de análise de células viáveis através da coloração dos lisossomos. Com os resultados observados, Babich et al. (1991) obtiveram a toxicidade de ponto médio (NR₅₀), ou seja, a concentração que tornou 50% das células da cultura inviáveis, após 24 horas, sendo esse valor de $53,5$ µg mL⁻¹ para o malation (BABICH et al., 1991).

4.2 EFEITOS SOBRE A ACETILCOLINESTERASE (AChE)

A acetilcolina (ACh) é um neurotransmissor de grande importância no sistema nervoso periférico e central, e juntamente com seus receptores e enzimas de síntese e degradação, compõe o sistema colinérgico de neurotransmissão. Esse sistema se relaciona com funções do controle motor, aprendizado, memória e sinal de alerta, e o desequilíbrio dos neurotransmissores colinérgicos afeta seu funcionamento (VENTURA et al., 2009; MOTA et al., 2012).

Quando a ACh interage com os receptores, o impulso nervoso é gerado no neurônio. Após a geração do impulso, é importante a interrupção dessa interação, para que a transmissão nervosa cesse completamente. A acetilcolinesterase (AChE) é a enzima responsável pela interrupção dessa transmissão nervosa. Faz parte da família de enzimas chamadas colinesterases e atua hidrolisando a ACh, transformando-a em colina (Ch), que é então absorvida pelos neurônios para formar mais ACh que será liberada na próxima sinapse. Com alta eficiência catalítica, a AChE é capaz de hidrolisar até 6×10^5 moléculas de acetilcolina por minuto (PETRONILHO et al., 2011). A figura 3 demonstra o processo de hidrólise de acetilcolina pela AChE.

Figura 4. Hidrólise da Acetilcolinesterase.



Os organofosforados têm muita afinidade pela AChE e atuam inibindo sua atividade, interagindo com o sítio ativo da enzima e a fosforilando, impedindo-a de hidrolisar ACh, gerando acúmulo do neurotransmissor. Com a hiper estimulação colinérgica, observa-se sintomas como perda de controle muscular, convulsões, paralisia e morte por parada cardiorrespiratória. A enzima pode sofrer regeneração hidrolítica de forma espontânea, porém muito lentamente, sendo essa velocidade insignificante. As AChEs fosforiladas podem ser regeneradas por substâncias nucleófilas (PETRONILHO et al., 2011). Sendo assim, a atividade enzimática da AChE é utilizada como parâmetro de intoxicação por organofosforados. Diversos estudos já apontaram os efeitos negativos do malation sobre a AChE, conforme relatado abaixo.

Os efeitos do malation e seu metabólito malaoxon sobre a atividade da AChE em diversas espécies de peixes foi estudada através de ensaios *in vivo* e *in vitro*. Por exemplo, peixes das espécies *Lepomis gibbosus* e *Ictalurus melas* foram utilizados para ensaios *in vivo*. Realizou-se injeção intraperitoneal de solução do malation ou malaoxon diluído em óleo de milho, em diversas concentrações. A alimentação oral com malation e malaoxon também foi testada com a espécie *Lepomis gibbosus*. Após duas horas de observação, os animais foram sacrificados e seus cérebros coletados e homogeneizados para os ensaios. Os ensaios com ambos os químicos resultaram em inibição da atividade da AChE quando comparado com o grupo controle, chegando à 90% na espécie *Ictalurus mela* nas concentrações mais elevadas, de 400 mg kg⁻¹ de malation e 10 mg kg⁻¹ de malaoxon. A exposição oral do malation apresentou maior inibição quando comparada com a exposição intraperitoneal (MURPHY et al., 1968).

A atividade da AChE após a exposição do malation foi testada também sobre a espécie *Lagodon rhomboides* em concentração de 30 µg L⁻¹ durante 72 horas e 20 µg L⁻¹ durante 24 horas. Os animais expostos à concentração de 20 µg L⁻¹ foram avaliados

durante 192 horas após a interrupção da exposição. Os testes foram realizados em oito réplicas, com 10 peixes por grupo. Os níveis de atividade da AChE no cérebro foram medidos em três peixes sobreviventes de cada réplica, em diversas horas de exposição, comparando com controles não expostos. A inibição da AChE ocorreu de maneira dependente ao tempo de exposição e à concentração, chegando a 79% após 72 horas na concentração de 30 $\mu\text{g L}^{-1}$. Ainda, ao realizar ensaios de bioacumulação, observou-se também a correlação dependente entre os resíduos presentes no organismo e a porcentagem de inibição dessa enzima. Pós exposição, o índice de inibição caiu rapidamente, com atividade enzimática totalmente recuperada após 192 horas (COOK et al., 1976). Tratamentos com 10, 50 e 100 $\mu\text{g L}^{-1}$ por 10 dias sobre *Labeo rohita* também ocasionaram inibição da atividade da AChE em amostras de cérebro (KARMAKAR et al., 2016).

Em peixes-zebra (*Danio rerio*) a análise da atividade da AChE pós exposição ao malation foi realizada através de dois tratamentos: exposição às concentrações de 0,5, 0,7, 0,9 e 1,1 ppm de malation por sete dias, sendo cada concentração realizada em seis replicatas; e exposição à concentração de 0,5 ppm de malation por quatro meses, também em seis replicatas. Após a realização dos dois tratamentos, peixes foram submetidos à eutanásia e amostras de cérebro coletadas. Os peixes restantes foram acondicionados em água sem nenhum tratamento para recuperação, por sete dias no tratamento 1, e dois meses no tratamento 2. A atividade cerebral da AChE foi reduzida em todos os tratamentos, de maneira dose dependente, sendo reduzida a 33% na menor concentração e a 10% na maior concentração. Quando expostos durante quatro meses, a taxa de atividade foi reduzida a 18%. A atividade foi recuperada, apesar de a recuperação não ter sido tão eficiente quanto nos expostos a concentrações menores (ANSARI; KUMAR, 1984).

Um estudo com *Channa punctatus* foi conduzido expondo grupos de 10 peixes às concentrações de 0,56, 0,28 e 0,19 ppm de malation durante 120 dias, sendo os animais sacrificados após esse período de exposição, e seus cérebros coletados para ensaio de atividade enzimática da AChE. Houve diminuição significativa da atividade enzimática, de maneira dose dependente, chegando a apenas 24,29 \pm 2,4 $\mu\text{M min}^{-1} \text{g}^{-1}$ em concentração de 0,56 ppm (INBARAJ; HAIDER, 1988).

A suscetibilidade de cinco diferentes espécies de peixes ao malation foi comparada, através dos valores de LC₅₀ com a inibição da atividade da AChE no cérebro. As espécies estudadas foram *Pseudorasbora parva*, *Carassius auratus*, *Tilapia nilotica*,

Gambusia affinis e *Salmo gairdneri*. Os valores de inibição da atividade da AChE variaram entre as espécies, ocorrendo maior inibição em *S. gairdneri*, seguida de *G. affinis*, *T. nilotica*, *C. auratus* e *P. parva*, correspondendo aos resultados de suscetibilidade dessas espécies encontrados através da LC₅₀, citados anteriormente na seção 4.1. Ou seja, quanto menor o valor de LC₅₀ para a espécie, maior foi a inibição de atividade enzimática (SHAO-NAN; DE-FANG, 1996).

Os efeitos do malation sobre a atividade da AChE também foram analisados na espécie *Seriola dumerilli*. Grupos de seis animais foram expostos à injeção intraperitoneal do malation, em concentrações de 4 e 6 mg kg⁻¹. Após dois, sete e 13 dias da injeção, os peixes foram sacrificados e seus cérebros removidos para análise da atividade enzimática, que foi significativamente inibida depois de dois e sete dias de exposição, de maneira dose-dependente. Porém, após 13 dias de exposição não foram observadas mudanças significativas nessa taxa (JEBALL et al., 2006). Curiosamente, os níveis de AChE nos animais controle também variaram consideravelmente entre os dias de análise, diminuindo após sete dias, quando comparados com os valores após dois dias, e aumentando novamente após 13 dias. Os autores não trazem uma explicação fundamentada do motivo dessas alterações, citando apenas uma possível alteração no ritmo biológico natural.

Grupos de seis peixes de *Oreochromis mossambicus* foram expostos à 2 ppm (dose subletal) de malation por 48 horas. Amostras de tecido do fígado foram coletadas para análise de níveis da AChE. Os resultados indicaram diminuição de 35% da atividade da mesma (SAHIB et al., 1984a). De maneira semelhante, peixes da espécie *Cirrhinus mrigala* foram expostos durante cinco, 15 e 25 dias à concentração de 3 µL L⁻¹, com coleta do fígado desses animais para determinação dos níveis de AChE e acetilcolina (ACh). Observou-se aumento dos níveis de ACh livre e diminuição da atividade da AChE após cinco e 15 dias, porém os níveis voltaram ao normal após 25 dias, indicando adaptação e recuperação dos efeitos causados (DAVID et al., 2007).

Peixes das espécies *Periophthalmus argentilineatus*, *Terapon jarbua*, *Peanaeus indicus*, *Meretrix meretrix* e *Oreochromis mossambicus* foram coletados, juntamente com amostras de água, em diversas localidades da baía e rios de Maputo, no Moçambique, para análises da atividade de AChE e BChE (Butirilcolinesterase) no cérebro, fígado e hepatopâncreas. O malation foi encontrado em amostras de uma das localidades em concentração de 100 ng L⁻¹, ultrapassando os limites estabelecidos de qualidade da água. Outros pesticidas também foram identificados nessa localidade, porém em

concentração menor. As atividades da AChE e BChE observadas nos tecidos dos peixes coletados encontravam-se significativamente diminuídas. De forma complementar, peixes das espécies *Penaeus indicus*, *Periophthalmus argentilineatus* e *Oreochromis mossambicus* foram expostos durante 48 horas às concentrações de 0,3 e 3 mg L⁻¹ de malation, seguido de análises da atividade da AChE e BChE. Os resultados demonstraram diminuição das atividades dessas enzimas de maneira dose-dependente (STURVE et al., 2016).

Análises *in vitro* foram realizadas através da incubação de homogeneizados de cérebros das espécies *Micropterus dolomieu*, *Pseudopleuronectes americanus* e *Myoxocephalus scorpius*, com 50 e 150 µM de malation, enquanto homogeneizados de cérebros da espécie *Lepomis gibbosus* foram incubados com malaoxon, em duas temperaturas diferentes. A maior inibição observada foi de 32,4% para espécie de *Myoxocephalus scorpius*, em concentração de 150 µM de malation. Em concentração de 0,150 µM de malaoxon, 50% da atividade enzimática foi inibida em *Lepomis gibbosus*, em ensaio realizado a 38 °C, enquanto para o ensaio realizado a 22,5 °C, essa concentração foi de 120 µM (MURPHY et al., 1968).

A sensibilidade da inibição *in vitro* da AChE do cérebro de duas espécies de peixes (*Pimephales promelas* e *Oncorhynchus mykiss*) resultante da exposição ao malaxon foi estudada, estimando-se a concentração inibitória mediana (IC₅₀) da atividade enzimática, ou seja, a concentração de malaxon capaz de inibir em 50% a atividade enzimática, em 109,62±7,28 nM para *Oncorhynchus mykiss* e 289,41±6,12 nM para *Pimephales promelas*. Os experimentos foram executados com homogeneizados de 30 a 40 cérebros de *Pimephales promelas* e 3 cérebros de *Oncorhynchus mykiss* como a fonte da AChE. Em primeiro momento, foram quantificadas a concentração e atividade enzimática total no cérebro desses animais. Em seguida, montou-se experimentos para avaliar a inibição enzimática da AChE onde cada experimento continha cerca de 2,6 nmol min⁻¹ mL⁻¹ de enzima ativa em seu total. Os experimentos foram realizados através da incubação por 30 minutos com 50 µL de solução de malaoxon, em uma ampla gama de concentrações capazes de inibir entre 20 a 80% da atividade enzimática. Os níveis totais de enzima observados no cérebro de cada espécie foram semelhantes, entretanto, a atividade enzimática observada foi muito maior em *Pimephales promelas*, cerca de 140 nmol min⁻¹ g⁻¹ a mais (JOHNSON; WALLACE, 1987). Entende-se o motivo do uso de malaoxon para os ensaios desse estudo, uma vez que é esse metabólito do malation que causa a inibição enzimática da AChE, entretanto a metodologia foi descrita vagamente, de

maneira confusa, dificultando o entendimento dos parâmetros escolhidos e comparações realizadas, falhando em esclarecer os resultados obtidos.

A espécie *Oncorhynchus tshawytscha* foi utilizada para estudo acerca dos efeitos de diversos inseticidas sobre a atividade da AChE, e suas possíveis interações. Homogeneizados dos tecidos das rosetas olfativas, bulbo olfatório e telencéfalo foram tratados com 12 diferentes concentrações de malation, variando entre 0-104 $\mu\text{g L}^{-1}$ durante a fase de incubação do protocolo de Ellman, para determinação da atividade enzimática. Ainda, testou-se misturas binárias (malaoxon e carbaril, carbofurano, clorpirifós-oxon e diazinon-O-análogo) em duas concentrações. A partir dos resultados, determinou-se IC_{50} da atividade enzimática como 4,1 $\mu\text{g L}^{-1}$, e observou-se que tais inseticidas são não-interativos e aditivos quanto à inibição da AChE. O estudo fez uso de tecidos olfatórios uma vez que inibidores de colinesterases parece afetar o sistema olfatório (SCHOLZ et al., 2006).

4.3 INTOXICAÇÃO, DANO OXIDATIVO E ESTRESSE OXIDATIVO

A exposição de um grupo de 10 peixes (*Pimephales promelas*) à concentração de 0,20 mg L^{-1} , resultou em apenas um animal apresentando morte com sintomas de intoxicação: barbatanas flexionadas, costas retorcidas e hemorragia (MOUNT; STEPHAN, 1967). Sinais de intoxicação, além de tetania muscular, também foram observados em *Notropis cornutus*, após teste de toxicidade aguda com a exposição a 10 $\mu\text{g L}^{-1}$ de malation por 96 horas (DOMANIK; ZAR, 1978).

A espécie *Sparus aurata* foi exposta a concentrações subletais de malation para análises bioquímicas de marcadores de estresse oxidativo. Grupos de 10 animais receberam injeção intraperitoneal de malation diluído em óleo de milho, em concentrações de 1,5 e 7,5 mg kg^{-1} corporal. Injetou-se apenas óleo de milho no grupo controle. Nos dias 2 e 7 pós injeção, os animais foram capturados e seus fígados extraídos para análise de ácido tiobarbitúrico e malondialdeído (MDA) para determinação do índice de peroxidação lipídica, e análises de superóxido dismutase (SOD) e glutathione-S-transferase microssomal (mGST) para determinação do índice de formação de espécies reativas de oxigênio. A exposição ao malation acarretou em formação de novas isoformas de SOD e aumento da peroxidação lipídica microssomal. Os valores aumentados de ácido tiobarbitúrico na dose de 1,5 mg kg^{-1} após 2 dias diminuíram após 7 dias, em razão de suposta biotransformação ou pelo reparo de danos oxidativos (PEDRAJAS et al., 1995).

A espécie de peixe *Carassius auratus gibelio* foi exposta durante seis dias à concentração de $0,05 \text{ mg L}^{-1}$ de malation, sendo 10 indivíduos coletados e sacrificados nos dias um, dois, três e seis, sendo coletadas suas guelras, rins e intestinos para análise de peroxidação lipídica, através da quantificação de MDA, e quantificação de enzimas antioxidantes (catalase (CAT), glutathiona peroxidase (GPX), glutathiona redutase (GR) e glutathiona S-transferase (GST)). Além disso, realizou-se análises de glutathiona reduzida (GSH), radical do sistema de defesa antioxidante. Observou-se aumento da peroxidação lipídica, principalmente após o primeiro dia de exposição e nas guelras, com recuperação dos níveis nos dias seguintes, sugerindo o mecanismo de defesa antioxidante. Os níveis de GSH diminuíram em todos os tecidos e em todos os períodos de exposição. As enzimas antioxidantes (CAT, GPX, GR e GST) variaram de forma diferente nos tecidos e ao tempo de exposição, demonstrando haver estresse oxidativo, com a resposta variando de maneira tecido específica (HUCULECI et al., 2008).

A exposição de *Labeo rohita* à dose letal de malation ($4,5 \text{ } \mu\text{g L}^{-1}$) durante um a quatro dias, e à dose subletal ($0,45 \text{ } \mu\text{g L}^{-1}$) por um, cinco, 10 e 15 dias ocasionou dano oxidativo e diminuição na defesa antioxidante. O composto foi adicionado à água dos tanques em que os peixes estavam acondicionados, e após os dias determinados de exposição, amostras de tecido foram coletadas para análise de parâmetros oxidativos, como a atividade de catalase e de protease e níveis de peróxido de hidrogênio, MDA, grupos proteicos carbonis e de aminoácidos livres, sendo observada diminuição desses parâmetros nos tecidos do fígado, rins e guelras, de maneira dose e tempo dependente (PATIL; DAVID, 2013). Estresse oxidativo também foi demonstrado nessa espécie após exposição de 5 mg L^{-1} de malation durante 15 dias, através do aumento da atividade da CAT e GST nas guelras, fígado e músculo, havendo reestabelecimento dos níveis após 15 dias de recuperação (THENMOZHI et al., 2011). O trabalho de Karkamar et al. (2016) também demonstrou estresse oxidativo no fígado, rins e guelras destes animais. Em amostras de tecido obtidas dos tratamentos provenientes dos estudos de Ullah et al. (2018) observou-se aumento de espécies reativas de oxigênio.

Estudos com carpa comum (*Cyprinus carpio*) com doses subletais de malation ($0,5$ e 1 mg L^{-1}) foram conduzidos durante 14 dias. As carpas foram alimentadas com formulação de malation diluído em óleo de milho, contendo um grupo controle sendo alimentado com dieta normal e outro grupo controle sendo alimentado com o óleo de milho sozinho. Após os 14 dias, coletou-se amostras de sangue e de tecido do fígado, rins e guelras, para análise de parâmetros oxidativo/antioxidantes, tais como produção de radicais

oxidativos, níveis de MDA e atividade de SOD, CAT e GPX. Verificou-se a presença de espécies reativas de oxigênio e desregulação dos níveis dos demais componentes, estando esses animais com a capacidade antioxidante comprometida, apresentando sinais de dano oxidativo (YONAR, 2013). Estudos posteriores, com exposição ao malation nas concentrações de 0,5 e 1 mg L⁻¹, diluído na água do aquário, geraram resultados semelhantes (YONAR et al., 2014; URAL et al., 2015).

Peixes da espécie *Channa punctatus* foram expostos à concentração de 0,4 mg L⁻¹ do malation durante 12 dias, com análises de enzimas antioxidantes (SOD, CAT e LPO) no fígado e rins sendo realizadas após 24 horas, 4, 8 e 12 dias de experimento, sendo possível observar aumento significativo nos níveis desses parâmetros (BHARTI; RASOOL, 2021).

Testes com a concentração subletal de 7,30 mg L⁻¹ de malation sobre a espécie *Colossoma macropomum* durante 96 horas ocasionou aumento da atividade de enzimas antioxidantes, reduzindo a produção mitocondrial de espécies reativas de oxigênio no fígado desses animais (DE SOUZA et al., 2020).

Análises dos efeitos do malation sobre a linhagem celular EPC (*epithelioma papillosum cyprini*), proveniente de um tumor de pele de *Cyprinus carpio*, buscaram determinar o estresse oxidativo em estágio inicial de exposição. As células foram semeadas em placas de cultura de 96 poços em densidade de 2x10⁴ células por poço e crescidas até sua confluência. O reagente H₂-DCFDA foi adicionado ao meio como marcador fluorescente da produção de espécies reativas de oxigênio. O meio de cultura foi removido e então o malation foi adicionado em concentração de 1 µM. A fluorescência foi medida em intervalos de 20 minutos durante duas horas. Não foi observada diferença significativa na fluorescência emitida pelo grupo de tratamento, quando comparado com o grupo controle, exposto somente à DMSO. Os resultados indicaram que o malation não provoca estresse oxidativo nessa linhagem celular, nos estágios iniciais de exposição (RUIZ-LEAL; GEORGE, 2004).

4.4 ALTERAÇÕES BIOQUÍMICAS E FISIOLÓGICAS

A linhagem celular ZC-7901 derivada da epiderme do lábio da carpa-capim (*Ctenopharyngodon idella*) foi utilizada para ensaios *in vitro* para a avaliação da citotoxicidade do malation. Os ensaios foram realizados através da semeadura das células em placas de 96 poços em densidade de 5x10⁵, e após 24 horas, incubadas com meio de

cultura contendo diversas concentrações de malation (0,62, 1,24, 2,47, 5,94, 11,9, 23,8, 47,5 e 95 mg L⁻¹) durante 12 a 72 horas. Após esse período, verificou-se a viabilidade das células de forma a determinar a taxa de inibição e a IC₅₀, a taxa de apoptose, potencial transmembrana da mitocôndria, níveis intracelulares de Ca²⁺, níveis de espécies reativas de oxigênio (ROS) intracelular e depleção de ATP. A quantidade de células viáveis diminuiu significativamente e o valor de IC₅₀ encontrado foi de 37,94±1,93 mg L⁻¹ após 12 horas e 3,04±0,27 mg L⁻¹ após 72 horas. Apoptose celular foi observada de maneira dose e tempo-dependente. Entretanto, a indução da apoptose ocorreu acompanhada de perturbação do potencial de membrana mitocondrial, elevação do Ca²⁺ intracelular, geração de ROS e depleção de ATP, sugerindo que os efeitos citotóxicos observados causados pelo malation se dão através da apoptose em consequência de perturbações mitocondriais (CHEN et al., 2006).

Estudo com *Oreochromis mossambicus* foi realizado através da exposição de grupos de seis peixes à 2 ppm (dose subletal) de malation por 48 horas, com grupo controle exposto somente à acetona. Os animais foram sacrificados e foram coletadas amostras de fígado para análise de níveis de proteases e aminoácidos livres. Os resultados indicaram aumento de 28% da atividade da protease, gerando um aumento geral dos níveis de aminoácidos livres. Entretanto, alguns aminoácidos tiveram seus níveis diminuídos. Juntos, os resultados sugerem uma alta transformação de proteínas, com os aminoácidos sendo reciclados, demonstrando alta regulação proteica sob estresse (SAHIB et al., 1984a). Adicionalmente as amostras de fígado juntamente com amostras de músculo e guelras foram utilizadas para análises *in vitro* quanto à incorporação dos aminoácidos ácido glutâmico, leucina e arginina de maneira a avaliar o conteúdo proteico e a síntese após exposição. Os níveis de síntese proteica encontraram-se elevados quando comparados ao grupo controle. Esse resultado sugere mudanças no ambiente celular, que podem indicar uma tentativa de compensação da perda de proteínas por conta da exposição, ou resposta ao estresse oxidativo, induzindo a produção de enzimas detoxificantes (SAHIB et al., 1984b).

Ainda com peixes da espécie *Oreochromis mossambicus*, realizou-se testes para verificar os efeitos do malation sobre a respiração desses animais. Utilizando uma dose de 0,122 ppm, os peixes foram expostos durante 48 horas, sendo o consumo de oxigênio determinado a cada 12 horas e análise de enzimas respiratórias foram realizadas após as 48 horas. Até as primeiras 24 horas, houve um aumento no consumo de oxigênio, e nas últimas 24 horas, o consumo diminuiu. Essa resposta se deve principalmente pelo

aumento do metabolismo oxidativo no início da exposição, e após, diminuiu como sintoma de intoxicação. Os níveis de enzimas respiratórias diminuíram no fígado e no cérebro, sugerindo uma condição de hipóxia, reduzindo a taxa de metabolismo oxidativo (BASHA et al., 1984).

Em peixes da espécie *Labeo rohita* o tratamento com malation ocasionou alterações nos parâmetros bioquímicos do fígado, afetando negativamente seu funcionamento (KARMAKAR et al., 2016). Para avaliar o efeito hepatóxico do malation sobre essa espécie, Ullah et al. (2018) realizaram ensaios bioquímicos para peroxidação lipídica e atividade de proteínas metabólicas seguinte à exposição ao inseticida, em amostras de tecido hepático coletadas com 24, 48, 72 e 96 horas de exposição. Os resultados apresentaram significativa diminuição do conteúdo proteico, peroxidação lipídica e de atividade enzimática (ULLAH et al., 2018).

A análise de metabólitos de carboidratos e concentrações de cloreto pós exposição ao malation foi realizada com a espécie *Heteropneustes fossilis*. Testou-se a concentração de 7,6 ppm de malation durante 2, 6, 12, 48 e 96 horas. Amostras de sangue foram coletadas para análises de parâmetros hematológicos após as 96 horas. Houve glicogênese no músculo com hiperglicemia concomitante em todos os intervalos analisados. Hipocloremia foi observada em 2 e 6 horas, e hiperclorêmia foi observada em 48 e 96 horas. Ainda, os peixes desenvolveram eritropenia e leucopenia, os conteúdos de hematócritos e a hemoglobina diminuíram, além de ter sido observada hipercoagulação do sangue (MISHRA; SRIVASTAVA, 1983).

Alterações metabólicas foram observadas na espécie *Channa punctatus* após a exposição crônica ao malation. Grupos de 45-50 indivíduos foram expostos a concentração de 1 ppm de malation, por um, sete, 14, 21, 28 e 35 dias. A cada tempo, cerca de quatro peixes foram sacrificados, e o fígado e rins foram coletados, pra avaliação quanto aos níveis de glicogênio, colesterol e proteínas. Os níveis de glicogênio diminuíram, e os níveis de colesterol aumentaram em ambos os órgãos. Após 14 dias, os níveis de proteína diminuíram, porém ao dia 35, voltaram a aumentar (AWASTHI et al., 1984).

Com o intuito de verificar possíveis efeitos do malation sobre a síntese de novo de lipídios e proteínas pelo fígado, outro trabalho realizado com essa espécie de peixe investigou a incorporação *in vitro* de C14-glicose e C14-acetato em lipídios e C14-leucina em proteínas, após tratamento com malation. Grupos de 10 animais foram expostos às concentrações de 0,14 e 0,29 mg L⁻¹ durante 30 dias, sendo três animais de cada grupo sacrificados e seus fígados coletados após o período de exposição. Comparando com

animais controle, os resultados demonstraram que a incorporação de C14-glicose em lipídios diminuiu significativamente em concentração de 0,29 mg L⁻¹, enquanto a incorporação de 14-acetato em lipídios e a de C14-leucina em proteínas diminuiu significativamente em ambas as concentrações. Esses parâmetros indicam a inibição da síntese de novo de lipídios e proteínas por esse inseticida em fígado de peixes (SAXENA et al., 1989).

Ainda com *Channa punctatus*, a exposição à concentração de 0,4 mg L⁻¹ foi realizada durante 12 dias, com análises bioquímicas do sangue sendo realizadas após 4, 8 e 12 dias, avaliando os níveis de glicose, proteína, colesterol, ureia, nitrogênio da ureia (BUN), creatinina, Ca²⁺ bilirrubina, as atividades de enzimas biomarcadoras do funcionamento do fígado (Alanina Aminotransferase (ALT), Aspartato Aminotransferase (AST) e fosfatase alcalina (ALP)). Os níveis de glicose diminuíram, enquanto os níveis de proteínas aumentaram após 12 dias de exposição. Observou-se também diferenças entre os níveis de bilirrubina, com diminuição de 60% no grupo de tratamento. A atividade das enzimas biomarcadoras do fígado diminuiu, de maneira tempo dependente. E ainda, observou-se níveis elevados de ureia, BUN, Ca²⁺ e creatinina. Os resultados observados indicam dano hepatorenal causado pela exposição ao malation (BHARTI; RASOOL, 2021).

A espécie de peixe *Colisa fasciatus* foi exposta às concentrações de 1, 2 e 3 mg L⁻¹ de malation por 24 e 96 horas, sendo coletadas após o final do tratamento amostras de tecido do fígado e músculo, para análise dos níveis de glicogênio, piruvato, lactato e proteína total. Verificou-se diminuição nos níveis de glicogênio, piruvato e de proteína total, e aumento dos níveis de lactato. Os resultados observados podem ser associados com a condição de apóxia, que induz a glicólise anaeróbica. Ainda, a diminuição dos níveis de proteína pode indicar proteólise para utilização em outras vias metabólicas (SINGH et al., 2004).

A exposição da espécie *Cirrhinus mrigala* à concentração de 3 µL L⁻¹ de malation durante cinco e 15 dias acarretou em aumento dos níveis de aminoácidos livres e atividade de proteases, além de diminuição dos níveis de proteínas totais, estruturais e solúveis no fígado desses animais. A exposição da mesma concentração após 25 dias não apresentou mudanças significativas nesses níveis analisados, indicando possível adaptação e recuperação (DAVID et al., 2007).

Peixes da espécie *Oryzias latipes* foram expostos às concentrações de 20 e 2000 µg L⁻¹ em grupos de 20 animais, além de um grupo controle, durante 96 horas para realização de metabolômica baseada em cromatografia gasosa acoplada à espectrometria

de massas (GC/MS). Na hora zero, cinco animais foram retirados para amostra, assim como após 24 e 96 horas. Diversos aminoácidos foram monitorados através dos ensaios, sendo possível observar diminuição nos níveis de aminoácidos livres após 24 horas, sugerindo aceleração na síntese proteica. Entretanto, no grupo exposto à concentração menor ($20 \mu\text{g L}^{-1}$) após 96 horas, observou-se aumento nos níveis de aminoácidos, demonstrando que a exposição do malation pode ter induzido proteólise. Ainda, metabólitos relacionados à gliconeogênese foram investigados, e novamente no grupo exposto à concentração de $20 \mu\text{g L}^{-1}$ após 96 horas, foram observadas diferenças significativas, indicando indução da glicogênese. Tanto a proteólise quanto a gliconeogênese não foram observadas no grupo exposto à maior concentração ($2000 \mu\text{g L}^{-1}$). Os resultados sugerem que a variação de metabólitos depende da concentração e tempo de exposição (UNO et al., 2012).

Peixes-zebra (*Danio rerio*) foram expostos em grupos de 20 animais, à concentrações de 0,5, 0,7, 0,9 e $1,1 \text{ mg L}^{-1}$ de malation durante sete dias, sendo cada concentração realizada em seis réplicas. Outros seis grupos de 20 peixes foram expostos à acetona, como forma de controle. Após o tempo de exposição, seis peixes de cada concentração foram sacrificados e seu fígado coletado. Os peixes restantes foram acondicionados em aquários com água não tratada durante sete dias para recuperação, sendo um peixe de cada aquário sacrificado e seu fígado coletado após esse período. Houve redução significativa nos níveis de DNA, RNA, conteúdos proteicos e nas atividades das fosfatases ácida e alcalina, enquanto os níveis de aminoácidos livres foram aumentados. Os autores supõem que o malation afete a síntese do DNA, o que prejudica a produção de RNA e proteínas. Os resultados observados foram todos de maneira dose dependente, e a recuperação desses níveis ocorreu também de forma dose dependente (KUMAR; ANSARI, 1986).

Alterações nos níveis de ácidos nucleicos, proteínas, aminoácidos livres e glicogênio foram avaliadas pós exposição ao malation na espécie *Labeo rohita*. Os peixes foram submetidos à concentração de 5 mg L^{-1} durante 15 dias, e seus tecidos do fígado, músculo e guelras coletados para análise. Os peixes restantes foram acondicionados em água limpa por mais 15 dias, para recuperação. Foi observada diminuição em todos os parâmetros analisados, e durante o período de recuperação, os níveis bioquímicos foram gradualmente voltando às taxas normais (THENMOZHI et al., 2011).

A possível ativação de aminas aromáticas carcinogênicas através da exposição de peixes ao malation foi investigada, utilizando injeção intraperitoneal da

solução de malation preparada através da diluição em óleo de milho, em peixes jovens da espécie *Sparus aurata*. A concentração testada foi de 1,5 mg kg⁻¹ corporal, e o grupo controle recebeu apenas injeção de óleo de milho. Cada grupo continha 12 peixes acondicionados em tanques separados. Seis animais foram sacrificados no dia dois e sete pós injeção, e seus fígados coletados para análise bioquímica da ativação de arilaminas e da atividade de etoxiresorufina-O-desetilase, enzima ativadora do citocromo p450 1A1 responsável pela ativação pró-mutagênica de aminas. Os resultados demonstraram aumento de arilaminas ativadas pelo fígado induzido pelo tratamento com o malation, porém o estudo indica que esse aumento não está relacionado com a ativação do citocromo p450 1A1, uma vez que a atividade de etoxiresorufina-O-desetilase não apresentou aumento (RODRÍGUEZ-ARIZA et al., 1995).

Dois grupos de 20 fêmeas de peixes bagre ambulante (*Clarias batrachus*) foram expostos às concentrações de 0,1 µL L⁻¹ e 1 µL L⁻¹ de malation, presente na água do aquário no qual estavam acondicionados. Um terceiro aquário foi utilizado como controle, apenas com água. Após um mês de exposição, amostras de sangue foram obtidas, além de pequenos pedaços do fígado e músculo, foram coletados. A exposição ao inseticida ocasionou diminuição dos níveis de tiroxina (T₄), triiodotironina (T₃), hormônio do crescimento (GH), fator de crescimento de insulina 1 (IGF-1), testosterona (T) e estradiol-17β (E₂) de maneira dose dependente. O conteúdo proteico também diminuiu nas amostras de músculo e fígado, e o malation induziu lipólise em tais tecidos. Os resultados demonstram que a exposição ao malation causa disfunção endócrina, o que afeta negativamente o consumo de comida, diminuindo o peso corporal e causando retardo no crescimento ovariano (LAL et al., 2013).

Os efeitos do inseticida sobre os níveis de hormônios da tireoide no sangue da espécie *Heteropneustes fossilis* foram investigados. Dois grupos de cinco peixes cada foram expostos à 10 e 20 ppm de malation, com um grupo de cinco peixes servindo de controle, durante 28 dias. Após o tempo determinado de estudo, sangue foi coletado na veia caudal. Os resultados apontaram que os níveis de tiroxina (T₄) diminuíram, enquanto os níveis de triiodotironina (T₃) e a taxa T₄/T₃ aumentaram significativamente. Possivelmente, o malation aumenta os níveis de T₃ através da estimulação da conversão extratireoidiana de T₄ para T₃, ou reduzindo a excreção de T₃ (YADAV; SINGH, 1986). Um estudo posterior dos mesmos autores expôs a mesma espécie de peixe à concentração de 10 ppm de malation por 96 horas e analisou a atividade da enzima tireoperoxidase (TPO) no tecido tireoidiano, além da conversão extratireoidiana de T₄ em T₃. Foram realizadas

também análises *in vitro* para a atividade de TPO. Observou-se aumento da atividade enzimática no ensaio *in vitro*, porém *in vivo* a atividade diminuiu. Como no estudo anterior, o malation estimulou a conversão extratireoidiana de T₄ para T₃, havendo diminuição dos níveis de T₄ e aumento de T₃ no tecido glandular e no plasma (YADAV; SINGH, 1987).

Desregulação hormonal também foi observada, através de teste crônico utilizando dose de 1 ppm, onde avaliou-se os efeitos do malation sobre os níveis hormonais de hormônio luteinizante (LH), hormônio folículo estimulante (FSH), testosterona e estradiol em tilápias do Nilo (*Oreochromis niloticus*) (KANDIEL et al., 2014).

4.5 ANORMALIDADES NUCLEARES E DANO AO DNA

Peixes da espécie *Sparus aurata* foram expostos à diversos xenobióticos, incluindo o malation, de forma a investigar os níveis de 8-Oxo-2'-desoxiguanosina (8-oxodG), biomarcador de dano oxidativo ao DNA, no DNA cromossomal do fígado desses animais. Os peixes receberam injeção intraperitoneal de malation diluído em óleo de milho, em concentração de 6,38 mg kg⁻¹, e após 7 dias de injeção foram sacrificados e os fígados coletados para análise. Apesar do inseticida deltrin aumentar significativamente os níveis de 8-oxodG, promovendo dano oxidativo ao DNA, o malation juntamente com Cu (II) e paraquat, não promoveram oxidação do DNA no fígado de *S. aurata* (RODRÍGUEZ-ARIZA et al., 1999).

A espécie *Channa punctatus* foi exposta às concentrações subletais de 1,48, 0,74 e 0,59 ppm de malation durante 29 dias para estudo de seu potencial genotóxico. Nos dias zero, três, sete, 15, 17, 22 e 29 de exposição oito peixes foram coletados para amostragem de sangue para realização de análise de micronúcleo e coleta de guelras, rins e linfócitos para o ensaio do cometa. Foi observada a indução significativa de micronúcleos pós exposição ao malation, de maneira dose e tempo-dependente. Ainda, observou-se dano significativo ao DNA pós exposição ao malation em todos os tecidos analisados, concentrações testadas e tempos de exposição, sendo esse dano também observado de maneira dose-dependente (KUMAR et al., 2010).

Em *Oreochromis niloticus*, a exposição aguda ao malation em concentração de 5ppm, e a exposição crônica em concentração de 1 ppm acarretou em aumento da taxa de aberrações cromossômicas, de micronúcleos e fragmentação do DNA (KANDIEL et al., 2014).

A exposição de peixes da espécie *Labeo rohita* às concentrações de 10, 50

e $100 \mu\text{g L}^{-1}$ por 10 dias também causou anormalidades nucleares, avaliadas a partir de coloração H&E (KARMAKAR et al., 2016). Igualmente, o estudo de ULLAH et al. (2018) demonstrou, através do ensaio do cometa, dano ao DNA em concentrações e tempo de exposição muito menores (2 a $8 \mu\text{g L}^{-1}$ por até 96 horas) (ULLAH et al., 2018). De forma semelhante, exposição da espécie *Colossoma macropomum* à concentração subletal de $7,30 \text{ mg L}^{-1}$ por 96 horas ocasionou dano ao DNA em células sanguíneas, também observado através do ensaio do cometa (DE SOUZA et al., 2020).

4.6 ALTERAÇÕES HISTOLÓGICAS

Dano tecidual nos rins, fígado e guelras foi observado em peixes da espécie *Labeo rohita* após tratamento com diferentes concentrações de malation (KARMAKAR et al., 2016). De maneira semelhante, exposição de até 96 horas em concentrações entre 2 a $8 \mu\text{g L}^{-1}$, causou diversas alterações histopatológicas do fígado, como necrose, infiltração de gordura, vacúolos de hemorragia, vacúolos de glicogênio, congestão e edema celular. Essas alterações demonstram o potencial hepatóxico do malation (ULLAH et al., 2018).

Análises histológicas das guelras de peixes da espécie *Heteropneustes fossilis* foram realizadas após exposição ao malation. Dez animais foram expostos à concentração subletal de 4 mg L^{-1} durante 24, 48, 72 e 96 horas, sendo dois peixes coletados para amostragem das guelras a cada intervalo de tempo. Um grupo de 10 animais sem nenhuma exposição ao malation serviu de grupo controle. A cada amostra coletada, cinco secções foram analisadas em microscópio eletrônico de transmissão. Em todas as horas analisadas foram observadas mudanças na ultraestrutura do tecido respiratório, incluindo desordem da camada epitelial, ionócitos (células de peixe ricas em mitocôndrias) expostos ao exterior e em contato direto com o espaço linfático, pinocitose, constrição vascular, espessamento da membrana basal epitelial e rompimento do epitélio lamelar. Após 96 horas observou-se sinais de possível regeneração estrutural das guelras (DUTTA et al., 1996).

Grupos de 10 peixes da espécie *Gambusia affinis* foram expostos durante 30 dias às concentrações de $0,01$ e $0,02 \text{ mg L}^{-1}$ de malation, além de um grupo controle. Alguns espécimes foram coletados de cada grupo após 10 e 20 dias para análises histológicas das guelras, assim como ao final da exposição, aos 30 dias. Alterações histopatológicas foram observadas em ambas as concentrações em todos os períodos de tempo avaliados, incluindo necrose, descamação do epitélio lamelar secundário,

levantamento do epitélio, edema intraepitelial, hemorragia na lamela primária, desorganização e ruptura da lamela secundária, hipertrofia e hiperplasia das células epiteliais, sendo essas alterações dose e tempo-dependente (CENGIZ; UNLU, 2003).

Na espécie *Colossoma macropomum*, teste agudo por 96 horas com concentração subletal de malation também resultou em dano histopatológico severo nas guelras, como hiperplasia, fusão lamelar e necrose (DE SOUZA et al., 2020).

A exposição da espécie *Channa punctatus* à concentração de 0,4 mg L⁻¹ de malation, durante 4, 8 e 12 dias resultou em dano histopatológico no fígado e rim desses animais, sendo possível observar deterioração tecidual, aumentando progressivamente conforme o tempo de exposição também aumentava (BHARTI; RASOOL, 2021). Degeneração no rim foi demonstrada através de análises histológicas em um peixe da espécie *Pimephales promelas*, exposto à concentração de 0,58 mg L⁻¹ de malation por 10 meses (MOUNT; STEPHAN, 1967).

A exposição de peixes da espécie *Danio rerio* à concentração de 0,5 mg L⁻¹ durante quatro meses acarretou em diminuição do peso de suas gônadas, diminuindo o índice gonadossomático (massa da gônada proporcional ao peso corporal) (KUMAR; ANSARI, 1983).

4.7 EFEITOS SOBRE A REPRODUÇÃO E DESENVOLVIMENTO

A incorporação de fósforo 32 (32P) pelo ovário de fêmeas da espécie *Heteropneustes fossilis*, como forma de avaliação da atividade ovariana, foi analisada após a exposição à formulação comercial do malation (Cythion). Grupos de cinco peixes fêmeas foram expostos à concentração de 45 ppm de Cythion (LC₅₀) durante 96 horas, e injetados com 32P, seguido de mais 24 horas de exposição. Os peixes foram sacrificados e seus ovários coletados. A atividade ovariana diminuiu significativamente, com a diminuição da incorporação do 32P. Adicionalmente, se testou a incorporação de 32P pelos ovários de peixes expostos ao Cythion em associação à injeção de LH ou extratos da glândula pituitária, seguindo mesmo desenho experimental que o anterior, porém testando também a concentração de 9 ppm de Cythion (dose segura). A atividade ovariana aumentou com a injeção tanto de LH quanto do extrato pituitário em ambas as concentrações. O estudo também analisou os efeitos da exposição do malation na produção de gonadotrofina sobre esta espécie de peixe. A exposição foi realizada por 96 horas, também em concentração de 45 ppm, sendo os peixes sacrificados após esse período, e suas glândulas pituitárias

coletadas, assim como amostras de soro para análise de níveis de gonadotrofina. Os resultados apresentaram diminuição desses níveis tanto na glândula pituitária quanto no soro dos animais tratados. Os resultados deste estudo demonstraram que a atividade ovariana nesse caso parece ser afetada pelos efeitos negativos do Cythion sobre a produção de gonadotrofina pela glândula pituitária (SINGH; SINGH, 1980).

Em *Channa punctatus* adultas, realizou-se ensaios acerca do efeito do malation sobre a esteroidogênese ovariana, avaliando os níveis de delta 5-3 beta-hidroxisteróide desidrogenase ($\Delta 5,3\beta$ -HSD) e glicose-6-fosfato desidrogenase (G-6-PD). O experimento foi realizado através da exposição de grupos de 10 peixes às concentrações de 0,56, 0,28 e 0,19 ppm de malation durante 120 dias. Após esse período, os animais foram sacrificados e seus ovários coletados para os ensaios bioquímicos. Os oócitos de estágio I apresentaram ausência da atividade de ambos os hormônios avaliados na camada folicular, e não foram observados oócitos de estágio II e III, indicando a inibição da esteroidogênese resultante da exposição do malation (INBARAJ; HAIDER, 1988).

Foram realizadas análises acerca dos efeitos do malation sobre a espécie *Clarias batrachus* em exposição às concentrações de $0,1 \mu\text{L L}^{-1}$ e $1 \mu\text{L L}^{-1}$ durante um mês, e após esse período, os ovários desses animais foram coletados. O malation afetou negativamente esse órgão, que sofreu diminuição de seu tamanho (LAL et al., 2013).

A exposição do esperma da truta comum (*Salmo trutta*) ao malation causou estresse oxidativo nos espermatozoides e alterou a qualidade do esperma. O esperma coletado dos peixes foi submetido às concentrações de 75, 100 e $125 \mu\text{g L}^{-1}$ durante duas horas, com um grupo controle utilizando apenas etanol 1%, solvente utilizado nas soluções de tratamento. Após a exposição, verificou-se a motilidade dos espermatozoides, peroxidação lipídica e atividade de enzimas oxidantes. A taxa de motilidade diminuiu de forma significativa, e a atividade da catalase, os níveis de peroxidação lipídica e de glutathiona (que tem atividade antioxidante) aumentaram, enquanto os níveis de glutathiona peroxidase e de superóxido dismutase diminuíram, sendo essas também enzimas antioxidantes. Tais resultados indicam estresse oxidativo nos espermatozoides analisados (KOCABAŞ et al., 2018).

Análise de motilidade do esperma, *in vivo* e *in vitro* foi realizada com *Oreochromis niloticus*. O teste *in vivo* foi realizado de forma crônica, em concentração de 1 ppm, enquanto *in vitro* foram utilizadas concentrações variando de 0,01, 0,10 e 1 ppm. Ambos os testes afetaram negativamente a motilidade do esperma dessa espécie de peixe (KANDIEL et al., 2014).

Ovos postos e fecundados provenientes dos peixes adultos da espécie *Pimephales promelas* expostos no trabalho de Mount e Stephan (1967), foram coletados durante os 10 meses de exposição, e expostos novamente às concentrações de 0,58, 0,20, 0,07 e 0,03 mg L⁻¹. Analisou-se a eclosão, aparência, comportamento e crescimento das larvas. A eclosão dos ovos em que os parentais não foram expostos previamente ao malation foi 90% melhor quando comparado com os ovos provenientes dos parentais expostos. A aparência, comportamento e crescimento das larvas que eclodiram foram normais (MOUNT; STEPHAN, 1967).

Ovos fertilizados das espécies *Clarias gariepinus* e *Danio rerio* foram submetidos à diversas concentrações de malation, sendo essas escolhidas por dados da literatura e bases logarítmicas. A exposição foi mantida até as larvas iniciarem o processo de alimentação exógena, sendo 5 dias após a fertilização para *C. gariepinus* e 12 dias para *D. rerio*. Cada concentração foi realizada em quatro réplicas. Avaliou-se a mortalidade dos ovos/embriões, assim como a sobrevivência, eclosão, crescimento e as malformações das larvas, sendo observadas alterações nos padrões desses parâmetros quando comparados com o grupo controle. Foram identificados os valores da menor concentração de efeito observado (LOEC) para cada parâmetro avaliado. Para a espécie *C. gariepinus*, os valores da LOEC encontrados foram de 2,5 mg L⁻¹ para sobrevivência larval e maior que 5 mg L⁻¹ para sobrevivência embrionária e eclosão, e 1,25 mg L⁻¹ para malformações e crescimento. Para a espécie *D. rerio*, a LOEC determinada foi de 10 mg L⁻¹ para a sobrevivência embrionária, 3 mg L⁻¹ para eclosão, sobrevivência larval e malformações e maior que 1 mg L⁻¹ para o crescimento. Ainda, a LC₅₀ foi determinada, sendo de 3,42 mg L⁻¹ para *C. gariepinus* e 0,11 mg L⁻¹ para *D. rerio* (NGUYEN; JANSSEN, 2001).

Nguyen e Janssen (2002) continuaram a estudar os efeitos do malation sobre *Clarias gariepinus*, de forma a verificar as diferenças de sensibilidade entre os parâmetros de desenvolvimento. Ovos recém-fertilizados foram expostos à diversas concentrações de malation (0,3, 0,63, 1,25, 2,5 e 5 mg L⁻¹) durante cinco dias, sendo avaliada a sobrevivência embrionária e larval, eclosão, crescimento e presença de malformações. Nas concentrações de 2,5 e 5 mg L⁻¹ a taxa sobrevivência larval diminuiu significativamente, atingindo 59,9% e 6,3%, respectivamente. O crescimento e a quantidade de malformações observadas se tornaram significativamente elevados a partir da concentração de 1,5 mg L⁻¹, sendo deformação da notocorda e edema do saco vitelínico as malformações mais observadas. A sobrevivência embrionária e a eclosão não foram afetadas negativamente pelo malation. Assim, foi possível ordenar a sensibilidade dos

parâmetros como crescimento > malformações > sobrevivência larval > sobrevivência embrionária > eclosão (NGUYEN; JANSSEN, 2002).

Ovos de peixes-zebra (*Danio rerio*) foram expostos ao malation de forma a estudar a sobrevivência e o crescimento dos embriões. Grupos de 18 a 24 ovos foram expostos às concentrações de 0,5, 1, 1,5, 2, 2,5 e 3 mg L⁻¹ durante cinco dias, sendo analisados a cada 24 horas. Cada concentração foi testada pelo menos em duas réplicas, e os ensaios continham grupo controle apenas com água e um segundo grupo controle com o solvente utilizado para a diluição do malation, a acetona. Os embriões foram avaliados quanto a sua sobrevivência, eclosão e morfologia a partir de medidas do comprimento corporal, diâmetro do olho e área da cavidade abdominal. Não foram encontrados efeitos significativos do malation sobre a sobrevivência dos embriões, entretanto, a exposição diminuiu significativamente a taxa de eclosão, alcançando apenas 70% nas concentrações de 2,5 e 3 mg L⁻¹. O comprimento do corpo e o diâmetro do olho diminuíram significativamente nos grupos tratados, enquanto a área de cavidade abdominal aumentou significativamente. Entretanto, o grupo controle contendo acetona também apresentou divergências significativas quando comparado ao grupo contendo apenas água, ainda que menores que as observadas nos grupos de tratamento (COOK et al., 2005).

Estudos dos efeitos de organofosforados foram conduzidos sobre embriões do peixe-zebra (*Danio rerio*), incluindo o malation, analisando as variáveis de comportamento, motilidade (distância percorrida e velocidade), expressão gênica (AChE, c-Fos, LINGO-1B, GRIN-1B), atividade enzimática da AChE e atividade da carboxilesterase (CarbE). Os testes foram realizados sobre os ovos e larvas, expostos às concentrações de 0,01, 0,1, 10 e 100 µg L⁻¹, com exposição de 5 horas pós fertilização a 120 horas pós fertilização. Em concentração de 100 µg L⁻¹, observou-se hipoatividade das larvas, com redução de 22% de distância percorrida e 29% de velocidade. Houve diminuição da atividade da CarbE na concentração de 100 µg L⁻¹, e observou-se regulação positiva para o RNA da AChE em concentração de 0,1 µg L⁻¹. Ainda, houve regulação positiva na expressão do gene LINGO-1B em concentração de 100 µg L⁻¹, que está associado com regeneração neuronal (SCHMITT et al., 2019).

Adicionalmente, os efeitos da exposição do malation sobre o crescimento larval de *Danio rerio* e atividade da arginase, enzima importante no processo de detoxificação, foram estudados. A exposição iniciou após a fertilização dos ovos e seguiu até o fim da larva completar a absorção do saco vitelínico (aproximadamente 144 horas). As concentrações testadas foram de 2, 3, 4, 6 e 8 mg L⁻¹ de solução da formulação

comercial Malathion Pestanal®, com 10-20 ovos testados em cada réplica, sendo cada concentração realizada em triplicata. Após a eclosão, em 72 horas pós fertilização, e ao final das 144 horas, as larvas foram medidas quanto ao seu comprimento e avaliadas quanto ao desenvolvimento de seus órgãos internos, e ao final da exposição realizou-se ensaio enzimático para determinação total da atividade da arginase. Observou-se diminuição significativa na atividade enzimática em concentrações igual e superiores à 3 mg L⁻¹, além de atrasos no crescimento e no desenvolvimento de órgãos. As alterações observadas entre a diminuição da atividade enzimática e o atraso no desenvolvimento foram correlacionadas positivamente, indicando que a diminuição da atividade da arginase pode atrasar o crescimento dessas larvas (GONZÁLEZ et al., 2011).

Embriões e larvas do peixe goraz (*Pagrosomus major*) foram expostos durante 48 horas à diversas concentrações de vários poluentes, entre eles, às seguintes concentrações de malation: 1, 2, 4, 6, 8, 10 e 12 µg L⁻¹. Os embriões foram acondicionados em placas de Petri, sendo 100 embriões por placa, em 50 mL de solução, em triplicata. As larvas foram acondicionadas em béqueres com 500 mL de solução, sendo 30 larvas adicionadas em cada recipiente, também realizado em triplicata. Os embriões e larvas foram analisados em 24 horas e 48 horas quanto a taxa de mortalidade e malformação. O malation foi o segundo composto com maior taxa de mortalidade entre os embriões e larvas expostos, e causou danos no desenvolvimento dos mesmos, além de diminuir a taxa de eclosão dos embriões. As larvas apresentaram maior sensibilidade quando comparadas com os embriões (possivelmente devido à proteção da casca do ovo). A LC₅₀ após 48 horas de exposição obtida foi de 4,7 µg L⁻¹ para os embriões e 3,75 µg L⁻¹ para as larvas (ZHAO et al., 2017).

Larvas da espécie *Colossoma macropomum* foram submetidas à diversas concentrações da formulação comercial Malation 500® por 96 horas, de forma a encontrar o valor de LC₅₀ e comparar com outras quatro espécies (*Hyphessobrycon erythrostigma*, *Paracheirodon axelrodi*, *Nannostomus unifasciatus* e *Otocinclus affinis*), testadas com peixes adultos. O valor obtido de LC₅₀ foi de 1507 µg L⁻¹, o maior do total de cinco espécies utilizadas, demonstrando que mesmo em seu estado larval, a espécie *C. macropomum* é a menos sensível dentre as testadas (RICO et al., 2011).

Larvas recém-eclodidas (de 3 a 5 horas pós eclosão) da espécie *Clarias gariepinus* foram submetidas às concentrações de 0,3, 0,63, 1,25, 2,5 e 5 mg L⁻¹ de malation durante 5 dias. O desenvolvimento larval foi observado diariamente em microscópio, e ao final, o comprimento corporal medido. Os resultados foram comparados com o grupo

controle. Houve mortalidade de até 28,2 %, observada nas larvas expostas à concentração mais alta. O crescimento foi afetado nas larvas expostas a partir da concentração de 2,5 mg L⁻¹, e as taxas de malformações aumentaram significativamente nas concentrações de 2,5 e 5 mg L⁻¹, sendo edema no saco vitelínico e malformação da notocorda as mais observadas (LIEN et al., 1997).

O crescimento da fase larval à adulta e a postura de ovos de *Jordanella floridae*, expostos às concentrações de 31,5, 24,7, 19,3, 15, 10,9, 8,6 e 5,8 µg L⁻¹ de malation, por 30, 65 e 110 dias, foi avaliado. Houve redução significativa no crescimento da primeira geração a partir da concentração de 10,9 µg L⁻¹, entretanto não houve diferença significativa em número de ovos postos pelas fêmeas e no crescimento e sobrevivência da segunda geração, a qual foi exposta e avaliada durante 30 dias (HERMANUTZ, 1978).

Larvas da espécie *Sciaenops ocellatus* (peixe-vermelho) foram expostas a concentrações ambientais e subletais de malation para investigação de efeitos causados sobre o comportamento, crescimento e metabolismo de repouso. Inicialmente, realizou-se ensaio de sobrevivência com diversas concentrações (10, 15, 20, 50, 100, 200 e 2000 µg L⁻¹) garantindo que as concentrações menores que 200 µg L⁻¹ são subletais. As larvas com idade de cerca de 15 a 20 dias foram alocadas em grupos de 500 indivíduos e expostas às concentrações de 1 e 10 µg L⁻¹ de malation, obtidas a partir de dados da literatura como concentrações reais no ambiente, durante sete dias. O grupo controle e os de tratamento foram realizados em duplicata. Nos dias um, três e sete as larvas foram avaliadas quanto ao seu crescimento, nado, comportamento de fuga, metabolismo de repouso e taxa respiratória. Nenhum dos parâmetros observados apresentou diferença significativa entre os grupos controle e de tratamento, em ambas as concentrações testadas, demonstrando que a exposição à baixas concentrações de malation presentes no ambiente não causa perturbações no desenvolvimento dessa espécie (ALVAREZ; FUIMAN, 2006).

Larvas da espécie *Sciaenops ocellatus* foram ainda utilizadas para estudo dos efeitos da exposição do malation sobre o crescimento e o conteúdo proteico. Grupos de 500 larvas, 17-21 dias pós-eclosão, foram expostas às concentrações de 1 e 80 µg L⁻¹ de malation durante oito dias, com alguns indivíduos sendo coletados nos dias zero, um, dois, quatro e oito para medição de tamanho (comprimento e peso molhado) e conteúdo proteico. Nos dias dois, quatro e oito, realizou-se análise da síntese proteica. Não foram observados resultados sigificativos sobre o comprimento e o conteúdo proteico das larvas tratadas quando comparado com o grupo controle, entretanto, observou-se diminuição significativa no peso após oito dias, além do aumento da síntese proteica observada no

segundo dia de exposição (MCCARTHY; FUIMAN, 2008).

Larvas de peixe tilápia do Nilo (*Tilapia nilotica*) foram expostas à diversas concentrações de três poluentes, entre eles, o malation, em concentrações de 0,1, 0,2 0,4, 0,8, 1 e 2 mg L⁻¹ por 24, 48, 96 e 120 horas para análise de mortalidade, de comportamento, análises bioquímicas através do soro, análise da AChE e de biomarcadores do fígado para avaliação de lesão hepática. Diversos efeitos negativos puderam ser observados, havendo alterações no comportamento, como nado anormal e convulsões, inibição da atividade da AChE em diferentes porcentagens no soro e no cérebro, chegando a 27,90% após 96 horas de exposição em concentração de 1 mg L⁻¹, e mortalidade. Ainda, a atividade de biomarcadores do fígado, AST e ALT, foi observada em níveis mais elevados quando comparada com o grupo controle. A LC₅₀ encontrada após 96 horas foi de 0,43 mg L⁻¹. A exposição do malation em mistura com diuron apresentou efeitos sinérgicos, aumentando significativamente a porcentagem de mortalidade observada (EL-NAHHAL, 2018).

Larvas da espécie de peixe *Solea senegalensis* foram expostas, durante seu primeiro mês de fase larval (entre quatro e 30 dias pós eclosão) ao malation, em concentração de 1,56, 3,12 e 6,25 µg L⁻¹. Em diferentes dias pós eclosão, larvas foram coletadas para análises histológicas do fígado, rins, intestino, guelras e coração, análise imuno-histoquímica da expressão gênica de CYP1A (enzima Citocromo P450 1A) e AChE e análises enzimáticas das enzimas CarbE, AChE e BChE. Os resultados demonstraram a inibição das enzimas CarbE, AChE e BChE, em maneira dose e tempo dependente. Os níveis de transcritos dos genes CYP1A e AChE não se encontravam alterados. O malation causou alterações histopatológicas também de maneira dose e tempo dependente, incluindo ruptura do parênquima do fígado, descamação epitelial, hiperplasia e hipertrofia nas brânquias e degeneração das células epiteliais dos túbulos renais, além de desorganização nas fibras cardíacas (ORTIZ-DELGADO et al., 2021).

4.8 BIOACUMULAÇÃO

Grupos de 12 peixes da espécie *Cyprinus carpio* foram expostos às concentrações de 1, 2,5, 5 e 7,5 mg L⁻¹ de malation diluído nos tanques de água onde os peixes estavam acondicionados, durante 4 dias, para verificação de acumulação de resíduos. Após essa exposição, água limpa foi adicionada aos tanques, um litro por minuto, e nas horas 0, 12, 24, 48, 72 e 96 pós exposição, dois peixes foram retirados para análise. Dentre as análises realizadas no cérebro, sangue, guelras, fígado e carne, o fígado foi o

que mais apresentou acumulação de resíduos, com $66,59 \mu\text{g g}^{-1}$. A partir da exposição em concentração de $2,5 \text{ mg L}^{-1}$, a carne apresentou concentrações superiores às permitidas pela Food and Drug Administration (FDA). Os resultados de análise pós exposição demonstraram rápida detoxificação dos peixes, chegando a quase $0,08 \mu\text{g g}^{-1}$ após 96 horas. Ainda, os peixes foram analisados quanto a sua ingestão do inseticida, alimentados com cápsulas de gelatina contendo 200 mg de malation. Os peixes foram acondicionados com peixes controle (não alimentados com malation) em um só tanque, com 50 litros de água limpa fluindo por hora. Após 24 horas, os peixes foram sacrificados para análise. Os resultados demonstraram não haver diferença significativa de acumulação de resíduo (BENDER, 1969).

A captação e excreção de malation e outros inseticidas sobre a espécie de peixe *Pseudorasbora parva* foi avaliada por meio da exposição de grupos de 10 peixes às concentrações de 0,6-1,2 ppm, durante um mês, sendo os peixes analisados durante vários intervalos de dias. A captação do malation pelos peixes ocorreu de forma lenta, e a metabolização do malation foi rápida, estando presente em concentração de 2,4 ppm no primeiro dia, e diminuindo para 0,01 ppm após sete dias (KANAZAWA, 1975).

Ainda para análise de bioacumulação do inseticida e de seus metabólitos, peixes da espécie *Lagodon rhomboides* foram expostos à concentração de $75 \mu\text{g L}^{-1}$ durante 24 horas. Os resultados obtidos indicaram presença de ácidos mono e dicarboxílicos no cérebro, fígado, guelras, carne e intestino, não sendo observada a presença de malation e de seu metabólito malaaxon, sugerindo uma rápida conversão do inseticida a esses ácidos pelos peixes (COOK; MOORE, 1976). De maneira semelhante, Cook et al. (1976) analisaram a acumulação de resíduos pós exposição às concentrações de 75, 30 e $20 \mu\text{g L}^{-1}$ de malation, em *Lagodon rhomboides*, durante 24, 72 e 24 horas respectivamente, analisando a presença do malation, malaaxon, malation monoácido e malation di-ácido, associando os resultados com mortalidade e inibição da AChE. Os resultados indicaram uma rápida conversão do malation em seus metabólitos (malation monoácido e malation di-ácido) de maneira dose e tempo dependente, chegando à concentração de $19 \mu\text{g g}^{-1}$ no intestino após 92 horas de exposição em $30 \mu\text{g L}^{-1}$. Os valores de resíduos obtidos são correlacionados também de maneira dependente com os índices de mortalidade e inibição da AChE. Em concentração de $20 \mu\text{g L}^{-1}$, após 24 horas de exposição, análises foram continuadas em até 192 horas pós exposição, com a concentração de metabólitos decaindo gradativamente, chegando a zero após 192 horas (COOK et al., 1976).

Estudos de acumulação e excreção do malation e malaoxon em peixes da espécie *Oryzias latipes* foram conduzidos expondo dois grupos de 250 peixes à concentração de $7,6 \pm 2 \mu\text{g L}^{-1}$ de malation e $5,4 \pm 1,7 \mu\text{g L}^{-1}$ de malaoxon, durante 168 horas (7 dias), sendo 20 peixes coletados nas horas 6, 12, 24, 48, 72, 120 e 148 para análise de resíduo presente no corpo todo. Os peixes restantes foram acondicionados em tanque com água limpa por 48 horas, com 20 peixes sendo coletados nas horas 3, 6, 12, 24 e 48 horas. Os resultados de bioacumulação foram transformados em fator de bioconcentração, sendo o do malation definido, nesse caso, como 11, e do malaoxon definido como 1,1 (TSUDA et al., 1997). O fator de bioconcentração indica a capacidade das substâncias de serem absorvidas por organismos na água (WANG, 2016). Dessa forma, observa-se que o malation é muito mais facilmente absorvido pelos peixes do que o malaoxon. A partir das análises de excreção, foi determinada a taxa de excreção para o malation, sendo $0,27 \text{ h}^{-1}$. Não foi obtida taxa de excreção para o malaoxon (TSUDA et al, 1997).

Com tratamento de diferentes concentrações de malation durante 10 dias em peixes da espécie *Labeo rohita* observou-se concentrações do inseticida no soro desses animais após os 10 dias de exposição, de maneira dose dependente (KARMAKAR et al., 2016).

A presença de contaminantes em peixes em seu hábitat natural foi avaliada no Lago Manzala e no Rio Nilo. Um total de 40 peixes foram coletados, sendo 10 animais da espécie *Mugil species* e 10 animais da espécie *Tilapia nilotica* de cada localidade – Lago Manzala e Rio Nilo. Os órgãos internos, cabeça e cauda foram removidos e as análises da presença de resíduos foram realizadas com os tecidos musculares. Amostras de água e sedimento também foram coletadas desses locais. Os resultados foram comparados com os limites estabelecidos. Nos peixes da espécie *Mugil species* coletados do Lago Manzala o malation foi encontrado em concentração de $0,08 \pm 0,01 \text{ mg kg}^{-1}$. O malation também estava presente em concentração acima dos limites estabelecidos por órgãos locais na água e sedimentos do Lago Manzala (OSFOR et al., 1998).

Ainda avaliando a presença de contaminantes em peixes em seu hábitat natural, peixes da espécie *Channa striata* e *Catla catla* foram coletados três vezes durante três anos no lago Kolleru, na Índia. Os peixes foram dissecados e amostras de músculo, guelras e fígado foram analisadas quanto a presença de pesticidas. Verificou-se a presença do malation em todas as amostras de tecidos em ambas as espécies, com uma média de resíduo variando entre $0,217$ e $2,37 \mu\text{g g}^{-1}$. O maior valor observado foi de $2,52 \mu\text{g g}^{-1}$ na amostra de fígado da espécie *C. striata*. Os valores encontrados foram comparados com

os parâmetros da Organização para a Alimentação e Agricultura (FAO), que estabelece como limite 1 mg kg⁻¹ de malation, demonstrando que os animais coletados estavam contaminados (AMARANENI; PLLLALA, 2001).

Peixes da espécie *Oreochromis mossambicus* e *Cynoscion xanthulu* foram coletados do lago Salton, um lago salgado ao sul da Califórnia, para determinação da presença de resíduos de pesticidas em seus tecidos. Os peixes foram dissecados e amostras de músculo, fígado, gônadas e guelras foram analisadas. Amostras de sedimentos do lago também foram coletadas para análise. O malation foi encontrado em todas as amostras de sedimento, chegando à concentração de 7,2 ng g⁻¹. Foi identificado também em todas as amostras de tecidos de ambas as espécies, sendo 9,2 ng g⁻¹ de malation no fígado de *C. xanthulu* e 11,5 ng g⁻¹ no fígado de *O. mossambicus* os valores de resíduos mais altos observados (SAPOZHNIKOVA et al., 2004).

Um estudo de bioacumulação com peixes coletados no rio Dniester, na Moldávia, detectou o malation em tecidos de cinco espécies diferentes. O estudo consistiu na coleta de peixes de seis espécies em duas localidades diferentes do rio, sendo os animais eutanasiados em seguida e amostras de tecido do músculo, fígado e gônadas coletadas para análise da presença de contaminantes. O malation foi encontrado em altas concentrações nas espécies *Abramis brama*, *Rutilus rutilus heckeli*, *Carassius auratus gibelii*, *Perca fluviatilis*, *Chondrostoma nasus* e *Cyprinus carpio*, chegando à concentração de 3073 ng g⁻¹ em amostras de músculo e 46483,3 ng g⁻¹ em amostras de gônadas (SAPOZHNIKOVA et al., 2005).

Peixes da espécie *Tilapia spp.* foram coletados em seis diferentes momentos em um período de dois anos (1999-2001) no canal de drenagem de Damietta, província do Egito, para análise de amostras do fígado, de forma a identificar possíveis bioacumulações de poluentes. Amostras de água e sedimento também foram coletadas. O malation foi encontrado em peixes coletados na primavera de 2000 em concentração de 4,9 ppb, e inverno de 2001 em concentração de 19,3 ppb. O malation também foi encontrado em amostras de água e sedimento nesses mesmos períodos (ABDEL-HALIM et al., 2005).

Observou-se resíduos em diversas espécies de peixe coletados no Rio Ganga em Calcutá, na Bengala Ocidental, Índia. As coletas foram realizadas em cinco posições diferentes, em três estações (verão, chuvosa e inverno) a cada ano entre 2001 e 2005. Resíduos de malation foram observados em diversas amostras, chegando em 5,4 ppm em amostras do ano de 2003 (AKTAR et al., 2009).

Resíduos de malation também foram observados em peixes de diversas espécies presentes no Rio Nilo, com amostras coletadas em canais de abastecimento (El Menofiya, El- Sarsawia, El-Bagoria e Bahr Shebin), além dos canais de drenagem El-Embaby, El-Menofi e Miet Rabiha, a cada dois meses num período de 16 meses, entre junho de 2007 e setembro de 2008. O malation foi detectado em amostras de tecido de peixes, em concentração menor que o limite máximo de resíduo permitido, sendo o 8,31 ng g⁻¹ a maior concentração de malation observada (MALHAT; NASR, 2011).

Peixes da espécie *Pangasianodon hypophthalmus* foram coletados em diversas localidades, em fazendas de aquicultura, na Índia. Ainda, alguns peixes foram importados do Vietnã. Foram observados resíduos de malation em amostras de todos os locais, em concentrações variando entre 7,28-55,53 µg kg⁻¹ nas localidades da Índia, e 7,22-9,53 µg kg⁻¹ nas amostras provenientes do Vietnã (CHATTERJEE et al., 2016).

Peixes da espécie *Piaractus mesopotamicus* foram criados em um lago próximo ao cultivo agrícola, onde diversos pesticidas eram aplicados, na região do Pampa, na Argentina. A criação durou um ano e três meses. Após o período de criação, amostras de água foram analisadas para verificação dos possíveis contaminantes, além da análise dos tecidos dos peixes, para possíveis químicos bioacumulados. O malation, apesar de não ser observado nas amostras de água do lago, foi observado nos músculos de dois dos peixes analisados, em concentração de 8,6 e 23,7 µg kg⁻¹ (BRODEUR et al., 2021).

4.9 EFEITOS COMPORTAMENTAIS

Os efeitos do malation sobre o comportamento de *Heteropneustes fossilis* foram estudados através da exposição à diversas concentrações (5-30 ppm) durante 96 horas. Observou-se movimentos erráticos, saltos, inquietação, movimentos operculares erráticos, dificuldade em respirar, convulsões, espasmos, letargia e perda do senso de equilíbrio. Além disso, observou-se secreção e deposição de muco na superfície do corpo, pupilas dilatadas e embranquecimento da pele após a exposição (MISHRA; SRIVASTAVA, 1983; SINGH et al., 1984). Adicionalmente, foram avaliados os efeitos do malation sobre o comportamento de *Channa punctatus*, sendo observados resultados semelhantes (SINGH et al., 1984).

Ainda com a espécie *Channa punctatus*, a exposição ao malation acarretou em alterações comportamentais como nado errático e rápido, pulos, rápida atividade opercular, hiperexcitabilidade, barbatanas rígidas e esticadas, acumulação de muco na pele, cavidade

oral e guelras, clareamento da pele, letargia, perda de consciência e permanência em posição vertical por longos períodos (PANDEY et al., 2004). O estudo de exposição de *Channa punctatus* à concentração de 0,4 mg L⁻¹ teve que ser interrompido pois os animais passaram a apresentar distúrbios comportamentais, tais como nado errático com aumento dos movimentos operculares, além de ida à superfície frequente para buscar por ar (BHARTI; RASOOL, 2021).

Grupos de 10 peixes juvenis de *Cyprinus carpio* foram expostos por 96 horas às concentrações de 8,55, 11,4, 14,25, 14,8, e 17,1 ppm, para os ensaios de toxicidade aguda. Para os ensaios de toxicidade crônica, grupos de 10 a 20 peixes foram expostos às concentrações de 0,1, 0,57, 1 e 2 ppm durante 40 e 70 dias. Os peixes sobreviventes aos ensaios apresentaram diferenças de comportamento, com locomoção prejudicada e escoliose na parte posterior da coluna vertebral, além de escurecimento da pele (ALAM; MAUGHAN, 1992).

Estudos sobre alterações comportamentais consequentes da exposição ao malation foram realizados sobre a espécie *Labeo rohita*. Concentrações de 0,2, 0,4, 0,6, 0,8 e 1 mg L⁻¹ foram utilizadas, expondo grupos de 10 peixes durante 24 horas, além de um grupo controle, todos em duplicata. Analisou-se as respostas optomotoras, reflexos utilizados para avaliar a função visual, através do aparato de teste de resposta optomotora. Os resultados apresentaram efeitos negativos da resposta optomotora. Nas concentrações menores, de 0,2 e 0,4 mg L⁻¹, os animais apresentaram hiperatividade e inquietação quando comparados com os grupos controle, enquanto na concentração de 0,6 mg L⁻¹, observou-se animais letárgicos. Em concentração de 1 mg L⁻¹, os peixes apresentaram respiração pesada (DUTTA et al., 1992).

Em outro estudo, a exposição de peixes *Labeo rohita* à concentração de 9 µL L⁻¹ durante quatro dias e à concentração de 0,9 µL L⁻¹ por 15 dias acarretou em perturbações no consumo de oxigênio, aumentando e diminuindo durante o período de teste. Ainda, observou-se movimentos de nado irregulares, erráticos e rápidos, hiperexcitabilidade, perda de equilíbrio, disfunção dos movimentos operculares, aumento da secreção de muco na pele, além de afundarem no aquário. A menor concentração testada, apesar de apresentarem os efeitos acima citados, não acarretou em mortalidade aos animais (PATIL; DAVID, 2008). Utilizando a concentração de 0,45 µg L⁻¹ durante 15 dias, também foram observadas as alterações de comportamento descritas acima, além de curvatura caudal, movimentos para os cantos dos aquários, e subidas à superfície buscando ar. Os comportamentos descritos podem ser relacionados com a inibição da atividade da AChE, a

qual foi observada em taxa de até 15% no cérebro dos animais testados. Após o período de exposição, os peixes foram observados por mais 15 dias para estudo de recuperação, porém as complicações observadas persistiram (PATIL; DAVID, 2010).

O mesmo tipo de estudo foi realizado sobre a espécie *Anabas testudineus*, utilizando concentrações de 1, 2, 3 e 4 mg L⁻¹, em grupos de 10 peixes durante 24 horas, além de um grupo controle. Os resultados das análises de respostas optomotoras indicaram diminuição da função visual, e os peixes apresentaram hipoatividade em concentração de 2 mg L⁻¹, e se mostraram altamente letárgicos em concentração de 4 mg L⁻¹. Ainda, logo no início do tempo de exposição, os animais apresentaram movimentos de nado erráticos, e ao final do tempo de exposição, encontraram-se deitados de lado (DUTTA et al., 1994).

Alterações comportamentais em razão da exposição ao malation sobre a espécie *Oncorhynchus mykiss* foram estudadas, correlacionando as perturbações observadas com a inibição da atividade da AChE. A análise comportamental envolveu a observação da distância total percorrida (cm), velocidade do nado (cm s⁻¹), taxa de mudança de direção (graus s⁻¹), além de tortuosidade do caminho percorrido. Os animais foram acondicionados em grupos de 30 peixes, expostos à 20 e 40 µg L⁻¹ de malation, sendo 10 animais coletados após 24 e 96 horas para análise comportamental e de atividade enzimática da AChE. Após 96 horas, os 10 animais restantes foram acondicionados em água limpa para recuperação por 48 horas, sendo analisados em seguida. Houve mortalidade (menos de 12%) em ambos os tratamentos no período de 24 e 96 horas. Observou-se diminuição na distância percorrida e na velocidade, e aumento de mudanças de direção e tortuosidade durante o nado após 24 horas. Entretanto, após 96 horas os peixes apresentaram restabelecimento do comportamento normal, e após o período de 48 horas de recuperação, seu comportamento não apresentava divergência do grupo controle. A correlação da inibição da AChE com as alterações comportamentais foi observada, com correlação positiva para a distância percorrida e velocidade, ou seja, quanto maior inibição da atividade enzimática, menor a velocidade e distância percorrida pelos peixes. Para mudanças na direção e tortuosidade do nado, a correlação foi negativa, ou seja, quanto maior a inibição da atividade enzimática, maiores foram as mudanças de direção e tortuosidade do nado observadas (BREWER et al., 2001).

A exposição de peixes da espécie *Oryzias latipes* à concentração de 2000 µg L⁻¹ de malation acarretou em comportamento instável, movendo-se pouco ou nado errático, imediatamente após o início de exposição (UNO et al., 2012).

4.10 OUTROS EFEITOS

Peixes da espécie *Notropis cornutus* de um e dois anos de idade, foram submetidos às seguintes concentrações de malation: 1, 0,25 e 0,05 $\mu\text{g L}^{-1}$ por 24 horas e em seguida, aclimatizados em duas temperaturas (17 °C e 8 °C) e acompanhados durante três dias, de forma a analisar a regulação de temperatura corporal destes animais. Grupos controle de não tratados e de tratados apenas com acetona, também foram analisados, para comparação com os tratamentos. Os peixes apresentaram diminuição do controle de temperatura corporal de maneira dose dependente quando aclimatizados em temperatura de 17 °C. Os animais de dois anos foram os que sofreram maiores efeitos no controle de temperatura, sobre concentrações de 1 e 0,25 $\mu\text{g L}^{-1}$, enquanto os animais de apenas um ano sofreram pequenas alterações de temperatura em concentração de 1 $\mu\text{g L}^{-1}$. Teste de recuperação foi realizado, verificando o retorno da regulação normal da temperatura corporal em 24 horas (DOMANIK; ZAR, 1978).

Os efeitos da exposição do malation sobre *Oncorhynchus tshawytscha* em concentrações subletais (200, 290, 340, 410 e 520 $\mu\text{g L}^{-1}$) sobre duas diferentes temperaturas (11 e 19 °C) foram estudados por Dietrich et al. (2014). Como previamente descrito, a LC_{50} foi obtida em cada temperatura (346,2 $\mu\text{g L}^{-1}$ para 11 °C e 274,1 $\mu\text{g L}^{-1}$ para 19 °C). Observou-se que a soma de estressores pode acarretar em maiores taxas de mortalidade. Os peixes também foram expostos à concentração subletal de 100 $\mu\text{g L}^{-1}$ sob as duas temperaturas, durante 96 horas, porém não foram observadas diferenças significativas de mortalidade entre os dois tratamentos (DIETRICH et al., 2014).

Os efeitos do malation sobre a imunidade de peixes da espécie *Oryzias latipes* foram estudados através da exposição às concentrações de 0,2 e 0,8 mg L^{-1} , durante sete ou 14 dias em grupos de 60 peixes. Cada exposição foi realizada em triplicata. Após o período de exposição os rins foram removidos ou foi realizada injeção com eritrócitos de cabra para posterior avaliação das funções imunes humorais. Os peixes que sofreram injeção foram acondicionados em água limpa por 11 dias. O número de células formadoras de plaquetas diminuiu significativamente, a viabilidade e recuperação de células totais do rim também decaíram, assim como a produção de superóxidos pelos fagócitos, quando comparados com o controle. Ainda, grupos de 40 animais foram expostos às concentrações de 0,1 e 0,3 mg L^{-1} durante sete, 14 ou 21 dias, e ao final do tempo de exposição sofreram injeção de uma dose de $1,7 \times 10^7$ unidades formadoras de colônia (UFC) de *Yersinia ruckeri*, bactéria gram negativa oportunista, e avaliados durante 96 horas quanto à sobrevivência.

Os resultados demonstraram que a sobrevivência ao patógeno foi afetada negativamente pela exposição ao malation, reduzindo a resistência contra infecção de patógenos, uma vez que a dose testada diz respeito à LD₅₀ desta bactéria para a espécie de peixe testada (BEAMAN et al., 1999).

Estudo com a carpa comum (*Cyprinus carpio*) também demonstrou que a exposição ao malation causa alterações em parâmetros hematológicos e imunológicos. A exposição foi realizada durante 10 dias, expondo grupos de 10 peixes às concentrações de 0,5 e 1 mg L⁻¹. Após os 10 dias, coletou-se sangue e realizou-se análises dos níveis de hematócrito (medida de proporção de hemácias no sangue), de hemácias (RBC), e glóbulos brancos (WBC), concentração de hemoglobina (Hb), atividade de fagócitos (PA), produção de radicais oxidativos, proteínas totais do plasma e imunoglobulinas totais. Os resultados observados constataram diminuição significativa em todos os parâmetros analisados (YONAR, 2013; YONAR et al., 2014).

Testes de toxicidade aguda realizados em peixes adultos da espécie *Barilius vagra* expuseram grupos de 10 peixes às concentrações de 4, 6,5, 8,55 e 11,4 ppm de malation por 96 horas, em duplicata. Os peixes sobreviventes ao ensaio apresentaram escurecimento da pele (ALAM; MAUGHAN, 1992). Esse mesmo efeito foi observado em peixes da espécie *Danio rerio*, que adicionalmente se tornaram mais magros, pareciam se contorcer, os movimentos das guelras aumentaram, começaram a perder o equilíbrio, e falharam em realizar a desova. Ainda, observou-se alterações e fraturas nos ossos da coluna (KUMAR; ANSARI, 1983).

A exposição subletal de 7,30 mg L⁻¹ de malation durante 96 horas sobre *Colossoma macropomum* acarretou em aumento da expressão do proto-oncogene ras (DE SOUZA et al., 2020).

4.11 EFEITOS PROTETIVOS CONTRA O MALATION

Os efeitos protetivos do licopeno sobre a exposição do malation à carpa comum (*Cyprinus carpio*) foram averiguados, mediante administração do composto sozinho ou juntamente com o malation, em concentração de 10 mg kg⁻¹ por peso do peixe. O estudo demonstrou que o licopeno preveniu os efeitos nocivos do malation previamente descritos por esse mesmo estudo (YONAR, 2013). O licopeno é um composto carotenoide presente no tomate, goiaba melancia, e outras frutas de colorações semelhantes. Os carotenoides são potentes antioxidantes, sendo o licopeno o mais potente entre eles. O licopeno também

tem sido associado com outras funções protetoras contra carcinogênese e aterogênese (SHAMI; MOREIRA, 2004; PELIS et al., 2013).

Estudo subsequente com a mesma espécie, utilizou própolis através da alimentação diária, isolada ou juntamente com o malation na concentração de 10 mg kg⁻¹ de peso corporal do peixe. Os resultados também demonstraram a prevenção dos distúrbios em parâmetros hematológicos e imunológicos causados pelo malation a partir da administração de própolis (YONAR et al., 2014).

Kandiel et al. (2014) estudaram os efeitos protetivos do pólen e da própolis sobre os efeitos negativos ocasionados pelo malation em *Oreochromis niloticus*, observando diminuição em 2,5 % da taxa observada dos efeitos previamente citados e demonstrados por esse trabalho (KANDIEL et al., 2014).

A própolis é produzida por abelhas, sendo um produto resinoso, e é utilizada na medicina popular há centenas de anos, por apresentar diversas características terapêuticas, como atividade imunomoduladora, antitumoral, anti-inflamatória e antioxidante. Apesar de estudos demonstrarem tais características, seu modo de ação é desconhecido (FISCHER et al., 2008). O pólen também tem sido demonstrado como potencial composto medicinal, apresentando propriedades antibacteriana, anti-inflamatória, imunomoduladora, antifúngica e antioxidante. Sua ação antioxidante pode estar relacionada com a presença de compostos fenólicos em sua composição (CARPES et al., 2008).

A administração via oral de ácido elágico em concentração de 10 mg kg⁻¹ de peso corporal à peixes da espécie *Cyprinus carpio*, juntamente com o malation durante 14 dias, preveniu dos efeitos de estresse oxidativo causados pela exposição isolada do malation, como descrito anteriormente (URAL et al., 2015). O ácido elágico é um composto bifenol amplamente presente na dieta humana, encontrado em frutas como morango, framboesa, amora, uva, romã, além de estar presente em nozes. Em bebidas destiladas, o ácido elágico é o principal fenol constituinte (DALVI, 2008). O ácido elágico também tem sido associado a ações que potencialmente beneficiam a saúde humana, como a atividade antioxidante, anticarcinogênica e antimutagênica (DALVI, 2008). Entretanto, os efeitos demonstrados na literatura para esses compostos são de ação protetiva, e não remediadora das perturbações já causadas pelo malation. Assim, ações de prevenção ao uso excessivo deste inseticida deveriam ser prioridade.

5 DISCUSSÃO

De acordo com os resultados encontrados no presente trabalho, pode-se observar a grande quantidade de espécies de peixes para as quais têm-se registros acerca dos efeitos negativos ocasionados pela exposição ao malation. No total, a partir dos artigos estudados, foram levantados dados de perturbações causadas em 60 espécies de peixes, de diversas localidades do mundo. Os efeitos observados nas espécies tendem a ser muito parecidos, com a maioria apresentando mortalidade, estresse oxidativo, inibição da atividade da AChE, alterações comportamentais, efeitos negativos sobre a reprodução e desenvolvimento e alterações bioquímicas. Poucos são os estudos que trazem resultados não significativos de perturbações causadas pelo malation (RODRÍGUEZ-ARIZA et al., 1999; MCCARTHY; FUIMAN, 2008; RUIZ-LEAL; GEORGE, 2001).

Os resultados do presente trabalho demonstram que espécies de peixes de diversos locais do mundo são afetadas pelo malation. Dentre a grande variedade das espécies estudadas, inclui-se espécies endêmicas do Brasil e da região da Tríplice Fronteira. O estudo de Rico et al. (2011) utilizou espécies da região amazônica (*Hyphessobrycon erythrostigma*, *Paracheirodon axelrodi*, *Nannostomus unifasciatus* e *Otocinclus affinis*), enquanto o estudo de Brodeur et al. (2021) utilizou a espécie *Piaractus mesopotamicus*, tendo o estudo sido realizado na Argentina. Essa espécie tem como distribuição geográfica a bacia do Prata, formada pelo Rio Paraná. Espécies de diversas outras regiões também foram utilizadas, principalmente em estudos de bioacumulação, com amostras coletadas na natureza em rios da Índia (AMARANENI; PLLLALA, 2001; AKTAR et al., 2009; CHATTERJE et al., 2016), Egito (OSFOR et al., 1998; ABDEL-HALIM et al., 2005; MALHAT; NASR, 2011), Estados Unidos (SAPOZHNIKOVA et al., 2004) e Moldávia (SAPOZHNIKOVA et al., 2005).

Apesar da alarmante quantidade de estudos demonstrando os efeitos negativos da exposição ao malation, alguns autores verificaram a possível recuperação dos animais expostos, avaliando-os durante determinado período sem exposição continuada ao inseticida. Apesar de alguns animais não demonstrarem recuperação eficiente quando expostos à certas concentrações (ANSARI; KUMAR, 1984; PATIL; DAVID, 2010), a maioria das espécies de peixes para os quais os estudos fizeram esse tipo de verificação parece recuperar bem a homeostase, inclusive sendo capazes de excretar rapidamente possíveis resíduos bioacumulados (BENDER, 1969; KANAZAWA, 1975; COOK et al., 1976; DOMANIK; ZAR, 1978; KUMAR; ANSARI, 1986; BREWER et al., 2001; DAVID et al., 2007;

HUCULECI et al., 2008; THENMOZHI et al., 2011).

Alguns estudos realizados com a mesma espécie de peixe, principalmente com o objetivo de determinar a LC_{50} , apresentam divergências quanto ao resultado, como é o caso dos estudos de Sahib e Rao (1980), Basha et al. (1983) e Sahib et al. (1984a), realizados com a espécie *Oreochromis mossambicus*, estudos de Singh e Singh (1980), Mishra e Srivastava (1983), Singh et al. (1984) e Yadav e Singh (1986) realizados com a espécie *Heteropneustes fossilis*, e os estudos de Kumar et al. (2010) e Bharti e Rasool (2021) com a espécie *Channa punctatus*. Apesar de a maioria dos autores não discutirem os resultados discrepantes, Bharti e Rasool (2021) cita alguns possíveis fatores capazes de interferir nos resultados de LC_{50} obtidos, como a taxa de absorção, acumulação, metabolização e excreção do peixe. A taxa de hidrólise do inseticida na água também é uma variável importante, que, por sua vez, depende das propriedades químicas da água utilizada. Além disso, a sensibilidade dos peixes ao malation depende das condições ambientais em que estão submetidos, como temperatura, pH, alimentação, taxa de oxigênio (MAGALHÃES; FILHO, 2008). A variação dessas condições de estudo pode também causar mudanças na sensibilidade e tipo de resposta desses animais à exposição ao malation.

A maior parte da utilização do malation no Brasil se deve a tentativa de controle do mosquito *Aedes aegypti*, através do fumacê (COLEONE; PAGANINI, 2014), apesar da ineficácia e possível resistência desse mosquito ao inseticida (LEANDRO et al., 2020). Assim, alternativas ao combate desse inseto deveriam ser consideradas, de modo a aumentar a eficácia do controle e evitar o uso extremo de inseticidas, principalmente em áreas urbanas, expondo toda a população ao risco.

Alternativas existentes já vêm sendo estudadas e utilizadas. Azevedo-Santos et al. (2016) discutem a utilização de peixes predadores das larvas do mosquito no Brasil, como *Poecilia reticulata*, *Oreochromis niloticus*, *Carassius auratus* e *Beta splendens*, como forma de controle. Os peixes são inseridos nos ambientes aquáticos, esperando-se que se reproduzam e se alimentem das larvas. Entretanto, tem-se discutido as implicações que a inserção de organismos não nativos aos ecossistemas brasileiros pode resultar futuramente (AZEVEDO-SANTOS et al., 2016).

Outra alternativa estudada faz uso de extrato da alga marinha vermelha *Champia parvula* como bioinseticida. Os resultados demonstraram toxicidade do extrato às larvas de *A. aegypti*, com índices de LC_{50} e LC_{90} resultando em 43 e 88 ppm respectivamente, enquanto em sua concentração máxima de uso, 600 ppm, apresentou menor toxicidade

aos organismos não alvos, como os predadores naturais das larvas, quando comparado com o larvicida temefós (YOGARAJALAKSHMI et al., 2020). Por outro lado, a utilização dos conídios e blastóporas do fungo *Metarhizium brunneum* como larvicida foi testada por Alkhaibari et al. (2018), demonstrando toxicidade efetiva, porém causando efeitos negativos sobre a sobrevivência do predador natural do mosquito *Toxorhynchites brevipalpis* (ALKHAIBARI et al., 2018).

A infecção dos mosquitos com a bactéria *Wolbachia* tem demonstrado sucesso no controle populacional de *A. aegypti*. A transferência bacteriana aos mosquitos é realizada de maneira bem-sucedida, e causa incompatibilidade citoplasmática na reprodução entre um macho infectado e uma fêmea não infectada, acarretando na morte da prole (MCMENIMAN et al., 2009). Adicionalmente, um estudo demonstrou que a infecção dos mosquitos com essa bactéria também afeta a infecção dos mesmos com outros patógenos, como o vírus da dengue e chikungunya (MOREIRA et al., 2009).

A eficácia dessa técnica foi testada no Brasil, aplicando-a na cidade de Niterói, no Rio de Janeiro. A liberação de ovos infectados com *Wolbachia* em uma área de 2,53 km no bairro de Jurujuba entre agosto de 2015 e fevereiro de 2016 gerou taxa estável de alta infecção dos mosquitos, atingindo mais que 80% da população e apresentando refratariedade na infecção pelos vírus da dengue e Zika (GESTO et al., 2021). Outro estudo desenvolvido entre 2015-2016 também na cidade de Niterói, liberando mosquitos infectados com a bactéria em uma área aproximada de 83 km resultou em redução de 69%, 56% e 37% na incidência de dengue, chikungunya e Zika após três anos do início da liberação (PINTO et al., 2021).

Outra técnica bastante discutida é a técnica de mosquitos transgênicos, onde é realizada a soltura de machos transgênicos do mosquito no ambiente. Os machos são transfectados com um gene codificante da proteína tTAV, sendo em seguida liberados na natureza, e ao copular com fêmeas selvagem, geram uma prole que herda o gene inserido. Os altos níveis dessa proteína são deletérios às células do mosquito, uma vez que interfere na taxa de transcrição normal das mesmas. Para resultar em morte, a proteína precisa ser altamente expressa, tornando-se letal na fase larval do mosquito (CARVALHO, 2016; EMBRAPA, 2017).

Adicionalmente, algumas técnicas alternativas, como por exemplo o uso de músicas, também vêm sendo testadas. Um estudo determinou que a exposição à música eletrônica pode retardar o ataque do mosquito *Aedes aegypti* ao seu hospedeiro, além de reduzir a alimentação de sangue e interromper o acasalamento (DIENG et al., 2019).

Esses estudos indicam que alternativas ao uso de inseticidas são uma realidade, e devem ser mais exploradas em prol da conservação ambiental e da saúde dos seres humanos.

6 CONSIDERAÇÕES FINAIS

A partir da busca realizada, verificou-se a existência de centenas de estudos referentes aos efeitos da exposição de peixes ao malation, demonstrando uma ampla gama de implicações negativas ocasionadas sobre a sobrevivência, parâmetros fisiológicos, bioquímicos, estado oxidativo, reprodução, e atividade da AChE, que é a principal via de ação do inseticida, além de apresentar potencial genotóxico e acumulação em tecidos. A elaboração da tabela permitiu uma visão abrangente sobre as espécies afetadas e os efeitos causados, além de permitir mais facilmente a busca de informações desejadas acerca dos artigos estudados.

Dentro dos artigos estudados, verificou-se alguns ensaios com as concentrações limite estabelecidas pelo CONAMA para água potável e outros corpos hídricos, que resultaram mesmo assim em efeitos negativos sobre esses animais, apresentando risco ao ecossistema ao qual pertencem. Através de resultados observados de bioacumulação, ressalta-se também o risco apresentado aos humanos, que estão no topo da cadeia trófica.

Adicionalmente, foram encontrados na literatura estudos que demonstram a existência de compostos capazes de prevenir alguns efeitos nocivos do malation em algumas espécies de peixe, sendo eles a própolis, o pólen, o licopeno e o ácido elágico.

REFERÊNCIAS

ABDEL-HALIM, K. Y.; SALAMA, A. K.; EL-KHATEEB, E. N.; BAKRY, N. M. Organophosphorus pollutants (OPP) in aquatic environment at Damietta Governorate, Egypt: Implications for monitoring and biomarker responses. **Chemosphere**, v. 63, n. 9, p. 1491–1498, 2006.

ABDUL MAJEED, S.; NAMBI, K. S. N.; TAJU, G.; SUNDAR RAJ, N.; MADAN, N.; SAHUL HAMEED, A. S. Establishment and characterization of permanent cell line from gill tissue of *Labeo rohita* (Hamilton) and its application in gene expression and toxicology. **Cell Biology and Toxicology**, v. 29, n. 1, p. 59–73, 2013.

AKTAR, MD. W.; PARAMASIVAM, M.; SENGUPTA, D.; PURKAIT, S.; GANGULY, M.; BANERJEE, S. Impact assessment of pesticide residues in fish of Ganga river around Kolkata in West Bengal. **Environmental Monitoring and Assessment**, v. 157, n. 1–4, p. 97–104, 2009.

ALAM, M. K.; MAUGHAN, O. E. The effect of malathion, diazinon, and various concentrations of zinc, copper, nickel, lead, iron, and mercury on fish. **Biological Trace Element Research**, v. 34, n. 3, p. 225–236, 1992.

ALBUQUERQUE, A. F.; RIBEIRO, J. S.; KUMMROW, F.; NOGUEIRA, A. J. A.; MONTAGNER, C. C. UMBUZEIRO, G. A. Pesticides in Brazilian freshwaters: a critical review. **Environmental Science: Processes & Impacts**, v. 18, n. 7, p. 779–787, 2016.

ALKHAIBARI, A. M.; MAFFEIS, T.; BULL, J. C.; BUTT, T. M. Combined use of the entomopathogenic fungus, *Metarhizium brunneum*, and the mosquito predator, *Toxorhynchites brevipalpis*, for control of mosquito larvae: Is this a risky biocontrol strategy? **Journal of Invertebrate Pathology**, v. 153, p. 38–50, 2018.

ALVAREZ, M. DEL. C.; FUIMAN, L. A. Ecological performance of red drum (*Sciaenops ocellatus*) larvae exposed to environmental levels of the insecticide malathion. **Environmental Toxicology and Chemistry**, v. 25, n. 5, p. 1426–1432, 2006.

AMARANENI, S. R.; PILLALA, R. R. Concentrations of pesticide residues in tissues of fish from Kolleru Lake in India. **Environmental Toxicology**, v. 16, n. 6, p. 550–556, 2001.

ANSARI, B. A.; KUMAR, K. Malathion toxicity: In vivo inhibition of

acetylcholinesterase in the fish *Brachydanio rerio* (Cyprinidae). **Toxicology Letters**, v. 20, n. 3, p. 283–287, 1984.

ANVISA – Agência Nacional de Vigilância Sanitária. **Índice Monográfico do componente Malationa**. 2021. Disponível em: <<https://www.gov.br/anvisa/pt-br/setorregulado/regularizacao/agrotoxicos/monografias/monografias-autorizadas/m-n-o/4418json-file-1>>.

ANVISA – Agência Nacional de Vigilância Sanitária. **Resolução RE nº 2.475 de 08 de junho de 2012**. D.O.U. de 11/06/2012. Disponível em <<https://www.jusbrasil.com.br/diarios/37734172/dou-secao-1-11-06-2012-pg-41>>. Acesso em: 11 de jul. de 2021.

ARAÚJO, C. R. M.; SANTOS, V. D. A.; GONSALVES, A. A. Acetilcolinesterase-AChE: uma enzima de interesse farmacológico. **Revista Virtual de Química**, v. 8, n.6, p. 1818-1834. 2016.

AWASTHI, M.; SHAH, P.; DUBALE, M. S.; GADHIA, P. Metabolic changes induced by organophosphates in the piscine organs. **Environmental Research**, v. 35, n. 1, p. 320–325, 1984.

AZEVEDO-SANTOS, V. M.; VITULE, J. R. S.; PELICICE, F. M.; GARCÍA-BERTHO, E.; SIMBERLOFF, D. Nonnative Fish to Control *Aedes* Mosquitoes: A Controversial, Harmful Tool. **BioScience**, v. 67, n. 1, p. 84–90, 2017.

BABICH, H.; ROSENBERG, D. W.; BORENFREUND, E. In vitro cytotoxicity studies with the fish hepatoma cell line, PLHC-1 (*Poeciliopsis lucida*). **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 21, n. 3, p. 327–336, 1991.

BASHA, S. M.; RAO, K. S. P.; RAO, K. R. S. S.; RAO, K. V. R. Differential toxicity of malathion, BHC, and carbaryl to the freshwater fish, *Tilapia mossambica* (peters). **Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology**, v. 31, n. 5, p. 543–546, 1983.

BASHA, S. M.; RAO, K. S. P.; RAO, K. R. S. S.; RAO, K. V. R. Respiratory potentials of the fish (*Tilapia mossambica*) under malathion, carbaryl and lindane intoxication. **Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology**, v. 32, n. 1, p. 570–574, 1984.

BEAMAN, J. R.; FINCH, R.; GARDNER, H.; HOFFMAN, F.; ROSENCRANCE, A.; ZELIKOFF, J. T. Mammalian Immunoassays for Predicting the Toxicity of Malathion in a

Laboratory Fish Model. **Journal of Toxicology and Environmental Health**, Part A, v. 56, n. 8, p. 523–542, 1999.

BENDER, M. E. Uptake and Retention of Malathion by the Carp. **The Progressive Fish-Culturist**, v. 31, n. 3, p. 155–159, 1969.

BHARTI, S.; RASOOL, F. Analysis of the biochemical and histopathological impact of a mild dose of commercial malathion on *Channa punctatus* (Bloch) fish. **Toxicology Reports**, v. 8, p. 443–455, 2021.

BRASIL, 2016. **Lei nº 13.301, de 27 de junho de 2016**. Dispõe sobre a adoção de medidas de vigilância em saúde quando verificada situação de iminente perigo à saúde pública pela presença do mosquito transmissor do vírus da dengue, do vírus chikungunya e do vírus da zika; e altera a Lei no 6.437, de 20 de agosto de 1977. Disponível em: http://www.planalto.gov.br/ccivil_03/_Ato2015-2018/2016/Lei/L13301.htm. Acesso: 26 de outubro de 2021.

BRASIL, 2005. Ministério do Meio Ambiente. **Resolução CONAMA nº 357, de 15 de junho de 2005**. Dispõe sobre a classificação dos corpos de água e diretrizes ambientais para o seu enquadramento, bem como estabelece as condições e padrões de lançamento de efluentes, e dá outras providências.

BREWER, S. K.; LITTLE, E. E.; DELONAY, A. J.; BEAUVAIS, S. L.; JONES, S. B.; ELLERSIECK, M. R. Behavioral Dysfunctions Correlate to Altered Physiology in Rainbow Trout (*Oncorhynchus mykiss*) Exposed to Cholinesterase-Inhibiting Chemicals. **Archives of Environmental Contamination and Toxicology**, v. 40, n. 1, p. 70–76. 2001.

BRODEUR, J. C.; POLETTA, G. L.; SIMONIELLO, M. F.; CARRIQUIRIBORDE, P.; CRISTOS, D. S.; PAUTASSO, N.; PARAVANI, E.; POLISERPI, M. B.; D'ANDREA, M. F.; GONZALEZ, P. V.; ACA, V. L.; CURTO, A. E. The problem with implementing fish farms in agricultural regions: A trial in a pampean pond highlights potential risks to both human and fish health. **Chemosphere**, v. 262, p. 128408, 2021.

CALABRESE, E. J.; BALDWIN, L. A. U-Shaped Dose-Responses in Biology, Toxicology, and Public Health. **Annual Review of Public Health**, v. 22, n. 1, p. 15–33, 2001.

CARPENTER, P.L., In; Immunology and Serology. 3rd Ed. W.B. **Saunders Company**, Philadelphia, London, Toronto, p. 254 1975.

CARPES, S. T.; PRADO, A.; MORENO, I. A. M.; MOURÃO, G. B.; ALENCAR, S.

M De.; MASSON, M. L. Avaliação do potencial antioxidante do pólen apícola produzido na região sul do Brasil. **Química Nova**, v. 31, n. 7, p. 1660–1664, 2008.

CARVALHO, D. O. **Obtenção e caracterização de linhagem transgênica de *Aedes aegypti* machos geneticamente estéreis**. Tese (Doutorado em Biologia da Relação Patógeno-Hospedeiro) - Instituto de Ciências Biomédicas, University of São Paulo, São Paulo, 2016.

CCZ – CENTRO DE CONTROLE DE ZONÓSES – FOZ DO IGUAÇU. Fumacê. Diretoria de Comunicação Social da Prefeitura Municipal de Foz do Iguaçu. 2018. Disponível em: < <https://pmficomunicacao.wixsite.com/cczfoz/fumace>>. Acessado em 31/07/2021.

CENGİZ, E. I.; ÜNLÜ, E. Histopathology of Gills in Mosquitofish, *Gambusia affinis* After Long-Term Exposure to Sublethal Concentrations of Malathion. **Journal of Environmental Science and Health, Part B**, v. 38, n. 5, p. 581–589, 2003.

CHAGAS, I. M.; TEIXEIRA, N. R. B. Avaliação de riscos na bacia hidrográfica contribuinte a zona de captação do sistema de abastecimento de água do município de Formosa-GO. **XIV ENEEAmb, II Fórum Latino e I SBEA – Centro-Oeste**. Brasília, 2016.

CHATTERJEE, N. S.; BANERJEE, K.; UTTURE, S.; KAMBLE, N.; RAO, B. M.; PANDA, S. K.; MATHEW, S. Assessment of polyaromatic hydrocarbons and pesticide residues in domestic and imported pangasius (*Pangasianodon hypophthalmus*) fish in India: Assessment of chemical residue hazard in pangasius fish in India. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 96, n. 7, p. 2373–2377, 2016.

CHEN, X.; SHAO, J.; XIANG, L.; LIU, X. Involvement of apoptosis in malathion-induced cytotoxicity in a grass carp (*Ctenopharyngodon idellus*) cell line. **Comparative Biochemistry and Physiology Part C: Toxicology & Pharmacology**, v. 142, n. 1–2, p. 36–45, 2006.

COLEONE, A. C.; PAGANINI, W. da. S. **Avaliação da dissipação do inseticida malation utilizado em nebulização a ultrabaixo volume no controle da dengue: avaliação ecotoxicológica e de risco ambiental**. Universidade de São Paulo, São Paulo, 2014.

COOK, G. H.; MOORE, J. C. Determination of malathion, malaoxon, and mono- and dicarboxylic acids of malathion in fish, oyster, and shrimp tissue. **Journal of**

Agricultural and Food Chemistry, v. 24, n. 3, p. 631–634, 1976.

COOK, G. H.; MOORE, J. C.; COPPAGE, D. L. The relationship of malathion and its metabolites to fish poisoning. **Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology**, v. 16, n. 3, p. 283–290, 1976.

COOK, L. W.; PARADISE, C. J.; LOM, B. The pesticide malathion reduces survival and growth in developing zebrafish. **Environmental Toxicology and Chemistry**, v. 24, n. 7, p. 1745–1750, 2005.

DALVI, L. T. **Mecanismos de ação de antioxidantes de origem vegetal: estudo do polifenol ácido elágico e do extrato de caqui (*Diospyros kaki*)**. Dissertação (Mestrado em Nutrição) - Universidade de Brasília, Brasília, 2008.

DAVID, M.; SHIVAKUMAR, H. B.; RAMESH, H.; MARIGOUDAR, S. R.; NAIK, V. R. Hepatotoxic potential of Malathion in the freshwater teleost, *Cirrhinus mrigala* (Hamilton). **Journal of Basic and Clinical Physiology and Pharmacology**, v. 18, n. 4, 2007.

DE SOUZA, S. S.; MACHADO, R. N.; CUSTÓDIO DA COSTA, J.; et al. Severe damages caused by Malathion exposure in *Colossoma macropomum*. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 205, p. 111340, 2020.

DIETRICH, J. P.; VAN GAEST, A. L.; STRICKLAND, S. A.; ARKOOSH, M. R. The impact of temperature stress and pesticide exposure on mortality and disease susceptibility of endangered Pacific salmon. **Chemosphere**, v. 108, p. 353–359, 2014.

DIENG, H.; THE, C. C.; SATHO, T.; MIAKE, F.; WYDIAMALA, E.; KASSIM, N. F. A.; HASHIM, N. A.; VARGAS, R. E. M.; MORALES, N. P. The electronic song “Scary Monsters and Nice Sprites” reduces host attack and mating success in the dengue vector *Aedes aegypti*. **Acta Tropica**, v. 194, p. 93–99, 2019.

DOMANIK, A. M.; ZAR, J. H. The effect of malathion on the temperature selection response of the common shiner, *Notropis cornutus* (Mitchill). **Archives of Environmental Contamination and Toxicology**, v. 7, n. 1, p. 193–206, 1978.

DUAVI, W. C.; GAMA, A. F.; MORAIS, P. C. V.; OLIVEIRA, A. H. B.; NASCIMENTO, R. F.; CAVALCANTE, R. M. Contaminação de ambientes aquáticos por “agrotóxicos urbanos”: o caso dos rios Cocó e Ceará, Fortaleza – Ceará, Brasil. **Química Nova**, vol. XY, n. 00, p. 1 – 8, 2015.

DUTTA, H. M.; MUNSHI, J. S.; ROY, P. K.; et al. Ultrastructural changes in the

respiratory lamellae of the catfish, *Heteropneustes fossilis* after sublethal exposure to malathion. **Environmental Pollution (Barking, Essex: 1987)**, v. 92, n. 3, p. 329–341, 1996.

DUTTA, H. M.; NASSAR, S. S. T.; MUNSHI, J. S. D.; RICHMONDS, C. Behavioral changes in an air-breathing fish, *Anabas testudineus*, exposed to malathion. **Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology**, v. 52, n. 1, p. 80–86, 1994.

DUTTA, H. M.; NASAR, S. S. T.; MUNSHI, J. S. D.; RICHMONDS, C. R. Malathion induced changes in the optomotor behavior of an Indian carp, *Labeo rohita*. **Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology**, v. 49, n. 4, 1992.

EL-NAHHAL, Y. Toxicity of some aquatic pollutants to fish. **Environmental Monitoring and Assessment**, v. 190, n. 8, p. 449, 2018.

FINNEY, D.J.: Probit Analysis. Second edition, **Cambridge University press** 1964.

FISCHER, G.; HÜBNER, S. O.; VARGAS, G. D.; VIDOR, T. IMUNOMODULAÇÃO PELA PRÓPOLIS. **Arquivos do Instituto Biológico**, v. 75, n. 2, p. 247–253, 2008.

FMC. MALATHION UL FMC. Registrante/Formulador: FMC Química do Brasil Ltda. Av. Dr. José Bonifácio Coutinho Nogueira, 150, 1º A. Jd Madalena - Galleria Plaza, CEP: 13091-611, Campinas/SP, Brasil. 2021. **Bula de Defensivo Agrícola**. Disponível em: < <https://www.fmcagricola.com.br/Content/Fotos/Bula%20-%20Malathion%20UL.pdf>>.

FOOD AGRICULTURE ORGANIZATION (FAO). Compilation of legal limits for hazardous substances in fish and fisheries products. Circular No. 764. Rome: FAO. 1983. Disponível em: < <http://www.fao.org/3/q5114e/q5114e.pdf> >. Acesso em: 12/09/2021

FOOD AGRICULTURE ORGANIZATION (FAO). El estado mundial de la pesca y la acuicultura 2018. Roma: FAO. 2018. Disponível em: <<http://www.fao.org/documents/card/en/c/l9540ES/>>. Acesso em: 12/09/2021.

FREITAS, C. E. C.; SIQUEIRA-SOUZA, F. K. O uso de peixes como bioindicador ambiental em áreas de várzea da bacia amazônica. **Revista Agrogeoambiental**, v. 1, n. 2, 2009.

FRIEDRICH, K.; SOARES, V. E.; DA SILVA AUGUSTO, L. G.; et al. AGROTÓXICOS: mais venenos em tempos de retrocessos de direitos. **OKARA: Geografia em debate**, v. 12, n. 2, p. 326, 2018.

GESTO, J. S. M.; RIBEIRO, G. S.; ROCHA, M. N.; DIAS, F. B. S.; PEIXOTO, J.; CARVALHO, F. D.; PEREIRA, T. N.; MOREIRA, L. A. Reduced competence to arboviruses following the sustainable invasion of *Wolbachia* into native *Aedes aegypti* from Southeastern Brazil. **Scientific Reports**, v. 11, n. 1, p. 10039, 2021.

GONZÁLEZ, P. F.; LLANOS-RIVERA, A.; BAEZA, N. C.; PÉREZ, E. U. Xenobiotic-induced changes in the arginase activity of zebrafish (*Danio rerio*) eleutheroembryo. **Environmental Toxicology and Chemistry**, v. 30, n. 10, p. 2285–2291, 2011.

HAIDER, S.; INBARAJ, R. M. Relative toxicity of technical material and commercial formulation of malathion and endosulfan to a freshwater fish, *Channa punctatus* (Bloch). **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 11, n. 3, p. 347–351, 1987.

HERMANUTZ, R. O. Endrin and malathion toxicity to flagfish (*Jordanella floridae*). **Archives of Environmental Contamination and Toxicology**, v. 7, n. 1, p. 159–168, 1978.

HUCULECI, R.; DINU, D.; STAICU, A. C.; et al. Malathion-induced alteration of the antioxidant defence system in kidney, gill, and intestine of *Carassius auratus gibelio*. **Environmental Toxicology**, v. 24, n. 6, p. 523–530, 2008.

IMOSKI, R. **Avaliação da degradação do pesticida Malation comercial por processo UV/H₂O₂. Trabalho de Conclusão de Curso**. Universidade Tecnológica Federal do Paraná. Departamento Acadêmico de Química e Biologia. Curitiba, 2019.

INBARAJ, R. M.; HAIDER, S. Effect of malathion and endosulfan on brain acetylcholinesterase and ovarian steroidogenesis of *Channa punctatus* (bloch). **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 16, n. 2, p. 123–128, 1988.

ISLA, L. A. S. **O uso de peixes em estudos experimentais ecotoxicológicos "in situ", avaliando os efeitos da poluição aquática urbana em reservatórios. Tese de Doutorado. Universidade Federal de Minas Gerais**. Programa de Pós-Graduação em Ecologia, Conservação e Manejo da Vida Silvestre. Belo Horizonte, 2016.

INSTITUTO BRASILEIRO DO MEIO AMBIENTE E DOS RECURSOS RENOVÁVEIS - IBAMA. Relatórios de Comercialização de Agrotóxicos. 2020. Disponível em <<https://www.ibama.gov.br/relatorios/quimicos-e-biologicos/relatorios-de-comercializacao-de-agrotoxicos#boletinsanuais>>.

JEBALI, J.; BANNI, M.; GUERBEJ, H.; ALMEIDA, E. A.; BANNAOUI, A.; BOUSSETTA, H. Effects of malathion and cadmium on acetylcholinesterase activity and metallothionein levels in the fish *Seriola dumerilli*. **Fish Physiology and Biochemistry**, v. 32, n. 1, p. 93–98, 2006.

JOHNSON, J. WALLACE, K. B. Species-related differences in the inhibition of brain acetylcholinesterase by paraoxon and malaoxon. **Toxicology and Applied Pharmacology**, v. 88, n. 2, p. 234–241, 1987.

KANAZAWA, J. Uptake and excretion of organophosphorus and carbamate insecticides by fresh water fish, motsugo, *Pseudorasbora parva*. **Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology**, v. 14, n. 3, p. 346–352, 1975.

KANDIEL, M. M. M.; EL-ASELY, A. M.; RADWAN, H. A.; ABBASS, A. A. Modulation of genotoxicity and endocrine disruptive effects of malathion by dietary honeybee pollen and propolis in Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*). **Journal of Advanced Research**, v. 5, n. 6, p. 671–684, 2014.

KARMAKAR, S.; PATRA, K.; JANA, S.; MANDAL, D. P.; BHATTACHARJEE, S. Exposure to environmentally relevant concentrations of malathion induces significant cellular, biochemical and histological alterations in *Labeo rohita*. **Pesticide Biochemistry and Physiology**, v. 126, p. 49–57, 2016.

KOCABAŞ, M.; KUTLUYER, F.; BENZER, F.; ERIŞİR, M. Malathion-induced spermatozoal oxidative damage and alterations in sperm quality of endangered trout *Salmo coruhensis*. **Environmental Science and Pollution Research**, v. 25, n. 3, p. 2588–2593, 2018.

KUMAR, K.; ANSARI, B. A. Malathion toxicity: Effect on the liver of the fish *Brachydanio rerio* (cyprinidae). **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 12, n. 3, p. 199–205, 1986.

KUMAR, K.; ANSARI, B. A. Malathion toxicity: Skeletal deformities in zebrafish (*Brachydanio rerio*, cyprinidae). **Pesticide Science**, v. 15, n. 2, p. 107–111, 1983.

KUMAR, R.; NAGPURE, N. S.; KUSHWAHA, B.; SRIVASTAVA, S. K.; LAKRA, W. S. Investigation of the Genotoxicity of Malathion to Freshwater Teleost Fish *Channa punctatus* (Bloch) Using the Micronucleus Test and Comet Assay. **Archives of Environmental Contamination and Toxicology**, v. 58, n. 1, p. 123–130, 2010.

LAL, B.; SARANG, M. K.; KUMAR, P. Malathion exposure induces the endocrine disruption and growth retardation in the catfish, *Clarias batrachus* (Linn.). **General and Comparative Endocrinology**, v. 181, p. 139–145, 2013.

LEANDRO, A. DE S.; RIOS, J. A.; BRITTO, A. DA S.; GALVÃO, S. R.; LOPES, R. D.; RIVAS, A. V.; MARTINS, C. A.; DA SILVA, I.; DELAI, R. M.; GONÇALVES, D. D.; DA SILVA, M. A. M.; PALACIO-CORTÈS, A. M.; SCHUARTZ, V.; SIBIM, A. C.; DE CASTRO, W. A. C. Malathion insecticide resistance in *Aedes aegypti*: laboratory conditions and in situ experimental approach through adult entomological surveillance. **Tropical Medicine & International Health**, v. 25, n. 10, p. 1271–1282, 2020.

LIMA, E. **Mosquito modificado geneticamente é nova arma de combate ao Aedes**. EMBRAPA, 2017. Disponível em: <<https://www.embrapa.br/busca-de-noticias/-/noticia/30525791/mosquito-modificado-geneticamente-e-nova-arma-de-combate-ao-aedes>>.

LIEN, N. T. H.; ADRIAENS, D.; JANSSEN, C. R. Morphological abnormalities in african catfish (*Clarias Garieupinus*) larvae exposed to malathion. **Chemosphere**, v. 35, n. 7, p. 1475–1486, 1997.

LINS, J. A. P. N.; KIRSCHNIK, P. G.; QUEIROZ, V. S.; CIRIO, S. M. Uso de peixes como biomarcadores para monitoramento ambiental aquático. **Revista Acadêmica: Ciência Animal**, v. 8, n. 4, p. 469, 2010.

LUDKE, L., FINLEY, M. T., AND LUSK, C. Toxicity of mirex to cray fish, *Procambarus biandizingi*. **Bulletin of Environmental Contaminants Toxicology**, v. 6, p. 89-96, 1971.

MAGALHÃES, D. P.; FILHO, A. S. F. A ecotoxicologia como ferramenta no biomonitoramento de ecossistemas aquáticos. **Oecologia. Brasiliensis.**, v.12, n.3, p.355-381, 2008.

MALHAT, F.; NASR, I. Organophosphorus Pesticides Residues in Fish Samples from the River Nile Tributaries in Egypt. **Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology**, v. 87, n. 6, p. 689–692, 2011.

MCCARTHY, I. D.; FUIMAN, L. A. Growth and protein metabolism in red drum (*Sciaenops ocellatus*) larvae exposed to environmental levels of atrazine and malathion. **Aquatic Toxicology**, v. 88, n. 4, p. 220–229, 2008.

MCMENIMAN, C. J.; LANE, R. V.; CASS, B. N.; FONG, A. W. C.; SIDHU, M.; WANG, Y.; O'NEILL, S. L. Stable Introduction of a Life-Shortening *Wolbachia* Infection into the Mosquito *Aedes aegypti*. **Science**, v. 323, n. 5910, p. 141–144, 2009.

MELLO, N. P. DE; CARVALHO, A. C. C. DE; SANTAROSSA, M. A. DA S.; MACHADO, A. A.; NETO, J. G. M. Toxicidade aguda e risco ambiental do malathion aplicado em nebulização contra *Aedes aegypti* para organismos aquáticos / Acute toxicity and environmental risk of malathion applied in nebulization against *Aedes aegypti* for aquatic organisms. **Brazilian Journal of Animal and Environmental Research**, v. 4, n. 1, p. 571–578, 2021.

MILAM, C. D.; FARRIS, J. L. WILHI, J. D. Evaluating Mosquito Control Pesticides for Effect on Target and Nontarget Organisms. **Archives of Environmental Contamination and Toxicology**, v. 39, n. 3, p. 324–328, 2000.

MISHRA, J.; SRIVASTAVA, A. K. Malathion induced hematological and biochemical changes in the Indian catfish *Heteropneustes fossilis*. **Environmental research**, v. 30, n. 2, p. 393–398, 1983.

MOREIRA, J. C.; PERES, F.; SIMÕES, A. C.; PIGNATI, W. A.; DORES, E. C.; VIEIRA, S. N.; STRUSSMANN, C.; MOTT, T. Contaminação de águas superficiais e de chuva por agrotóxicos em uma região do estado do Mato Grosso. **Ciência e Saúde Coletiva**, v. 17(6), p. 1557 – 1568, 2012.

MOREIRA, L. A.; ITURBE-ORMAETXE, I.; JEFFERY, J. A.; LU, G.; PYKE, A. T.; HEGDES, L. M.; ROCHA, B. C.; HALL-MENDELIN, S.; DAY, A.; RIEGLER, M.; HUGO, L. E.; JOHNSON, K. N.; KAY, B. H.; MCGRAW, L. A.; VAN DEN HURK, A. F.; RYAN, P. A.; O'NEILL, S. L. A *Wolbachia* Symbiont in *Aedes aegypti* Limits Infection with Dengue, Chikungunya, and Plasmodium. **Cell**, v. 139, n. 7, p. 1268–1278, 2009.

MOTA, W. M.; BARROS, M. L.; CUNHA, P. E. L.; SANTANA, M.V.A.; STEVAM, C.S.; LEOPOLDO, P.T.G., FERNANDES, R.P.M. Avaliação da inibição da acetilcolinesterase por extratos de plantas medicinais. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, v. 14, n. 4, p. 624–628, 2012.

MOUNT, D. I.; STEPHAN, C. E. A Method for Establishing Acceptable Toxicant Limits for Fish—Malathion and the Butoxyethanol Ester of 2,4-D. **Transactions of the American Fisheries Society**, v. 96, n. 2, p. 185–193, 1967.

MURPHY, S. D.; LAUWERYS, R. R.; CHEEVER, K. L. Comparative anticholinesterase action of organophosphorus insecticides in vertebrates. **Toxicology and Applied Pharmacology**, v. 12, n. 1, p. 22–35, 1968.

NAQVI, S. M.; HAWKINS, R. Toxicity of selected insecticides (Thiodan, Security, Spartan, and Sevin) to mosquitofish, *Gambusia affinis*. **Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology**, v. 40, n. 5, p. 779–784, 1988.

NGUYEN, L. T. H.; JANSSEN, C. R. Comparative sensitivity of embryo-larval toxicity assays with African catfish (*Clarias gariepinus*) and zebra fish (*Danio rerio*). **Environmental Toxicology**, v. 16, n. 6, p. 566–571, 2001.

NGUYEN, L. T. H. JANSSEN, C. R. Embryo-Larval Toxicity Tests with the African Catfish (*Clarias gariepinus*): Comparative Sensitivity of Endpoints. **Archives of Environmental Contamination and Toxicology**, v. 42, n. 2, p. 256–262, 2002.

ORTIZ, B. **Fumacê é considerado medida de baixa eficácia contra dengue, diz especialista**. G1 – DF, 2019. Disponível em < <https://g1.globo.com/df/distrito-federal/noticia/2019/06/17/fumace-e-considerado-medida-de-baixa-eficacia-contradengue-diz-especialista.ghtml>>. Acesso em: 13 de set. de 2021.

ORTIZ-DELGADO, J. B.; FUNES, V.; ALBENDÍN, G.; SCALA, E.; SARASQUETE, C. Toxicity of malathion during Senegalese sole, *Solea senegalensis* larval development and metamorphosis: Histopathological disorders and effects on type B esterases and CYP1A enzymatic systems. **Environmental Toxicology**, v. 36, n. 9, p. 1894–1910, 2021.

OSFOR, M. M.; ABD EL WAHAB, A. M.; EL DESSOUKI, S. A. Occurrence of pesticides in fish tissues, water and soil sediment from Manzala Lake and River Nile. **Die Nahrung**, v. 42, n. 1, p. 39–41, 1998.

PANDEY, S.; KUMAR, R.; SHARMA, S.; NAGPURE, N. S.; SRIVASTAVA, S. K.; VERMA, M. S. Acute toxicity bioassays of mercuric chloride and malathion on air-breathing fish *Channa punctatus* (Bloch). **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 61, n. 1, p. 114–120, 2004.

PATIL, V. K.; DAVID, M. Behavioral and morphological endpoints: as an early response to sublethal malathion intoxication in the freshwater fish, *Labeo rohita*. **Drug and Chemical Toxicology**, v. 33, n. 2, p. 160–165, 2010.

PATIL, V. K.; DAVID, M. Behavioural and respiratory dysfunction in the freshwater fish, *Labeo rohita* (Hamilton) under malathion intoxication. **Journal of Basic and Clinical Physiology and Pharmacology**, v. 19, n. 2, 2008.

PATIL, V. K.; DAVID, M. Oxidative stress in freshwater fish, *Labeo rohita* as a biomarker of malathion exposure. **Environmental Monitoring and Assessment**, v. 185, n. 12, p. 10191–10199, 2013.

PEDRAJAS, J. R.; PEINADO, J.; LÓPEZ-BAREA, J. Oxidative stress in fish exposed to model xenobiotics. Oxidatively modified forms of Cu,Zn-superoxide dismutase as potential biomarkers. **Chemico-Biological Interactions**, v. 98, n. 3, p. 267–282, 1995.

PELIS, F. M.; RONA, M. S. S.; MATIOLI, G. O LICOPENO E SUAS CONTRIBUIÇÕES NA PREVENÇÃO DE DOENÇAS. **Arquivos do Mudi**, v. 11, n. 3, p. 5–11, 2013.

PETRONILHO, E. C.; PINTO, A. C.; VILLAR, J. D. F. Acetilcolinesterase: Alzheimer e guerra química. **Ciência e Tecnologia**, p. 3-14, 2011.

PICKERING, Q. H.; HENDERSON, C.; LEMKE, A. E. The Toxicity of Organic Phosphorus Insecticides to Different Species of Warmwater Fishes. **Transactions of the American Fisheries Society**, v. 91, n. 2, p. 175–184, 1962.

PINTO, S. B.; RIBACK, T. I. S.; SYLVESTRE, G.; COSTA, G.; PEIXOTO, J.; DIAS, F. B. S.; TANAMAS, S. K.; SIMMONS, S. P.; DUFAULT, S. M.; RYAN, P. A.; O'NEILL, S. L.; MUZZI, F. C.; KUTCHER, S.; MONTGOMERY, J.; GREEN, B. R.; SMITHYMAN, R.; EPPINGHAUS, A.; SARACENI, V.; DUROVNI, B.; ANDERS, K. L.; MOREIRA, L. A. Effectiveness of Wolbachia-infected mosquito deployments in reducing the incidence of dengue and other Aedes-borne diseases in Niterói, Brazil: A quasi-experimental study. **PLOS Neglected Tropical Diseases**, v. 15, n. 7, p. e0009556, 2021.

POSSAVATZ, J. **Determinação de resíduos de pesticidas, em amostras de água e sedimento, na bacia hidrográfica do Rio Cuiabá, Mato Grosso**. Dissertação de Mestrado. Universidade Federal do Mato Grosso. Programa de Pós Graduação em Recursos Hídricos. Cuiabá, 2013.

PUBCHEM. U.S National Library of Medicine. National Center for Biotechnology Information. Compound Summary Malathion. Disponível em: <<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Malathion>>. Acesso em: 2021.

QUEIROZ, P. R.; OLIVEIRA, A. M. B. M. de; COELHO, L. F. de; Intoxicações por agrotóxicos notificadas pelo Departamento de Vigilância em Saúde de Sousa-PB. **Revista Verde de Agroecologia e Desenvolvimento Sustentável**, vol. 9, no 5, dezembro de 2014, p. 102–08.

RANGEL, C. F.; ROSA, A. C. S.; SARCINELLI, P. N. Uso de agrotóxicos e suas implicações na exposição ocupacional e contaminação ambiental. **Cadernos Saúde Coletiva**, v.19, n.4, p. 435-42-435, 2011.

REED N. R.; RUBIN, A. L. Malathion, In: WEXLER, P. **Encyclopedia of Toxicology (Third Edition)**. Elsevier/Academic Press. 2014. p. 133-137.

RIBEIRO, N. U. F.; AMÉRICO-PINHEIRO, J. H. P. Peixes como bioindicadores de agrotóxicos em ambientes aquáticos. **Revista Científica ANAP Brasil**, v. 11, n. 22, 2018.

RICO, A.; WAICHMAN, A. V.; GEBER-CORRÊA, R.; VAN DEN BRINK, P. J. Effects of malathion and carbendazim on Amazonian freshwater organisms: comparison of tropical and temperate species sensitivity distributions. **Ecotoxicology**, v. 20, n. 4, p. 625–634, 2011.

RODRÍGUEZ-ARIZA, A.; ALHAMA, J.; DÍAZ-MÉNDEZ, F. M.; LÓPEZ-BAREA, J. Content of 8-oxodG in chromosomal DNA of *Sparus aurata* fish as biomarker of oxidative stress and environmental pollution. **Mutation Research/Genetic Toxicology and Environmental Mutagenesis**, v. 438, n. 2, p. 97–107, 1999.

RODRÍGUEZ-ARIZA, A.; DIAZ-MÉNDEZ, F. M.; NAVAS, J. I.; PUEYO, C.; LÓPEZ-BAREA, J. Metabolic activation of carcinogenic aromatic amines by fish exposed to environmental pollutants. **Environmental and Molecular Mutagenesis**, v. 25, n. 1, p. 50–57, 1995.

RUIZ-LEAL, M.; GEORGE, S. An in vitro procedure for evaluation of early stage oxidative stress in an established fish cell line applied to investigation of PHAH and pesticide toxicity. **Marine Environmental Research**, v. 58, n. 2–5, p. 631–635, 2004.

SAHIB, I. K. A.; RAO, K. V. R. Toxicity of malathion to the freshwater fish *Tilapia mossombica*. **Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology**, v. 24, n. 1, p. 870–874, 1980.

SAHIB, I. K. A.; RAO, K. S. P.; RAO, K. R. S. S.; RAO, K. V. R. Sublethal toxicity of malathion on the proteases and free amino acid composition in the liver of the teleost,

Tilapia mossambica (peters) as measured through incorporation of [14c]amino acids. **Toxicology Letters**, v. 20, n. 1, p. 59–62, 1984b.

SAHIB, I. K. A.; RAO, K. R. S. S.; RAO, K. V. R. Effect of malathion on protein synthetic potentiality of the tissues of the teleost, *Tilapia mossambica* (peters), as measured through incorporation of [14c]amino acids. **Toxicology Letters**, v. 20, n. 1, p. 63–67, 1984a.

SAPOZHNIKOVA, Y.; BAWARDI, O.; SCHLENK, D. Pesticides and PCBs in sediments and fish from the Salton Sea, California, USA. **Chemosphere**, v. 55, n. 6, p. 797–809, 2004.

SAPOZHNIKOVA, Y.; ZUBCOV, N.; HUNGERFORD, S.; ROY, L. A.; BOICENCO, N.; ZUBCOV, E.; SCHLENK, D. Evaluation of pesticides and metals in fish of the Dniester River, Moldova. **Chemosphere**, v. 60, n. 2, p. 196–205, 2005.

SAXENA, P. K.; SINGH, V. P.; KONDAL, J. K.; SONI, G. L. Effect of some pesticides on in-vitro lipid and protein synthesis by the liver of the freshwater teleost, *Channa punctatus* (Bl.). **Environmental Pollution**, v. 58, n. 4, p. 273–280, 1989.

SCARDOELLI, M. G. C.; BURIOLA, A. A.; OLIVEIRA, M. L. F. De.; WAIDMAN, M. A. P.; Intoxicações por agrotóxicos notificadas na 11a regional de saúde do estado do Paraná. **Ciência, Cuidado e Saúde**, v. 10, n. 3, p. 549-555, 2011.

SCHMITT, C.; MCMANUS, M.; KUMAR, N.; AWOYEMI, O.; CRAGO, J. Comparative analyses of the neurobehavioral, molecular, and enzymatic effects of organophosphates on embryo-larval zebrafish (*Danio rerio*). **Neurotoxicology and Teratology**, v. 73, p. 67–75, 2019.

SCHOLZ, N. L.; TRUELOVE, N. K.; LABENIA, J. S.; BALDWIN, D. H.; COLLIER, T. K. Dose-additive inhibition of chinook salmon acetylcholinesterase activity by mixtures of organophosphate and carbamate insecticides. **Environmental Toxicology and Chemistry**, v. 25, n. 5, p. 1200, 2006.

SHAMI, N. J. I. E.; MOREIRA, E. A. M. Licopeno como agente antioxidante. **Revista de Nutrição**, v. 17, n. 2, p. 227–236, 2004.

SHAO-NAN, L.; DE-FANG, F. Correlation Between Biochemical Parameters and Susceptibility of Freshwater Fish to Malathion. **Journal of Toxicology and Environmental Health**, v. 48, n. 4, p. 413–418, 1996.

SILVA, H. P. Da; **Os riscos dos agrotóxicos na saúde e no ambiente: estudo**

de caso na zona rural de Ipangaçu/RN. Trabalho de Conclusão de Curso. Instituto Federal do Rio Grande do Norte – Campus Ipangaçu. Coordenação do Curso Superior Tecnologia em Agroecologia. 2017.

SILVA, M; CAMPOS, A. C. E. De.; BOHM, F. Z. Agrotóxicos e seus impactos sobre ecossistemas aquáticos e continentais. **SaBios: Revista de Saúde e Biologia**. v. 8, n. 2, p. 46-58. 2013.

SINGH, V. P.; GUPTA, S.; SAXENA, P. K. Evaluation of acute toxicity of carbaryl and malathion to freshwater teleosts, *Channa punctatus* (Bloch) and *Heteropneustes fossilis* (Bloch). **Toxicology Letters**, v. 20, n. 3, p. 271–276, 1984.

SINGH, H.; SINGH, T. P. Short-term Effect of Two Pesticides on the Survival, Ovarian 32p Uptake and Gonadotrophic Potency in a Freshwater Catfish, *Heteropneustes Fossilis* (Bloch). **Journal of Endocrinology**, v. 85, n. 2, p. 193–199, 1980.

SINGH, S. K.; TRIPATHI, P. K.; YADAV, R. P.; SINGH, D.; SINGH, A. Toxicity of Malathion and Carbaryl Pesticides: Effects on Some Biochemical Profiles of the Freshwater Fish *Colisa fasciatus*. **Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology**, v. 72, n. 3, p. 592–599, 2004.

STURVE, J.; SCARLET, P.; HALLING, M.; KREUGER, J.; MACIA, A. Environmental monitoring of pesticide exposure and effects on mangrove aquatic organisms of Mozambique. **Marine Environmental Research, 18th International Symposium on Pollutant Responses in Marine Organisms (PRIMO18)**., v. 121, p. 9–19, 2016.

THENMOZHI, C.; VIGNESH, V.; THIRUMURUGAN, R.; ARUN S. Impacts of malathion on mortality and biochemical changes of freshwater fish *Labeo rohita*. **Iranian Journal of Environmental Health Science Engineering**, v. 8, n.4, p. 325–332. 2011.

TSUDA, T.; KOJIMA, M.; HARADA, H.; NAKAJIMA, A.; AOKI, S. Acute toxicity, accumulation and excretion of organophosphorous insecticides and their oxidation products in killifish. **Chemosphere**, v. 35, n. 5, p. 939–949, 1997.

ULLAH, S.; LI, Z.; HASAN, Z.; KHAN, S. U.; FAHAD, S. Malathion induced oxidative stress leads to histopathological and biochemical toxicity in the liver of rohu (*Labeo rohita*, Hamilton) at acute concentration. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 161, p. 270–280, 2018.

UNO, S.; SHINTOYO, A.; KOKUSHI, E.; YAMAMOTO, M. NAKAYAMA, K.

KOYAMA, J. Gas chromatography–mass spectrometry for metabolite profiling of Japanese medaka (*Oryzias latipes*) juveniles exposed to malathion. **Environmental Science and Pollution Research**, v. 19, n. 7, p. 2595–2605, 2012.

URAL, M. Ş.; YONAR, M. E.; YONAR, S. M. Protective effect of ellagic acid on oxidative stress and antioxidant status in *Cyprinus carpio* during malathion exposure. **Cellular & Molecular Biology**, v. 61, n. 5, p. 58-63, 2015.

VENTURA, A. L. M.; ABREU, P. A.; FREITAS, R. C. C.; SATHLER, P. C.; LOUREIRO, N.; CASTRO, H. C. Sistema colinérgico: revisitando receptores, regulação e a relação com a doença de Alzheimer, esquizofrenia, epilepsia e tabagismo. **Archives of Clinical Psychiatry (São Paulo)**, v. 37, n. 2, p. 66–72, 2009.

WAICHMAN, A. V. A problemática do uso de agrotóxicos no Brasil: a necessidade de construção de uma visão compartilhada por todos os atores sociais. **Revista Brasileira de Saúde Ocupacional**, v. 37, n. 125, p. 42–47, 2012.

WANG, W.-X. Bioaccumulation and Biomonitoring. **Marine Ecotoxicology**. p.99–119, 2016. Elsevier. Disponível em: <<https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/B9780128033715000047>>. Acesso em: 4/7/2021.

YADAV, A. K.; SINGH, T. P. Effect of pesticide on circulating thyroid hormone levels in the freshwater catfish, *Heteropneustes fossilis* (Bloch). **Environmental Research**, v. 39, n. 1, p. 136–142, 1986.

YADAV, A. K.; SINGH, T. P. Pesticide-induced impairment of thyroid physiology in the freshwater catfish, *Heteropneustes fossilis*. **Environmental Pollution**, v. 43, n. 1, p. 29–38, 1987.

YOGARAJALAKSHMI, P.; VENUGOPAL POONGUZHALI, T.; GANESAN, R.; KARTHI, S. SENTHIL-NATHAN, S.; KRUTMUANG, P.; RADHAKRISHNAN, N.; MOHAMMAD, F.; KIM, T.; VASANTHA-SRINIVASAN, P. Toxicological screening of marine red algae *Champia parvula* (C. Agardh) against the dengue mosquito vector *Aedes aegypti* (Linn.) and its non-toxicity against three beneficial aquatic predators. **Aquatic Toxicology**, v. 222, p. 105474, 2020.

YONAR, S. M. Toxic effects of malathion in carp, *Cyprinus carpio carpio*: Protective role of lycopene. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 97, p. 223–229,

2013.

YONAR, S. M.; URAL, M. Ş.; SILICI, S.; YONAR, M. E. Malathion-induced changes in the haematological profile, the immune response, and the oxidative/antioxidant status of *Cyprinus carpio carpio*: **Protective role of propolis. Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 102, p. 202–209, 2014.

ZHAO, Y.; WANG, X.; LIN, X.; ZHAO, S.; LIN, J. Comparative developmental toxicity of eight typical organic pollutants to red sea bream (*Pagrosomus major*) embryos and larvae. **Environmental Science and Pollution Research**, v. 24, n. 10, p. 9067–9078, 2017.

ZHOU, Q.; ZHANG, J.; FU, J.; SHI, J.; JIANG, G. Biomonitoring: An appealing tool for assessment of metal pollution in the aquatic ecosystem. **Analytica Chimica Acta**, v. 606, n. 2, p. 135–150, 2008.