

**INSTITUTO FEDERAL DE EDUCAÇÃO, CIÊNCIA E TECNOLOGIA DE SÃO
PAULO
CAMPUS BARRETOS
LICENCIATURA EM CIÊNCIAS BIOLÓGICAS**

GABRIELY FERNANDA GROTO MILITÃO

**EFEITO DA EXPOSIÇÃO SUBLETAL DE FIPRONIL 800 WG DA
NORTOX POR 96 HORAS E DA RECUPERAÇÃO DE SETE DIAS NO
METABOLISMO ENERGÉTICO DE GIRINOS DE *Lithobates*
catesbeianus (SHAW, 1802)**

TRABALHO DE CONCLUSÃO DE CURSO

BARRETOS

2021

GABRIELY FERNANDA GROTO MILITÃO

**EFEITO DA EXPOSIÇÃO SUBLETAL DE FIPRONIL 800 WG DA
NORTOX POR 96 HORAS E DA RECUPERAÇÃO EM SETE DIAS NO
METABOLISMO ENERGÉTICO DE GIRINOS DE *Lithobates*
catesbeianus (SHAW, 1802)**

Trabalho de Conclusão de Curso apresentada como requisito parcial à obtenção do título de Licenciado em Ciências Biológicas, do Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia de São Paulo, Campus Barretos.

Orientador: Prof . Dr . Rodrigo Yamakami Camilo
Co-orientador: Prof (a). Dr (a). Rodrigo Zieri

BARRETOS

2021

M664e Militão, Gabriely Fernanda Groto

Efeito da exposição subletal de Fipronil 800 WG da Nortox por 96 horas e da recuperação de sete dias no metabolismo energético de girinos de *Lithobates catesbeianus* (SHAW, 1802) / Gabriely Fernanda Groto Militão. – 2021.

60 f. : il.; 30 cm

Trabalho de conclusão de curso (Licenciatura em Ciências Biológicas) - Instituto Federal de São Paulo - Campus Barretos, 2021.

Orientação: Prof. Dr. Rodrigo Yamakami Camilo

Co-orientação: Prof. Dr. Rodrigo Zieri

1.Ecotoxicologia. 2.Fipronil. 3.Metabolismo energético. 4. *Lithobates catesbeianus*. I.Título.

CDD: 631.4

Dedico este trabalho à minha mãe, Regiane, e à minha avó, Maria, sem elas nada disso seria possível.

AGRADECIMENTOS

A minha família, em especial minha mãe e avó, que sempre estiveram ao meu lado me fortalecendo e incentivando. Sem elas, a vida seria mais difícil. Aos meus amigos de faculdade, especialmente minhas colegas Sabrina e Gislaine, por facilitarem os momentos mais difíceis dessa jornada com leveza, risadas e afeto. A minha grande amiga e irmã de coração, Laodicéia, que me ouviu todas às vezes que precisei e me apoiou desde o começo. A Letícia, que sempre esteve presente e me ajudou a prosseguir com meu sonho. Ao professor, Rodrigo Zieri, que acreditou e confiou em mim desde o primeiro ano de faculdade. Ao meu orientador, Rodrigo Yamakami Camilo, pela orientação, apoio e confiança para construção desse trabalho. E aos demais professores, que sempre proporcionaram desafios para que essa jornada fosse rica em conhecimentos e sabedorias, na ciência e na vida. Obrigada a todos.

“É dito que algo tão pequeno como o bater das asas de uma borboleta pode causar um tufão do outro lado do mundo”.

Teoria do Caos.

RESUMO

Diversos fatores ambientais podem causar efeitos nocivos no comportamento, fisiologia e até mesmo em materiais genéticos, o que pode causar alterações no tamanho das populações dos organismos. Neste contexto, características específicas dos anfíbios, como permeabilidade da pele e ciclo de vida dependente tanto do ambiente aquático quanto do terrestre, os tornam muito vulneráveis às variações ambientais, dando a esses animais status de marcadores da qualidade do ambiente. Dentre os contaminantes aquáticos estão os agrotóxicos, como o fipronil. A presença dessa substância no ambiente está fortemente relacionada com o uso deste inseticida na lavoura para controlar pragas em diversas culturas, como cana-de-açúcar, milho, algodão, batata e soja. Neste trabalho, foram avaliadas as alterações no metabolismo energético dos tecidos hepáticos e muscular da cauda de girinos de *Lithobates catesbeianus*, espécie exótica na América do Sul, sob exposição crônica das concentrações 0,00 mg/L, 0,04 mg/L, 0,08 mg/L e 0,4 mg/L do inseticida Fipronil 800 WG da Nortox no período 96 horas e a recuperação de sete dias dos indivíduos. Os resultados observados apresentam a redução significativa de glicose e glicogênio nos animais, ressalvas pequenas oscilações crescentes, mas ainda diminutas. A degradação de triglicerídeos também foi observadas nos tecidos musculares, a fim de proporcionar a produção de moléculas de ATP. O perfil protéico também obteve resultados significantes, proporcionados possivelmente pelo processo de hidrólise proteica e síntese de proteínas. Perante a esses resultados, é possível destacar que o metabolismo energético de *L. catesbeianus* expostos ao Fipronil 800 WG da Nortox, responde de diversas maneiras para obter regulação a hiperglicemia, proporcionada pelo xenobiótico.

Palavras-chave: Ecotoxicologia. Fipronil. Metabolismo energético. Girinos. *Lithobates catesbeianus*.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1 – Esquema da estrutura molecular da molécula de Fipronil	15
Figura 2 – Representação das vias de Degradação do Fipronil no meio ambiente	16
Figura 3 – Representação esquemática do modo de ação do fipronil em organismos artrópodes.....	17
Figura 4 – Rã-touro adulta.....	19
Figura 5 – Girino rã-touro	19
Figura 6 – Representação esquemática da distribuição dos animais nos aquários para compor os em oito grupos experimentais	21
Figura 7 – Representação esquemática do desenho experimental	22
Figura 8 – Foto mostrando os recipientes divididos nos grupos experimentais. Da esquerda para direita, (G2) tratamento 0,04 mg/L, (G3) tratamento 0,08 mg/L e (G4) tratamento 0,4 mg/L e (G1) controle em exposição de 96h	23
Figura 9 – Foto contendo os grupos com os animais que permaneceram em recuperação por sete dias. Da esquerda para direita, (G2) tratamento 0,04 mg/L, (G3) tratamento 0,08 mg/L e (G4) tratamento 0,4 mg/L e (G1) controle em recuperação de sete dias em água limpa.....	23
Figura 10 – Foto mostrando a porção de músculo caudal utilizado para as análises	24
Figura 11 – Concentração de glicose (mg/ g de tecido) de fígado e musculo caudal de <i>L. Catesbeianus</i> submetidos a diferentes concentraçõese de Fipronil 800 WG por 96 horas. Letras diferentes no mesmo grupo de tecido representam medias estatisticamente diferentes para $p < 0,05$. Os valores estão expressos como Média± D.P.M. (n=9)	29
Figura 12 – Concentração de glicose (mg/ g de tecido) de fígado e músculo caudal de <i>L. Catesbeianus</i> s que passaram pelo período de recuperação de sete dias após a exposição crónica de Fipronil 800 WG por 96 horas. Letras diferentes no mesmo grupo de tecido representam medias estatisticamente diferentes para $p < 0,05$. Os valores estão expressos como Média± D.P.M. (n=9)	30
Figura 13 – Concentração de glicogênio (mg/ g de tecido) de fígado e musculo caudal de <i>L. Catesbeianus</i> submetidos a diferentes concentraçõese de Fipronil 800 WG por 96 horas. Letras diferentes no mesmo grupo de tecido representam medias estatisticamente diferentes para $p < 0,05$. Os valores estão expressos como Média± D.P.M. (n=9)	31
Figura 14 – Concentração de glicogênio (mg/ g de tecido) de fígado e musculo caudal de <i>L. Catesbeianus</i> submetidos a diferentes concentraçõese de Fipronil 800 WG por 96 horas. Letras diferentes no mesmo grupo de tecido representam medias estatisticamente diferentes para $p < 0,05$. Os valores estão expressos como Média± D.P.M. (n=9)	32
Figura 15 – Concentração de triglicerídeos (mg/ g de tecido) de fígado e musculo caudal de <i>L. Catesbeianus</i> submetidos a diferentes concentraçõese de Fipronil 800 WG por 96 horas. Letras diferentes no mesmo grupo de tecido representam medias estatisticamente diferentes para $p < 0,05$. Os valores estão expressos como Média± D.P.M. (n=9)	33
Figura 16 – Concentração de triglicerídeos (mg/ g de tecido) de fígado e músculo caudal de <i>L. Catesbeianus</i> s que passaram pelo período de recuperação de sete dias após a exposição crónica de Fipronil 800 WG por 96 horas. Letras diferentes no mesmo grupo de tecido representam medias estatisticamente diferentes para $p < 0,05$. Os valores estão expressos como Média± D.P.M. (n=9)	34
Figura 17 – Concentração de proteínas totais (mg/ g de tecido) de fígado e musculo caudal de <i>L. Catesbeianus</i> submetidos a diferentes concentraçõese de Fipronil 800 WG por 96 horas. Letras diferentes no mesmo grupo de tecido representam medias estatisticamente diferentes para $p < 0,05$. Os valores estão expressos como Média± D.P.M. (n=9)	36
Figura 18 – Concentração de proteínas totais (mg/ g de tecido) de fígado e músculo caudal de	

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

<i>L. Catesbeianus</i> s que passaram pelo período de recuperação de sete dias após a exposição crónica de Fipronil 800 WG por 96 horas. Letras diferentes no mesmo grupo de tecido representam medias estatisticamente diferentes para $p < 0,05$. Os valores estão expressos como Média \pm D.P.M. (n=9)	37
Figura 19 – Concentração de aminoácidos livres ($\mu\text{mol/ g}$ de tecido) de fígado e musculo caudal de <i>L. Catesbeianus</i> submetidos a diferentes concentrações de Fipronil 800 WG por 96 horas. Letras diferentes no mesmo grupo de tecido representam medias estatisticamente diferentes para $p < 0,05$. Os valores estão expressos como Média \pm D.P.M. (n=9)	38
Figura 20 – Concentração de aminoácidos livres ($\mu\text{mol/ g}$ de tecido) de fígado e músculo caudal de <i>L. Catesbeianus</i> s que passaram pelo período de recuperação de sete dias após a exposição crónica de Fipronil 800 WG por 96 horas. Letras diferentes no mesmo grupo de tecido representam medias estatisticamente diferentes para $p < 0,05$. Os valores estão expressos como Média \pm D.P.M. (n=9)	38

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Valores médios das concentrações das moléculas dos indivíduos que passaram por uma exposição crónica de 96h de Fipronil.....	27
Tabela 2 – Valores médios das concentrações das moléculas dos indivíduos que passaram por um período de recuperação (TEMPO) após a exposição crónica de 96h.....	28

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	13
1.1 <i>Considerações gerais</i>	13
1.2 <i>Fipronil</i>	15
1.3 <i>A espécie</i>	18
2. OBJETIVOS	20
2.1 <i>Gerais</i>	20
2.2 <i>Específicos</i>	20
3. MATERIAL E MÉTODOS	21
3.1 <i>Desenho experimental</i>	21
3.2 <i>Coleta do tecidos</i>	23
3.3 <i>Avaliação das concentrações dos metabólitos</i>	24
3.4 <i>Análises estatísticas</i>	25
4. RESULTADOS E DISCUSSÃO	26
5. CONSIDERAÇÕES FINAIS	40
6. REFERÊNCIAS	41

ANEXO 1

1. INTRODUÇÃO

1.1 Considerações gerais

A partir da década de 1950 foram observadas profundas mudanças no processo de produção agrícola mundial (MOREIRA *et al.*, 2002), a chamada de Revolução Verde. Este processo, que visava alcançar maior produtividade, baseou-se, principalmente, na utilização de um conjunto inovações tecnológicas e de estratégias, tais como o desenvolvimento de pesquisas em sementes, fertilização de solos, utilização de agrotóxicos e mecanização agrícola (SERRA *et al.*, 2016).

Neste contexto, apesar da utilização de uma gama de agrotóxicos proporcionar um aumento significativo na produção agrícola, o emprego indiscriminado destes produtos químicos conferiu importante risco ao ambiente, visto que eles podem ser transportados por lixiviação de água da chuva, irrigação ou drenagem e chegar aos ecossistemas aquáticos superficiais e subterrâneos (MATAQUEIRO, 2006). Desta forma, ao atingirem os mananciais hídricos, os agrotóxicos podem causar alterações fisiológicas, causando mudança na taxa de desenvolvimento e de crescimento, ou levar a morte dos organismos aquáticos sensíveis à contaminação ambiental, visto que grande parte dessas substâncias é potencialmente citotóxica, genotóxica ou carcinogênica, como os hidrocarbonetos policíclicos aromáticos (HPAs) e organofosforados.

Organismos aquáticos, em resposta ao contato com os estressores químicos, podem sofrer alterações comportamentais, fisiológicas e metabólicas para capacitar o animal a lidar com a perturbação e manter seu estado de homeostase. As respostas fisiológicas ao estresse são agrupadas em primárias, que inclui mudanças endócrinas como as percebidas nos níveis de catecolaminas circulantes e corticosteroides; e secundárias, as quais incluem mudanças nas características metabólicas, no balanço hidromineral e nas funções cardiovasculares, respiratórias e imune. As respostas terciárias compreendem mudanças no crescimento, resistência a doenças e no comportamento do animal, as quais podem resultar das respostas primárias e secundárias e podem afetar a sobrevivência, como descrito para peixes (BARTON, 2002).

Além da intensidade destas respostas estarem diretamente relacionadas às concentrações dos estressores químicos presentes no meio, ela também depende do tempo de exposição no qual o organismo é submetido. Neste sentido, pode-se categorizar as exposições e agudas e crônicas. Na exposição aguda o indivíduo é submetido a um curto período de tempo com o agente químico, entretanto, com concentração possivelmente alta e com resultados imediatos. Adversa à aguda, a exposição crônica é, geralmente, de longa duração, com concentrações

geralmente baixas e podendo haver variação no tempo dos resultados. Somado a isso a exposição, propriedades físico-químicas do agente tóxico em conjunto com o metabolismo do organismo são relevantes para possíveis alterações dos mesmos (TOMITA; BEYRUTH, 2002).

Tradicionalmente a avaliação da qualidade da água é realizada por uma combinação de indicadores físicos, químicos e microbiológicos. Estes índices de poluição são úteis para alertar sobre os riscos para a saúde e para o ambiente e para a determinação das concentrações máximas permitidas. No entanto, a informação adquirida não é completa, visto que as interações bióticas e abióticas não são consideradas (OSSANA; CASRAÑE; SALBIÁN, 2013).

Os bioensaios permitem que as informações físico-químicas sejam complementadas com informações biológicas para determinar as consequências da exposição de um organismo a um poluente ou um conjunto deles. As respostas biológicas, sejam elas bioquímicas, fisiológicas, histológicas, morfológicas e comportamentais, de um organismo após a sua exposição a poluentes são definidas como biomarcadores. Desta forma, estas respostas podem ser utilizadas como ferramentas sensíveis para avaliar os efeitos adversos de poluentes em populações ou comunidades, visto que evidenciam bem a interação entre um sistema biológico e agentes físico-químicos (WALKER *et al.*, 2006; CONTI, 2008).

Os agrotóxicos, de maneira geral, possuem a capacidade de afetar diferentes órgãos e tecidos do organismo em decorrência dos processos bioquímicos que resultam na afinidade com um ou outro órgão ou tecido. Dornelles e Oliveira (2014), trabalhando com girinos de rã-touro expostos à atrazina, glifosato e quinclorac relataram mudanças nas concentrações de glicogênio, proteínas, lipídios e triglicerídeos em brânquias, fígado e músculo dos animais. Em condições de estresse, o glicogênio serve como uma reserva de energia interna e seus níveis podem ser rapidamente esgotados (BECKER *et al.*, 2009). Da mesma maneira, os lipídios também podem ser um substrato para a conversão de energia quando um combustível extra é necessário ou induzido por um estressor, desempenhando, assim, um papel vital durante as alterações bioquímicas sob condições estressantes (ZAYA *et al.*, 2011). Gurushankara e colaboradores (2007), apresentaram que o uso do Malation causou alterações no metabolismo lipídico de *Limnonectes limnocharis* em concentrações letais e sub-letais, aumentando os níveis de ácidos graxos livres, glicerol e da atividade lipase nos tecidos do ovário, testículo, fígado e músculo. Também pode-se observar um decréscimo da concentração de proteínas teciduais em consequência do aumento do gasto energético após exposição de poluentes. Isto pode ocorrer devido a uma tentativa de eliminar os compostos tóxicos, para aumentar a síntese de ATP ou para a formação de lipoproteínas (SOUNDERRAJ *et al.*, 2011; GANESHWADE, 2012). O uso de triclordon em *Piaractus mesopotamicus* também apresenta mudanças no metabolismo,

havendo diminuição de piruvato e ácidos graxos livres associado com aumento de aminoácidos livres no musculo e diminuição de amônia no fígado (VENTURINI, 2010).

De modo geral, os anfíbios podem ser considerados bioindicadores de qualidade ambiental já que possuem seu ciclo de vida intimamente ligado à água e pele permeável (CONDESSA, 2014) com rica vascularização, fazendo com que o contaminante esteja em contato direto com o principal órgão respiratório do animal (KARDONG, 2016) dependendo de seu estado fisiológico, podendo alterar glândulas de produção da barreira natural contra micro-organismo, glândulas mucosas e interferindo nas trocas gasosas com o ambiente (ROLLINS-SMITH et al., 2011, CATENAZZI, 2015). O fígado é um dos principais órgãos de armazenamento lipídico de um anfíbio, podendo servir como biomarcador metabólico devido a enzimas desintoxicantes e metabólitos presentes no tecido que se alteram com a presença de um agente estressor (OLIVEIRA, 2014).

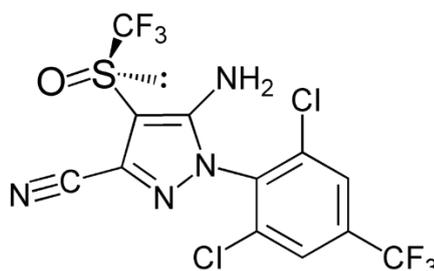
Dessa forma, qualquer alteração nas condições de umidade, temperatura, qualidade de água serão sentidas pelos animais. Essas alterações podem provoca doenças, diminuição das populações ou até extinção de espécies e configura uma das principais causas da redução das populações dos anfíbios ao redor do mundo (TOLEDO, 2009).

Como existe pouca literatura e informações bioquímico-toxicológicas sobre os anfíbios, que permitam a conservação e o desenvolvimento sustentável, a *Lithobates catesbeianus* foi escolhida por apresentar valor econômico, pela existência de trabalhos publicados com esta espécie e que por sua aquisição não causar impactos negativos nas populações nativas.

1.2 Fipronil

O inseticida e cupinicida Fipronil ($C_{12}H_4Cl_2F_6N_4OS$) (Figura 1), do grupo químico pirazol (WILDE et al., 2001), é utilizado em mais de 70 países para o controle de pragas em culturas de batata, cana-de-açúcar, milho, algodão e soja com diversos modos de aplicações, variando entre aplicação no solo, aplicação foliar, pulverização, imersão de mudas e durante o sulco do plantio (AGROFIT, 2020).

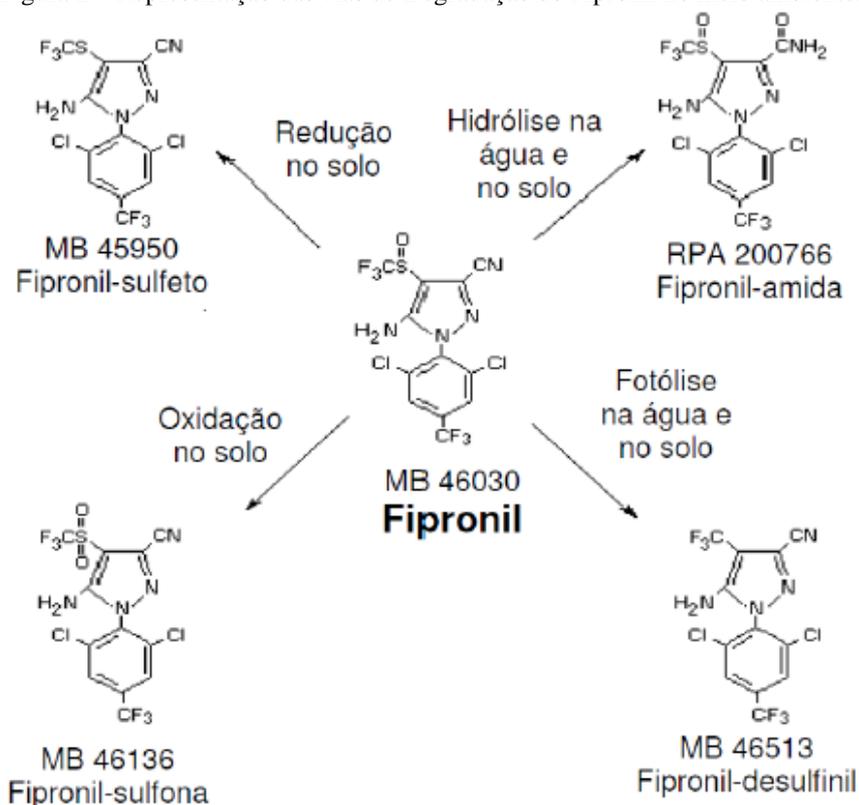
Figura 1 – Esquema da estrutura molecular da molécula de Fipronil.



Fonte: <https://pt.wikipedia.org/wiki/Fipronil> acessado em 30/11/2021

Tem caráter hidrofóbico devido a sua baixa solubilidade em água (JACKSON *et al.*, 2009) e tem de 123 até 600 dias de meia-vida no ambiente (SILVA *et al.*, 2009). Durante a degradação deste agrotóxico podem formar-se quatro produtos: amida, dessulfenil, sulfeto e sulfona (Figura 2) (BOBÉ *et al.*, 1998). Em diversos estudos de campo e em laboratório (YING; KOOKANA, 2002; ZHU *et al.*, 2004; SILVA *et al.*, 2011; SCORZA JUNIOR; FRANCO, 2013; GUNASEKARA, *et al.* (2007), que analisaram diferentes tipos de solo em diversas condições ambientais, relatam que o fipronil e seus produtos podem ser rapidamente degradados, tendo um tempo de meia vida que varia 9 a 45 dias. Quando exposto a luz, o composto sofre fotodegradação e sua meia-vida é de 3,6 horas em água (HAINZL; CASIDA, 1996; HAINZL, COLE; CASIDA, 1998).

Figura 2 – Representação das vias de Degradação do Fipronil no meio ambiente.



Fonte: PEI et al., 2004

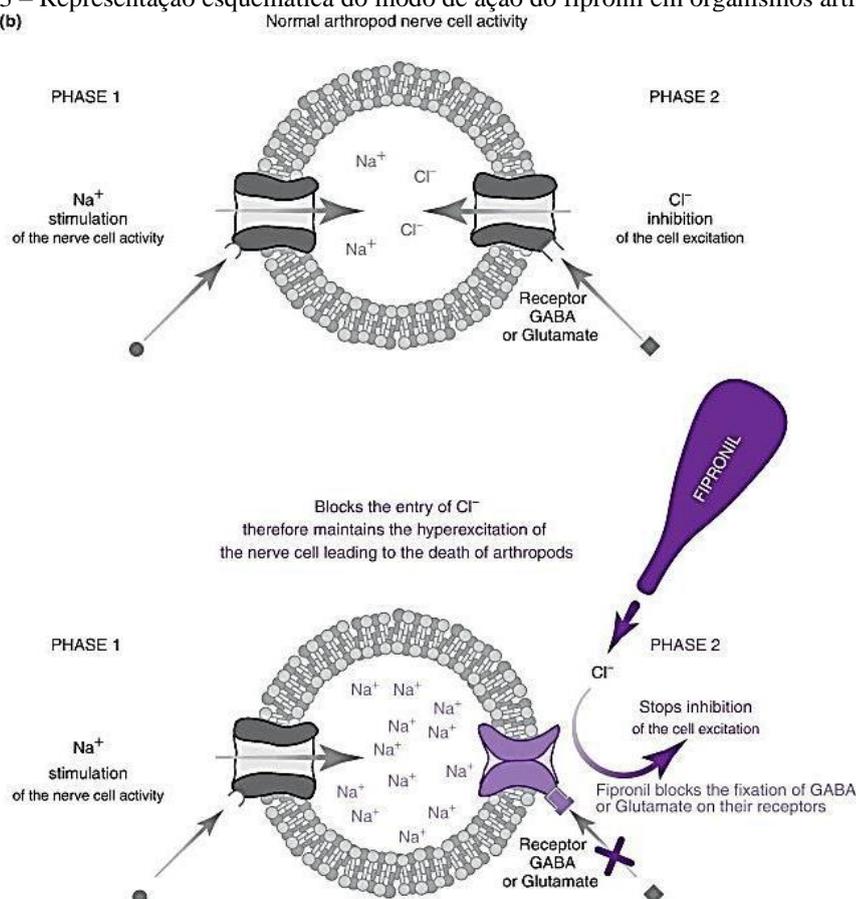
Estes dados podem mascarar a toxicidade do fipronil, porque geralmente não causam mortalidade agudas nas populações de organismos aquáticos, principalmente vertebrados. O grau de periculosidade deste e de outros compostos devem ser estabelecidos levando-se em consideração também as exposições sub-letais, pois estas podem afetar silenciosamente e durante um longo período inúmeros processos fisiológicos, bioquímicos e comportamentais.

O fipronil é ingrediente ativo presente em diversos produtos, tais como REGENT® 800

WG, ALDRIN 25 CE[®] e Ascend[®], utilizados para o controle de pragas agrícolas e domésticas e produtos de veterinários, como Frontline[®] e o Topline[®], para eliminação de pulgas e carrapatos.

Esta molécula atua como um desregulador do sistema nervoso central do organismo alvo, boqueando a passagem de íons de cloro através dos receptores ácido gama aminobutírico (GABA) e dos canais de cloro controlado pelo glutamato (GluCl) (BEUGNET; FRANC, 2012) (Figura 3). Como o GABA e o glutamato são neurotransmissores que exercem efeito inibidor sobre a atividade muscular e neural, está molécula causa uma super-excitação dos músculos e dos neurônios dos artrópodes contaminados, levando-os a morte. A toxicidade é similar em organoclorados clássicos, tais como dieldrin e endosulfan, mas com cerca de 500 vezes maior toxicidade seletiva para insetos e baixa toxicidade para mamíferos (GRANT et al., 1998; RATRA; CASSIDA, 2001), visto que os vertebrados não possuem canais de GluCl (NARAHASHI *et al.*, 2010).

Figura 3 – Representação esquemática do modo de ação do fipronil em organismos artrópodes
(b)



Fonte: BEUGNET; FRANC, 2012.

No entanto, os produtos oriundos das transformações metabólicas e das degradações abióticas do fipronil, tais como o fipronil-desulfínil e fipronil-sulfona (Figura 2), podem

apresentar um maior efeito tóxico em vertebrados. Estudos laboratoriais com fipronil-desulfinil, produto da fotólise em água do fipronil, mostraram que esta molécula é mais estável e é mais tóxico, aproximadamente 10 vezes mais tóxico para mamíferos, que o composto original (HAINZL, COLE; CASIDA, 1998; TINGLE *et al.* 2003). Das e colaboradores (2006) também relatam que tanto fipronil-sulfona quanto o fipronil-desulfinil são mais tóxicos para insetos, mamíferos, peixes e aves do que o próprio composto original.

Este produto possui classificação toxicológica 3 (moderamente tóxico), classe II quanto ao potencial de periculosidade ambiental (produto muito perigoso ao meio ambiente) e altamente tóxico para organismos aquáticos, segundo o Ministério do Meio Ambiente (2019). O contato de organismos não-alvos com o fipronil, pode acometer estresse oxidativo ocasionando mudanças fisiológicas (TOFFOLI *et al.*, 2015) como inibição de crescimento, de desenvolvimento, toxicidade reprodutiva, desregulação endócrina (USEPA, 1996), lesões histopatológicas (MOSSA *et al.*, 2015) alterações no DNA por se tratar de um produto mutagênico (FRENZILLI *et al.*, 2009), assim como, a perda de populações no local contaminado em casos de exposições com altas doses.

1.3 A espécie

A espécie *L. catesbeianus*, conhecida como rã-touro, pertence à família Ranidae, cuja distribuição original é restrita ao sul de Quebec e Ontário (Canadá) até o Golfo do México (EUA). Possuem pele lisa e extensas membranas entre os artelhos e apresentam no dorso coloração verde bastante variável enquanto no ventre a coloração é branca com nuances acinzentadas, podendo os indivíduos ter alterações fisiológicas de cor ou mudança rápida da coloração dependendo do ambiente (VIZOTTO, 1984; BURY; WHELAN, 1984).

A rã-touro foi introduzida no Brasil em meados de 1930, no entanto, problemas como doenças, predação e baixo preço, levaram ao abandono de raniculturas, ocasionando a liberação dos exemplares na natureza (VIZOTTO, 1984). Seu grande tamanho, chegando a atingir 15 cm, alta mobilidade, hábito alimentar generalista e sua alta capacidade reprodutiva, tornou-a uma invasora bem-sucedida e uma ameaça à biodiversidade. No seu ambiente natural, por possuir grande porte e comportamento voraz, a *L. catesbeianus* é um importante competidor e predador, e influencia a presença e abundância de outras espécies de anuros (HECNAR e M'CLOSKEY, 1997).

Figura 4 – Rã-touro adulta.



Fonte: <https://bit.ly/3li7SHm> acessado em 02/12/21

Figura 5 – Girino rã-touro.



Fonte: <https://bit.ly/3oepSdW> acessado em 02/12/21

2. OBJETIVOS

2.1 Gerais

Avaliar o perfil metabólico de girinos de *Lithobates catesbeianus* submetidos a quatro doses crescentes de Fipronil 800 WG por 96 horas e a recuperação por sete dias.

2.2 Específicos

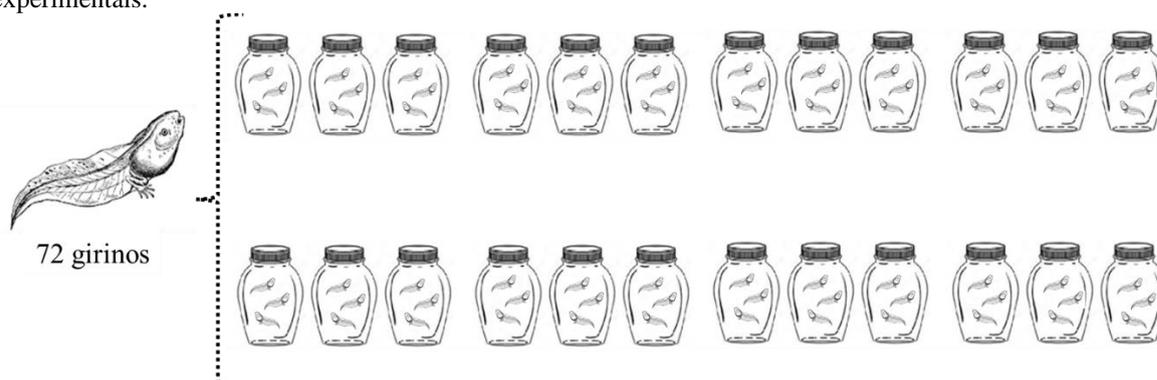
- avaliar o efeito das doses administradas de Fipronil 800 WG por 96 horas e da recuperação de sete dias nas concentrações de glicose, glicogênio, triglicerídeos, aminoácidos livres e proteínas totais nos tecidos muscular da cauda e hepático em *L. catesbeianus*.

3. MATERIAL E MÉTODOS

3.1 Desenho experimental

Os testes de exposição aguda e os de recuperação foram conduzidos no laboratório de ensaios ecotoxicológicos de animais aquáticos do IFSP Câmpus Barretos. Os exemplares de girinos de rã-touro, adquiridos do ranário RANAMAT em Matão-SP, foram aclimatados por 15 dias em tanques de 50L com aeração, renovação de água constante e temperatura constante (27°C), e alimentados com ração comercial de peixe. Previamente aos testes, os animais ficaram 24 horas sem alimentação. Para a exposição aguda de 96 horas, setenta e dois indivíduos foram separados aleatoriamente em oito grupos experimentais com nove animais cada e distribuídos em 24 aquários de vidro com aeração constante e capacidade de três litros (Figura 6), com a proporção de um animal para cada 1L.

Figura 6 – Representação esquemática da distribuição dos animais nos aquários para compor os em oito grupos experimentais.



Primeiramente os animais de 18 aquários, agrupados de seis em seis, foram expostos por 96 horas a diferentes concentrações de Fipronil 800 WG da Nortox (Anexo 1) (0,04 miligramas por litro, 0,08 miligramas por litro ou 0,4 miligramas por litro), seguindo o delineamento experimental de Santos (2021). Durante o ensaio, todos os animais foram privados de alimento, com troca e reposição da solução após 48 horas do período do experimento, por se tratar de um composto fotossensível. Os demais frascos, seis no total, foram mantidos em água limpa durante o período experimental determinado. Transcorridas as 96 horas de exposição, todos os animais de três aquários de cada um dos grupos formados foram eutanasiados por imersão em gelo para a coleta do material (fígado e músculo caudal) utilizado nas análises químicas. Para uma melhor identificação, os grupos desta coleta antes da exposição aguda foram denominados: Controle, Fipronil 0,04 mg/L, Fipronil 0,08 mg/L e Fipronil 0,4 mg/L

(Figura 7 e 8). O restante dos animais foi mantido vivo por mais sete dias para avaliação do metabolismo energético após um período de recuperação. Para o ensaio de recuperação, os animais foram realocados em novos aquários e a água de todos, inclusive aqueles que não foram expostos ao xenobiótico, foi substituída por água limpa (Figura 7). Transcorrido o período de sete dias de recuperação, estes animais destes grupos também foram eutanasiados por imersão em gelo para a coleta do material (fígado e músculo caudal) utilizado nas análises químicas. Estes grupos que foram expostos por 96 horas e que passaram por um período de recuperação de sete dias foram denominados: R Controle, R Fipronil 0,04 mg/L, R Fipronil 0,08 mg/L e R Fipronil 0,4 mg/L (Figura 7 e 9).

Figura 7 – Representação esquemática do desenho experimental.



Figura 8 – Foto mostrando os recipientes divididos nos grupos experimentais. Da esquerda para direita, Fipronil 0,04 mg/L, Fipronil 0,04 mg/L R, Fipronil 0,08 mg/L, Fipronil 0,08 mg/L R, Fipronil 0,4 mg/L, Fipronil 0,4 mg/L R, Controle e Controle R durante o período de exposição de 96 horas.



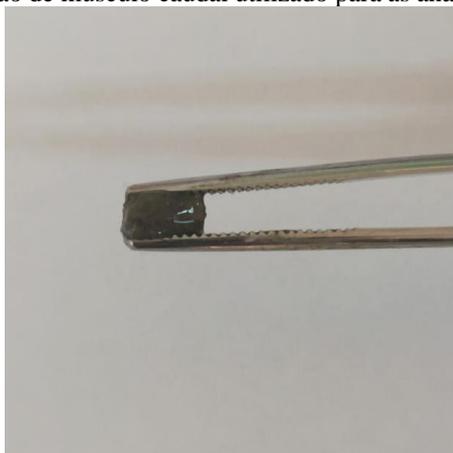
Figura 9 – Foto contendo os grupos com os animais que permaneceram em recuperação por sete dias. Fipronil 0,04 mg/L R, Fipronil 0,08 mg/L R, Fipronil 0,4 mg/L R e Controle R durante o período de exposição de recuperação de sete dias.



3.2 Coleta dos tecidos

Dos tecidos coletados, foram retiradas amostras de fígado com 0,025g e músculo da cauda, em duplicata, com 0,1 g (Figura 10) alocados em eppendorfs, homogenizados com 1 ml de água destilada e posteriormente centrifugados a $13.400 \times g$ durante três minutos. As amostras foram realocados ao freezer de -80°C até o início das análises.

Figura 10 – Foto mostrando a porção de músculo caudal utilizado para as análises



3.3 Avaliação das concentrações dos metabólitos

a) Glicose

A quantificação da concentração de glicose do material analisado (mg/g de amostra) foi realizada com o Kit LabTest de Glicose Liquiform (Ref.: 133) no qual 50 μ L de amostra ou de extrato hepático ou muscular, foram adicionadas a 1ml de reagente. A leitura das amostraram foram feitas no espectrofotômetro com 500 η m de comprimento de onda.

b) Glicogênio

As determinações de glicogênio foram realizadas como descrito por Bidinoto e colaboradores (1997). Cem miligramas de músculo caudal ou cinquenta de fígado foram transferidos para os tudos contendo 1mL de KOH 6N. Posteriormente os tubos os tubos foram fervidos por cinco minutos, para a dissolução dos tecidos. Desta mistura, 250 μ L foram transferidos para outro tubo e acrescentado 3 mL de etanol PA e 100 μ L de K_2SO_4 . Os tubos foram vigorosamente agitados em vortex e então centrifugados a 3.000 x g por três minutos. O sobrenadante foi descartado e o precipitado foi resuspenso em 1,0 mL de água destilada. Uma alíquota desta solução de cada uma das amostras foi utilizada para a determinação de açúcares redutores totais segundo Dubois e colaboradores (1956). A concentraçãõ de glicogênio está expressa em μ mol de glicosil-glicose por g de tecido.

c) Triglicerídeos

A concentração de triglicerídeos do material analisado (mg/g de amostra) foi realizada com o Kit LabTest de Triglicerídeos Liquiform, no qual 50 μ L de amostra de extrato hepático ou 100 μ L de amostra muscular são adcionados a 1ml de reagente do kit. A leitura das amostras foram feitas no espectrofotômetro com 500 η m de comprimento de onda.

d) Proteínas livres

A quantificação da concentração de proteínas (mg/mL) foi realizado contra o padrão de caseína pura de um miligrama por mililitro. A leitura óptica ocorreu com 4,0µL de cada amostra hepática ou muscular no Biofotometro com comprimento de onda 280 nm.

e) Aminoácidos livres

O teor de aminoácidos livres (mol/mL) foi determinado nas amostras segundo Copley (1941). Amostras de 100 µL extrato muscular ou 50 µL extrato hepático foram adicionados a 1ml da solução de 0,1g de ninhidrina diluídos em 100 mL de álcool isoprolílico. Posteriormente, os tubos foram vedados e colocados em banho-maria a 35°C, por 30 minutos, e centrifugados a 13. 400x *g* durante três minutos. A leitura óptica do extrato celular ocorreu em um Biofotometro com comprimento de onda de 562 nm, contra o padrão de 0,075g de glicina diluídos em 100 ml de água destilada.

3.4 Análises estatísticas

Para análise estatística dos dados foi utilizado o software BioEstat 5.0. O teste estatístico ANOVA General Linear Model foi aplicado seguido de pós-teste de Tukey para comparação dos grupos. Os conjuntos formados pelos animais só expostos e pelos que passaram pelo período de recuperação não foram analisados conjuntamente. O nível de significância admitido foi de $p < 0,05$. Os gráficos foram construídos com auxílio do software Origin 6.0, baseado nas médias e desvio padrão da média (D.P.M).

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os valores médios das concentrações analisadas de glicose, glicogênio, triglicerídeos, aminoácidos livres e proteínas totais nos tecidos hepáticos e muscular da cauda de *L. catesbeianus* submetidos a exposição de 96 horas estão expostos na Tabela 1. Na Tabela 2 estão os valores médios das concentrações das moléculas dos indivíduos que passaram por um período de recuperação de sete dias após a exposição crônica de 96h.

Tabela 1: Valores médios das concentrações das moléculas analisadas dos indivíduos que passaram por uma exposição crónica de 96h de Fipronil.

EXPOSIÇÃO 96H				
Triglicédeos¹	Controle	Fipronil - 0,04mg/L	Fipronil - 0,08mg/L	Fipronil - 0,4mg/L
<i>Fígado</i>	7,730 ± 2,209	5,646 ± 1,208	7,199 ± 1,722	5,952 ± 1,076
<i>Músculo caudal</i>	2,601 ± 0,280 ^b	2,299 ± 0,377 ^b	3,233 ± 0,583 ^a	3,814 ± 0,531 ^a
Aminoácidos²				
<i>Fígado</i>	0,686 ± 0,113	0,843 ± 0,159	0,618 ± 0,187	0,832 ± 0,213
<i>Músculo caudal</i>	0,072 ± 0,009 ^b	0,104 ± 0,015 ^a	0,102 ± 0,018 ^a	0,086 ± 0,009 ^b
Proteínas¹				
<i>Fígado</i>	7,816 ± 1,386	6,799 ± 1,388	6,530 ± 1,942	6,156 ± 1,063
<i>Músculo caudal</i>	2,011 ± 0,299 ^a	1,492 ± 0,415 ^b	1,308 ± 0,443 ^{bc}	0,835 ± 0,325 ^c
Glicose¹				
<i>Fígado</i>	7,602 ± 1,448 ^a	5,440 ± 0,780 ^b	5,227 ± 1,266 ^b	4,806 ± 0,888 ^b
<i>Músculo caudal</i>	4,220 ± 1,369 ^a	4,365 ± 0,799 ^a	2,999 ± 0,664 ^b	2,216 ± 0,665 ^b
Glicogênio²				
<i>Fígado</i>	90,044 ± 22,090 ^a	70,061 ± 15,192 ^b	43,153 ± 12,179 ^b	37,130 ± 11,191 ^b
<i>Músculo caudal</i>	15,003 ± 3,790 ^a	13,102 ± 2,370 ^b	8,280 ± 3,307 ^b	9,185 ± 2,670 ^b

Letras diferentes na mesma linha significa diferenças estatísticas ($p < 0,05$) (média \pm D.P.M.) (n=9).¹Expressos em mg/g tecido; ²Expressos em μ mol/g tecido.

Tabela 2: Valores médios das concentrações das moléculas dos indivíduos que passaram por um período de recuperação (TEMPO) após a exposição crônica de 96h.

RECUPERAÇÃO				
Triglicerídeos¹	R Controle	R Fipronil - 0,04mg/L	R Fipronil - 0,08mg/L	R Fipronil - 0,04mg/L
<i>Fígado</i>	9,502 ± 1,656 ^a	6,275 ± 1,645 ^b	7,194 ± 1,588 ^b	5,852 ± 0,901 ^b
<i>Músculo caudal</i>	6,156 ± 1,164 ^a	4,363 ± 0,0534 ^b	3,972 ± 0,989 ^b	4,429 ± 0,818 ^b
Aminoácidos²				
<i>Fígado</i>	0,498 ± 0,141 ^a	0,278 ± 0,064 ^b	0,516 ± 0,166 ^a	0,452 ± 0,103 ^a
<i>Músculo caudal</i>	0,056 ± 0,008 ^c	0,071 ± 0,010 ^b	0,071 ± 0,011 ^b	0,086 ± 0,009 ^a
Proteínas¹				
<i>Fígado</i>	5,467 ± 1,551	3,050 ± 0,700	5,662 ± 1,820	4,956 ± 1,127
<i>Músculo caudal</i>	1,359 ± 0,259 ^a	0,866 ± 0,235 ^b	0,882 ± 0,353 ^b	0,835 ± 0,127 ^b
Glicose¹				
<i>Fígado</i>	3,700 ± 0,849 ^b	3,633 ± 0,568 ^b	6,470 ± 1,348 ^a	4,499 ± 0,752 ^b
<i>Músculo caudal</i>	1,249 ± 0,553	1,043 ± 0,213	1,090 ± 0,408	1,306 ± 0,349
Glicogênio²				
<i>Fígado</i>	6,044 ± 2,091 ^a	5,904 ± 1,793 ^b	4,944 ± 1,576 ^b	5,165 ± 1,783 ^b
<i>Músculo caudal</i>	1,030 ± 0,490 ^a	1,103 ± 0,169 ^b	0,805 ± 0,281 ^b	1,207 ± 0,306 ^b

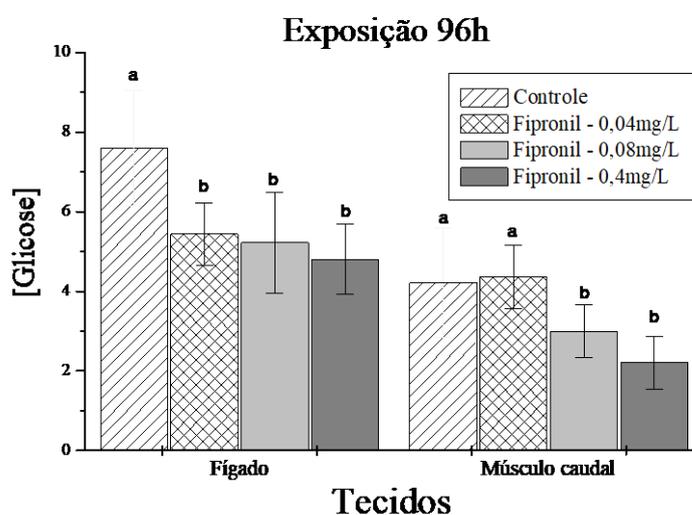
Letras diferentes na mesma linha significa diferenças estatísticas ($p < 0,05$) (média ± D.P.M.) (n=9).¹Expressos em mg/g tecido;

²Expressos em μ mol/g tecido.

Perfil glicídico

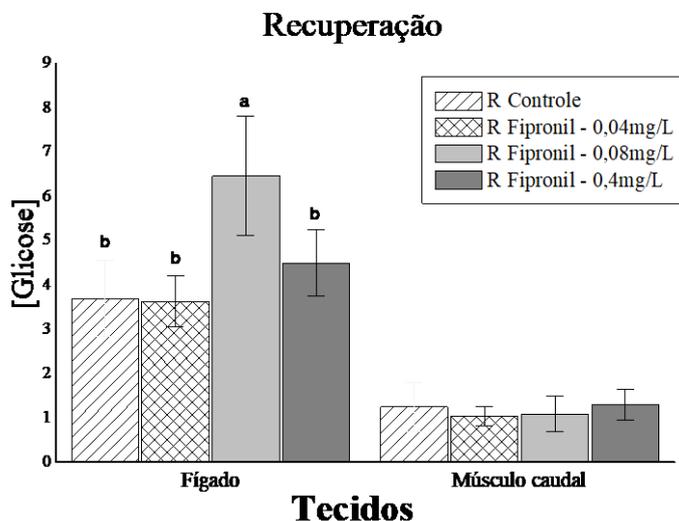
No período de exposição de 96 horas, as concentrações de glicose nos tecidos escolhidos sofreram alterações predominantemente decrescentes. No fígado, a glicose entrou em decréscimo enquanto no músculo caudal, apesar do decréscimo, houve uma pequena variação maior no grupo exposto à 0,04 mg/L de Fipronil 800 WG (Figura 11).

Figura 11 – Concentração de glicose (mg/ g de tecido) de fígado e músculo caudal de *L. Catesbeianus* submetidos a diferentes concentrações de Fipronil 800 WG por 96 horas. Letras diferentes no mesmo grupo de tecido representam médias estatisticamente diferentes para $p < 0,05$. Os valores estão expressos como Média \pm D.P.M. (n=9).



Nos indivíduos submetidos ao período de recuperação de sete dias após a exposição de 96 horas, a glicose hepática teve índice alto no R Fipronil 0,08 mg/L e se manteve com taxas baixas no tecido muscular da cauda (Figura 12).

Figura 12 – Concentração de glicose (mg/ g de tecido) de fígado e músculo caudal de *L. Catesbeianus* s que passaram pelo período de recuperação de sete dias após a exposição crônica de Fipronil 800 WG por 96 horas. Letras diferentes no mesmo grupo de tecido representam medias estatisticamente diferentes para $p < 0,05$. Os valores estão expressos como Média \pm D.P.M. (n=9).



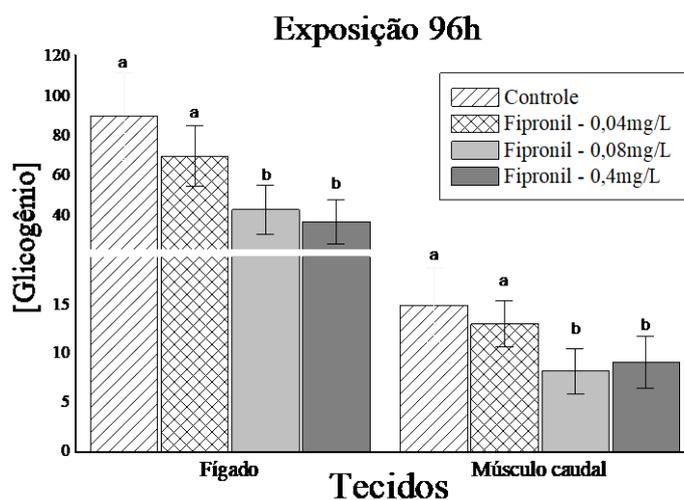
Em situações de estresse, podendo esse ocorrer pela presença de xenobióticos, são observadas alterações no metabolismo energético do organismo (MONTANHA; PIMPÃO, 2012; STEFANI, 2011). O fígado, responsável pela desintoxicação em vertebrados (LUCIA, 2010), também faz parte dos metabolismos de carboidratos, lipídios e proteínas, sendo um de seus papéis a manutenção glicêmica quando essa apresenta taxas baixas ou elevadas. Com a presença de um agente estressor o animal pode apresentar hiperglicemia, utilizando-se da glicose como fonte energética para regular esses níveis, necessário para o sistema nervoso. Os processos de glicogenólise e gliconeogênese hepática podem proporcionar a manutenção dos níveis glicêmicos sanguíneos. Possivelmente o decréscimo das concentrações de glicose hepática associado a diminuição de glicogênio deste órgão observado nos animais dos grupos expostos ao fipronil por 96 horas esteja diretamente relacionados a liberação das moléculas de glicose pelo fígado para que os outros órgãos possam utilizá-la para a produção de moléculas de ATP que serão utilizadas para o restabelecimento da homeostase destes animais. Mello (2017) observou o diminuição das concentrações de glicose e glicogênio quando peixes-zebra (*Danio rerio*) são expostos ao sal solúvel dicromato de potássio ($K_2Cr_2O_7$) por 48 horas.

A diminuição das concentrações de glicose presente no tecido muscular dos animais só expostos ao fipronil pode estar diretamente relacionada a um aumento da taxa de oxidação da glicose via fermentação láctica ou pela manutenção das concentrações de triglicerídeos nesses grupos, observadas na Tabela 1, na qual os níveis de triglicerídeos são crescentes.

No período de exposição de 96 horas, as concentrações de glicogênio nos tecidos

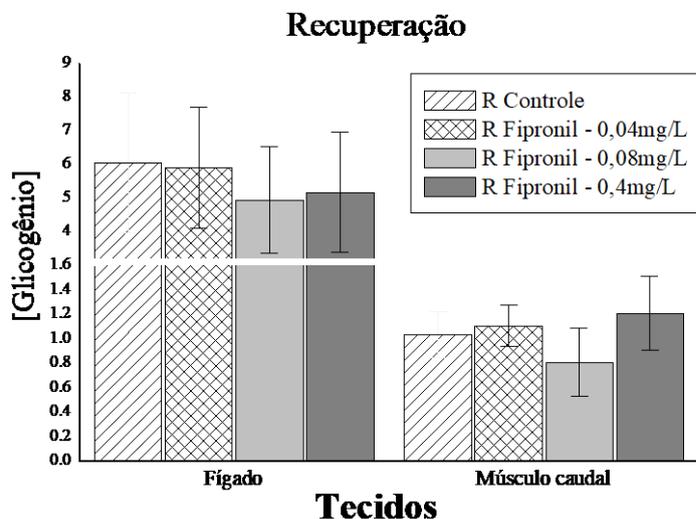
escolhidos também sofreram alterações predominantemente decrescentes, assim como a glicose. O músculo caudal, apesar do decréscimo, indicou uma pequena variação crescente no grupo exposto às concentrações de 0,08 e 0,4 mg/L do fármaco (Figura 13). No fígado, foi observado o mesmo padrão do músculo cauda (Figura 13).

Figura 13 – Concentração de glicogênio (mg/ g de tecido) de fígado e músculo caudal de *L. Catesbeianus* submetidos a diferentes concentrações de Fipronil 800 WG por 96 horas. Letras diferentes no mesmo grupo de tecido representam medias estatisticamente diferentes para $p < 0,05$. Os valores estão expressos como Média \pm D.P.M. (n=9).



Em comparação aos indivíduos que passaram apenas pela exposição ao Fipronil 800 WG por 96 horas, os indivíduos submetidos ao período de recuperação de sete dias não apresentaram uma redução significativa em suas taxas de glicogênio, em ambos os tecidos analisados (Figura 14).

Figura 14 – Concentração de glicogênio (mg/ g de tecido) de fígado e músculo caudal de *L. Catesbeianus* submetidos a diferentes concentrações de Fipronil 800 WG por 96 horas. Letras diferentes no mesmo grupo de tecido representam médias estatisticamente diferentes para $p < 0,05$. Os valores estão expressos como Média \pm D.P.M. (n=9).



O glicogênio é a reserva de moléculas de glicose nos animais, sendo encontrados predominantemente no fígado e músculo (SILVA, 1999). Como dito anteriormente, o possível decréscimo do glicogênio hepático pode estar relacionado com a glicogenólise, que é a liberação de moléculas de glicose do fígado para o restabelecimento da homeostase em outros tecidos do animal, e também para a desintoxicação proporcionada pelo xenobiótico. O glicogênio presente no músculo, não libera glicose para outros órgãos, utilizando sua reserva energética para benefício próprio, reduzindo suas taxas. O presente trabalho, assim como o de Mello (2017), já citado, apresenta diminuição das taxas de glicogênio quando os animais estão sob estresse de um contaminante, assim como os níveis de glicose. Em Rempel (2014) o glicogênio muscular e hepático obtiveram redução após a exposição de glifosato por 96 horas em jundiás (*Rhamdia quelen*). Dorneles e Oliveira (2016) também observaram uma diminuição das concentrações de glicogênio em girinos de rã-touro expostos ao glifosato por sete dias. Já Miron e colaboradores (2009) observaram o aumento do glicogênio hepático, possivelmente para o processo de detoxificação contra os compostos clomazone (isoxazolidinonas- Gamit®) e quinclorac (quinolinas- Facet®) e redução do glicogênio muscular em jundiás (*Rhamdia quelen*) durante 96 horas. O glicogênio hepático e muscular em Hackbarth (2004) também apresentou redução em suas taxas em matrinxãs (*Brycon cephalus*) quando este foi submetido ao exercício sustentado e aumento de glicose nesses tecidos.

Perfil lipídico

Os organismos que foram submetidos somente a exposição do xenobiótico por 96 horas, apresentaram concentrações de triglicerídeos oscilantes no tecido hepático, não apresentando variações significativas no período de recuperação. O tecido caudal apresentou concentrações de triglicerídeos significativamente maiores nos indivíduos dos grupos Fipronil 0,08mg/L e Fipronil 0,4mg/L. Já nos indivíduos que passaram pelo período de recuperação de sete dias observou-se uma diminuição significativa de todos os grupos expostos ao fipronil (Figuras 15 e 16).

Figura 15 – Concentração de triglicerídeos (mg/ g de tecido) de fígado e musculo caudal de *L. Catesbeianus* submetidos a diferentes concentrações de Fipronil 800 WG por 96 horas. Letras diferentes no mesmo grupo de tecido representam medias estatisticamente diferentes para $p < 0,05$. Os valores estão expressos como Média \pm D.P.M. (n=9).

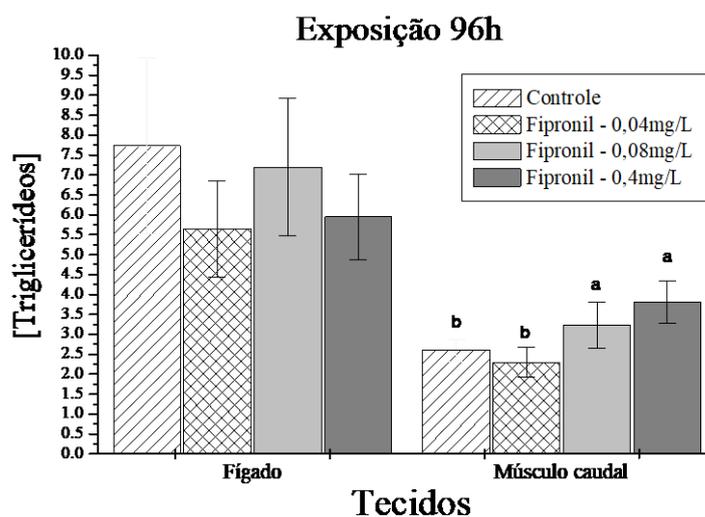
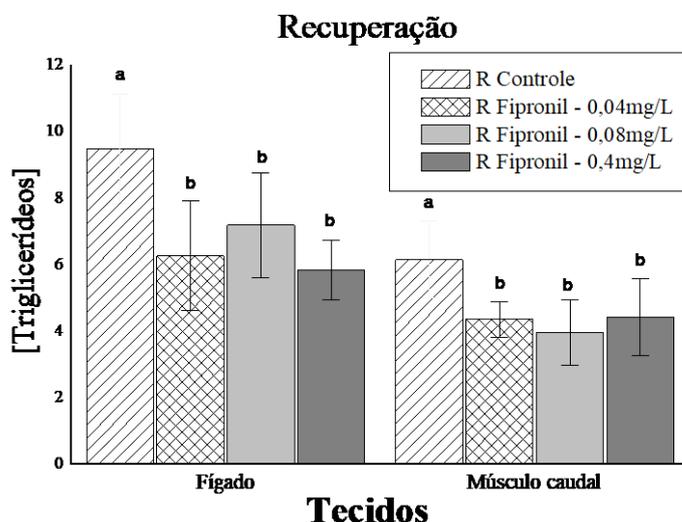


Figura 16 – Concentração de triglicerídeos (mg/ g de tecido) de fígado e músculo caudal de *L. Catesbeianus* que passaram pelo período de recuperação de sete dias após a exposição crônica de Fipronil 800 WG por 96 horas. Letras diferentes no mesmo grupo de tecido representam medias estatisticamente diferentes para $p < 0,05$. Os valores estão expressos como Média \pm D.P.M. (n=9).



Os triglicerídeos também constituem a reserva energética dos organismos, podendo ter alterações no metabolismo lipídico quando expostos a contaminantes (MEDINA, *et. al* 2016). A oxidação de ácidos graxos oriundos da degradação de triglicerídeos pode ser utilizada nos músculos a produção de moléculas de ATP em condições aeróbicas. No trabalho de Chagas (2019), girinos de rã-touro submetidos a exposição de zinco, cobre e cádmio também apresentaram aumento nas taxas de triglicerídeos no músculo quando comparadas ao seu grupo controle, assim como presente na Figura 15, Possivelmente estes valores mais altos das concentrações de triglicerídeos nos grupos Fipronil 0,08mg/L e Fipronil 0,4mg/L estão relacionadas a uma diminuição da taxa de utilização de lipídios para a produção de moléculas de ATP causada pelo baixo fornecimento de oxigênio a estes tecidos. As análises histopatológicas de brânquias feitas por Portruneli (2020) indicaram que a exposição aguda (96 horas) dos *Prochilodus lineatus* à uma concentração de 0,063 mg/L do agrotóxico fipronil resultou em alterações morfológicas nos tecidos desta estrutura branquial. Esta mesma autora propõe que esta alteração no epitélio branquial podem ser um mecanismo de defesa do animal para impedir uma maior absorção de moléculas tóxicas. No entanto, como estas alterações podem resultar no aumento da barreira água e sangue para diminuir a absorção de compostos tóxicos (MALLATT, 1985), elas também prejudicam a difusão do O₂ da água para o sangue através do epitélio lamelar.

Outro detalhe que indica uma diminuição da concentração de oxigênio disponível no

músculo para a utilização das moléculas de triglicerídeos para a produção de ATP é a diminuição significativa das concentrações de glicose neste mesmo tecido dos animais dos mesmos grupos. No entanto, são necessárias análises das concentrações de outras moléculas, tais, tais como o piruvato e o lactato, tanto no músculo caudal quanto no fígado para corroborar estas ideias.

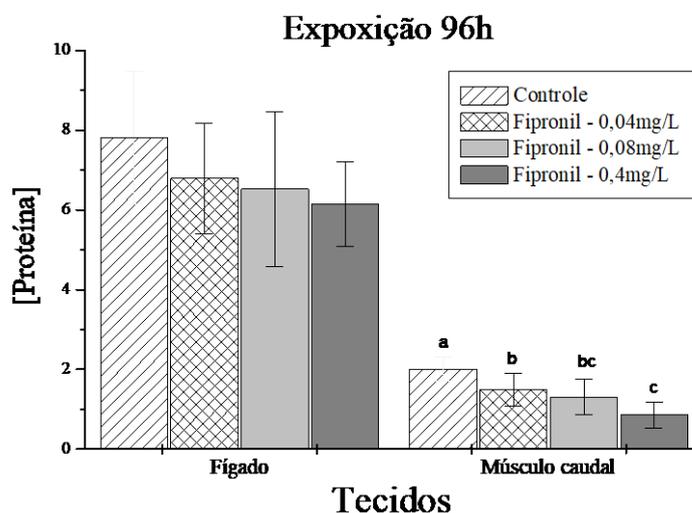
A manutenção das concentrações de triglicerídeos hepáticos estão de acordo com o observado no trabalho de Chagas (2019), já citado, pode estar relacionada também a diminuição da concentração de oxigênio devido à possível lesão braquial. Desta forma, este órgão contribui principalmente para a desintoxicação o organismo e o fornecimento de moléculas de glicose, devido à degradação de glicogênio e o processo de gliconeogênese, para que outras estruturas possam sintetizar moléculas de ATP para manterem o seu funcionamento.

Apesar de alguns trabalhos, tais com o de Vieira (2018) que observou lesões branquiais após sete dias de recuperação em pacus submetidos por 96 horas ao Paralac, mostrarem que a recuperação das brânquias pode levar um tempo maior do que o utilizado neste experimento. Os animais submetidos ao fipronil neste trabalho podem ter compensado a baixa captação de O₂ com o aumento das hemácias ou com o aumento da concentração de hemoglobina. A pele, por ser um tecido respiratório desse animal, também pode compensar a captação de oxigênio. Desta maneira, os organismos destes grupos poderiam utilizar as reservas de triglicerídeos, principalmente as hepáticas (Figura 16), para a produção de moléculas de ATP. Visto que, as concentrações de glicogênio estão mais baixas nos animais expostos a fipronil e a glicose produzida pela via de gliconeogênese é disponibilizada especialmente “para os neurônios do cérebro, que não podem usar ácidos graxos como combustível” (NELSON; COX, 2014).

Perfil protéico

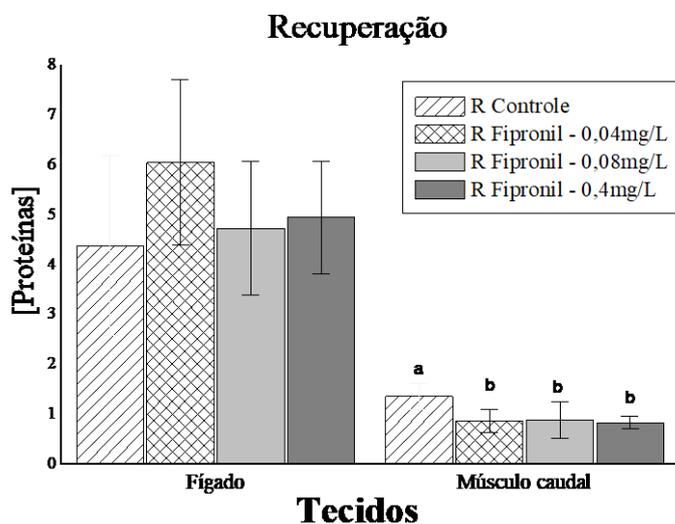
As concentrações de proteínas nos tecidos hepáticos analisados com exposição de 96 horas do Fipronil 800 WG não apresentaram diferenças significativas, no entanto, observou-se uma diminuição significativa das concentrações destas moléculas em todos os grupos somente expostos ao xenobiótico, sendo que os animais que foram colocados nas maiores concentrações do agrotóxico, 0,4 mg/L, e que não passaram pela recuperação apresentaram as menores concentrações de proteínas musculares (Figura 17).

Figura 17 – Concentração de proteínas totais (mg/ g de tecido) de fígado e músculo caudal de *L. Catesbeianus* submetidos a diferentes concentrações de Fipronil 800 WG por 96 horas. Letras diferentes no mesmo grupo de tecido representam médias estatisticamente diferentes para $p < 0,05$. Os valores estão expressos como Média \pm D.P.M. (n=9).



Em relação as concentrações proteicas dos indivíduos submetidos ao período de recuperação de sete dias, após a intoxicação de 96 horas, pode-se observar o mesmo padrão para o fígado dos animais expostos, mas no músculo caudal, os animais dos grupos que foram previamente expostos obtiveram médias significativamente menores do que o grupo controle, podendo estar relacionado ao caso de dose dependência, mas não foi observado diferença significativa entre as médias dos grupos previamente expostos.

Figura 18 – Concentração de proteínas totais (mg/ g de tecido) de fígado e músculo caudal de *L. Catesbeianus* s que passaram pelo período de recuperação de sete dias após a exposição crónica de Fipronil 800 WG por 96 horas. Letras diferentes no mesmo grupo de tecido representam medias estatisticamente diferentes para $p < 0,05$. Os valores estão expressos como Média \pm D.P.M. (n=9).



Os aminoácidos do tecido hepático dos indivíduos expostos não apresentaram diferenças significativas e, no músculo caudal dos indivíduos somente expostos as concentrações de 0,04 e 0,08 mg/L foram significativamente maiores do que a dos outro grupos analisados (Figura 19). Em relação as animais que ficaram em recuperação, pode-se observar uma diminuição das concentrações de aminoácidos hepáticos somente no grupo R Fipronil 0,04 mg/L. Enquanto que no músculo, observa-se concentrações significativamente maiores nos grupos que foram expostos previamente ao fipronil, sendo que os animais submetidos a maior concentração deste xenobiótico foram os que apresentaram maiores concentrações de aminoácidos livres (Figura 20).

Figura 19 – Concentração de aminoácidos livres ($\mu\text{mol/g}$ de tecido) de fígado e músculo caudal de *L. Catesbeianus* submetidos a diferentes concentrações de Fipronil 800 WG por 96 horas. Letras diferentes no mesmo grupo de tecido representam médias estatisticamente diferentes para $p < 0,05$. Os valores estão expressos como Média \pm D.P.M. (n=9).

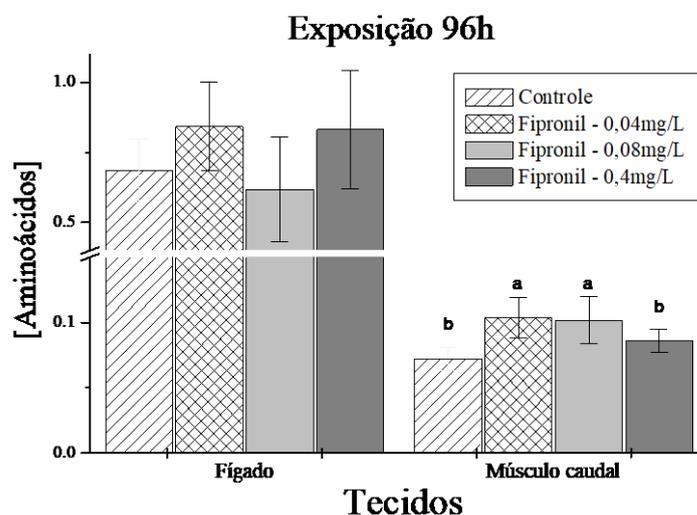
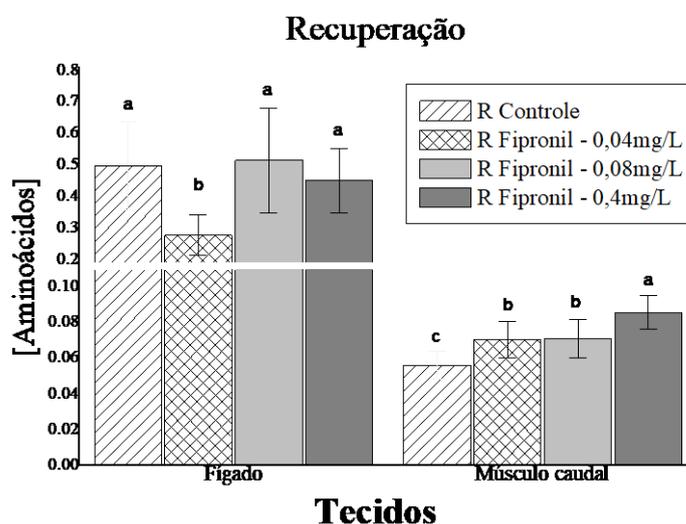


Figura 20 – Concentração de aminoácidos livres ($\mu\text{mol/g}$ de tecido) de fígado e músculo caudal de *L. Catesbeianus* que passaram pelo período de recuperação de sete dias após a exposição crônica de Fipronil 800 WG por 96 horas. Letras diferentes no mesmo grupo de tecido representam médias estatisticamente diferentes para $p < 0,05$. Os valores estão expressos como Média \pm D.P.M. (n=9).



A degradação de proteínas para produção de glicose, é um caminho metabólico utilizado quando não há glicogênio suficiente para a manutenção da glicemia, na qual o organismo apresenta índices altos devido ao agente estressor ao qual foi submetido (WILKENS, 2017; CHAGAS, 2019). O decaimento dos níveis de proteína do tecido muscular e o aumento das taxas de aminoácidos, observados nas Figuras 17, 18, 19 e 20, podem indicar o processo de hidrólise proteica enzimática para a utilização dos esqueletos carbônicos dos aminoácidos no

processo de gliconeogênese, o que pode preservar o glicogênio hepático (WENDELLAR BONGA, 1997) e gerar corpos cetônicos. Koakoski e colaboradores (2012) verificaram o aumento de aminoácidos extra-hepáticos em jundiás sob estresse de glifosato, corroborando com o atual trabalho. No tecido hepático, a diminuição de aminoácidos também pode estar relacionada à síntese de proteínas a fim de desintoxicar o organismo, enquanto o aumento é referente a hidrólise enzimática do músculo (VENTURINI, 2010).

5. CONSIDERAÇÕES FINAIS

- Fipronil 800 WG é moderadamente tóxico aos girinos de *L. catesbeianus* mas não ocasionou morte com as concentrações ministradas (0,04 mg/L, 0,08 mg/L e 0,4 mg/L);
- O metabolismo energético de *L. catesbeianus* responde de diversas maneiras para regular a hiperglicemia, proporcionada pela contaminação;

6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- AGROFIT, Sistema de Agrotóxicos Fitossanitários. **Regent 800 WG**: Relatório de produtos formulados (2020) Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Brasília, 3p.
- BARTON, B. A. **Stress in fishes**: a diversity of responses with particular reference to changes in circulating corticosteroids. *Integr Comp Biol.* 42(3):517-525, 2002.
- BECKER, A. G. et al. **Pesticide contamination of water alters the metabolism of juvenile silver catfish, *Rhamdia quelen***. *Ecotoxicology and environmental safety*, v.72, n. 6, p. 1734-1739, 2009.
- BEUGNET, F.; FRANC, M. **Insecticide and acaricide molecules and/or combinations to prevent pet infestation by ectoparasites**. *Trends In Parasitology*, v. 28, n. 7, p.267-279, jul. 2012.
- BIDINOTTO, P. M. *et al.* **Hepatic glycogen in eight tropical freshwater teleost fish: A procedure for field determinations of micro samples**. *Bol. Tec. Cepta*, v. 1, p. 53-60, 1997.
- CATENAZZI, A. **State of the world's amphibians**. *Annual Review of Environment and Resources*. 40:91-119, 2015.
- CHAGAS, B. R. C. **Respostas metabólicas em girinos de rã-touro, *Lithobates catesbeianus* após exposição ao zinco, cobre e cádmio**. 2019. Dissertação (Mestrado em Biotecnologia e Monitoramento Ambiental) – Universidade Federal de São Carlos, campus Sorocaba, Sorocaba. 2019.
- CONDESSA, S. S. **Estresse oxidativo causado pelo cromo hexavalente e ação da vitamina C em *Astyanax aff. bimaculatus* (Teleostei: Characidae) machos adultos e potencial bioativo da casca de coco verde (*Cocos nucifera* L.)** –2014. 204 f. Tese (Doutorado em Análises quantitativas e moleculares do Genoma; Biologia das células e dos tecidos) - Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, 2014.
- CONTI, M. E. **Biomarkers for environmental monitoring**. In: CONTI, M.E. (ed) *Biological monitoring: theory and applications*. Wit Press, Southampton, pp 25–46, 2008.
- DAS, P.C. *et al.* **Fipronil induces CYP isoforms and cytotoxicity in human hepatocytes**. *ChemBiol. Interac.*, v.164, p.200-214, 2006.
- DORNELLES M. F.; OLIVEIRA G. T. **Effect of atrazine, glyphosate and quinclorac on biochemical parameters, lipid peroxidation and survival in bullfrog tadpoles (*Lithobates catesbeianus*)**. *Arch Environ Contam Toxicol* 66:415–429, 2014.
- DUBOIS, M. *et al.* **Colorimetric method for determination of sugars and related substances**. *Anal. Chem.*, v. 28, p. 350-358, 1956.
- FRENZILLI, G.; NIGRO, M.; LYONS, B. P. **The comet assay for the evaluation of genotoxic impact in aquatic environments**. *Mutation Research*, v. 681.p,80-92, 2009.
- GANESHWADE, R. M. **Biochemical changes induced by dimethoate (Rogor 30% EC)**

in the gills of fresh water fish *Puntius ticto* (Hamilton). Journal of Ecology and The Natural Environment, v. 4, n. 7, p. 181-185, 2012.

GRANT, D.B. *et al.* **N. Fipronil:** action at the GABA receptor. In: Pesticides and the Future: minimizing chronic exposure of humans and the environment. IOS Press, Amsterdam. p.147-156, 1998.

GUNASEKARA, A. S.; TROUNG, T.; GOH, K. S.; SPURLOCK, F.; TJEERDEMA, R. S. **Environmental fate and toxicology of fipronil.** J. Pestic. Sci., v. 32, n. 3, p.189-199, 2007.

GURUSHANKARA, H. P. *et al.* **Impact of malathion stress on lipid metabolism in *Limnonectes limnocharis*.** Pesticide Biochemistry and Physiology, , v. 88, n. 1, p. 50–56, 2007.

HACKBARTH, A. **Respostas metabólicas e de crescimento de matrinxãs (*Brycon cephalus*, Günther, 1869) submetidos ao exercício sustentado.** 2004. Dissertação (Mestrado em Ciências fisiológicas) – Universidade Federal de São Carlos (UFSCAR), São Carlos, SP, 2004.

HAINZL, D.; CASIDA, J.E. **Fipronil insecticide: novel photochemical desulfinylation with retention of neurotoxicity.** Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A., v. 93, p.12746-12767, 1996.

HAINZL, Dominik; COLE, Loretta M.; CASIDA, John E. **Mechanisms for Selective Toxicity of Fipronil Insecticide and Its Sulfone Metabolite and Desulfinyl Photoproduct.** Chemical Research In Toxicology, v. 11, n. 12, p.1529-1535, dez. 1998.

HECNAR, S. J.; M'CLOSKEY, R. T. **Changes in the composition of a ranid frog community following bullfrog extinction.** Amer. Midl Nat. v. 137, p 145-150, 1997.

JACKSON, D. *et al.* **Fipronil Technical Fact Sheet.** National Pesticide Information Center, Oregon State University Extension Services.2009

KARDONG, K. V. **Vertebrados: Anatomia Comparada, Função e Evolução** 5ª ed. São Paulo. Roca, 2016.

KOAKOSKI, G. **Resposta de cortisol e danos histopatológicos em tilápias-do-nilo (*Oreochromis niloticus*) expostas ao herbicida roundupready.** 2012. 60 f. Dissertação (Mestrado em Farmacologia) – Universidade Federal de Santa Maria (UFSM), Santa Maria, RS, 2012.

LUCIA, M. *et al.* **Effect of dietary cadmium on lipid metabolism and storage of aquatic bird *Cairina moschata*.** Ecotoxicology, v. 19, n. 1,p. 163, 2010.

MALLATT, J. **Fish gill structural changes induced by toxicants and other irritants: a statistical review.** Can. J. Fish. Aquat. Sci., v. 42, p. 630-648, 1985.

MATAQUEIRO, M. I. **Toxicidade aguda do triclorfom em pacus juvenis *Piaractus mesopotamicus* (Holmberg, 1887).** Jaboticabal, 2006. 68 f. Tese (Doutorado) - Universidade Estadual Paulista, Centro de Aquicultura da UNESP Campus de Jaboticabal, 2006.

MEDINA, M. F. *et al.* **Histopathological and biochemical changes in the liver, kidney, and blood of amphibians intoxicated with cadmium.** Turkish Journal of Biology, v. 40, n. 1, p. 229- 238, 2016.

MELLO, R. M. **Estudo de alterações no metabolismo de carboidratos do zebrafish (*Danio rerio*) em águas contendo cromo hexavalente.** 2017. Dissertação (Mestrado em Avaliação de Impactos Ambientais) – Universidade La Salle, Canoas, 2017.

MIRON, D.S. **Respostas metabólicas e enzimáticas em jundiás *Rhamdia quelen* (heptapteridae) e piavas *Leporinus obtusidens* (anostomidae) expostos a herbicidas utilizados na cultura do arroz irrigado.** Dissertação (Doutorado em Bioquímica Toxicológica) – Programa de Pós-Graduação em Bioquímica Toxicológica, Universidade Federal de Santa Maria (UFSM) Santa Maria, RS, 2009.

MONTANHA, F. P.; PIMPÃO, C. T. **Efeitos toxicológicos de piretróides (cipermetrina e deltametrina) em peixes – revisão.** Revista Científica Eletrônica de Medicina Veterinária. Editora FAEF. Número 18, Jan. 2012.

MORAES, F. de D. **Respostas bioquímicas, genotóxicas, fisiológicas e histológicas de matrinxã (*Brycon amazonicus*, Spix; Agassiz 1829) exposto à cipermetrina (Galgotrin) /** Fernanda Dias de Moraes. -- São Carlos : UFSCar, 2013. 142 f.

MOREIRA, J. C. *et al.* **Avaliação integrada do impacto do uso de agrotóxicos sobre a saúde humana em uma comunidade agrícola de Nova Friburgo, RJ.** Ciência & Saúde Coletiva, v. 7, p. 299-311, 2002.

MOSSA, A. H.; SWELAMB, E. S.; MOHAFRASHA, S. M. M. **Sub-chronic exposure to fipronil induced oxidative stress, biochemical and histopathological changes in the liver and kidney of male albino rats.** Toxicology Reports, vol, 2,p.775-784, 2015.

NARAHASHI, T. *et al.* **Glutamate-activated chloride channels: Unique fipronil targets present in insects but not in mammals.** Pesticide Biochemistry And Physiology, v. 97, n. 2, p.149-152, jun. 2010.

NELSON, D. L.; COX, M. M. **Princípios de bioquímica de Lehninger.** 6. ed. Porto Alegre: Artmed, 2014.

OLIVEIRA, L. L. D. **Biomarcadores enzimáticos e testes ecotoxicológicos da toxicidade de fármacos em invertebrados aquáticos.** 2014, 279 f. Tese (Doutorado em Ciências da Engenharia Ambiental) – Escola de Engenharia de São Carlos, Universidade de São Paulo, São Carlos, 2014.

OSSANA, N.A.; CASTAÑÉ, P. M.; SALIBIÁN, A. **Use of *Lithobates catesbeianus* tadpoles in a multiple biomarker approach for the assessment of the water quality of the Reconquista River (Argentina).** Arch Envir Contam and Toxic. 65(3): 486-497. 2013.

PEI, Z. *et al.* **Dynamics of fipronil residue in vegetable-field ecosystem.** Chemosphere, v.57, p.1691-1969, 2004.

PORTRUNELI, N. **Efeito da exposição aguda do inseticida Fipronil e do herbicida 2,4-D e mistura de ambos em curimatá, *Prochilodus lineatus* (Teleosteo, Prochilodontidae).** 2020. Dissertação (Mestrado). Universidade Federal de São Carlos, São Carlos, SP.

RATRA, G. S.; CASIDA, J. E. **GABA receptor subunit composition relative to insecticide potency and selectivity.** *Toxicol. Lett.*, 122, p. 215-222, 2001.

REMPEL, S. S. B. **Alterações no metabolismo de carboidratos em jundiás (*Rhamdia quelen*) expostos a agroquímicos e ao estresse.** 2014. Dissertação (Mestrado em Avaliação de Impactos Ambientais) – Unilassale, Centro Universitário La Salle, Canoas, 2014.

ROLLINS-SMITH, L. A. *et al.* **Amphibian immune defences against chytridiomycosis: impacts of changing environments.** *Integrative Comparative Biology*. 51:552-62, 2011.

SANTOS, A. T. **Exposição aguda e crônica de fipronil em girinos de rã touro (*Lithobates catesbeianus*): efeitos genotóxicos e morfológicos.** 2021. Tese (Doutorado em Biologia Animal) – UNESP Campus de São José do Rio Preto, 2021.

SERRA, L. S. *et al.* **Revolução Verde: reflexões acerca da questão dos agrotóxicos.** *Revista do CEDS (Revista Científica do Centro de Estudos em Desenvolvimento Sustentável da UNDB) Número 4 – Volume 1*, 2016. Disponível em: www.undb.edu.br/ceds/revistadoceds. Acesso em 02 nov. 2021.

SCORZA JUNIOR, R. P.; FRANCO, A. A. **A temperatura e umidade na degradação de fipronil em dois solos de Mato Grosso do Sul.** *Cienc Rural* [online]. 2013, vol.43, n.7, pp.1203-1209.

SILVA, C. A., *et al.* **Efeito da metformina e eletroestimulação sobre as reservas de glicogênio do músculo sóleo normal e desnervado.** *Revista Brasileira de Fisioterapia*, São Carlos, v.3, n.2, p.55-60, 1999.

SILVA, D. R., *et al.* **Monitoramento de agrotóxicos em águas superficiais de regiões orizícolas no sul do Brasil.** *Ciência Rural*, v. 39, n. 9, p. 2.383-9, 2009.

SILVA, Diecson Ruy Orsolin da *et al.* **Ocorrência de agrotóxicos em águas subterrâneas de áreas adjacentes a lavouras de arroz irrigado.** *Química Nova*, [s.l.], p.748-752, 2011.

SOUNDERRAJ, S. F. L. *et al.* **Effect of systemic pesticide phosphamidon on haematological aspects of common frog *Rana tigrina*.** *International Journal of Pharmaceutical & Biological Archive*, v. 2, n. 6, 2011.

STEFANI MARGARIDO, T. C. **Biomarcadores bioquímicos de contaminação em girinos de anfíbios anuros expostos a Regent®800WG (Fipronil)** / Tatiana Cristina Stefani Margarido. - São José do Rio Preto: [s.n.], 2011. 54 f. : il. ; 30 cm.

TINGLE, C.C.D. *et al.* **Fipronil: Environmental Fate, Ecotoxicology, and Human Health Concerns.** *Rev. Environ. Contam. Toxicol.*, v.176, p.1-66, 2003.

TOFFOLI, A. L., *et al.* **Development, validation, and application of a method for the GC-MS analysis of fipronil and three of its degradation products in samples of water, soil,**

and sediment. J Environ Sc Health Part B 50: 753-759. 2015.

TOLEDO, L. F. **Anfíbios como Bioindicadores.** In: NEUMANN-LEITÃO, S.; EI-DIER, S. (Orgs.) Bioindicadores da Qualidade Ambiental. Recife: Instituto Brasileiro Pró- Cidadania. Pp. 196-208, 2009.

TOMITA, R. Y.; BEYRUTH, Z. **Toxicologia de agrotóxicos em ambiente aquático.** Biológico, [S. l.], v. 4, n. 2, p. 135–142, 2002.

USEPA - United States Environmental Protection Agency. **New Pesticide Fact Sheet.** U.S.EPA. Office of Prevention, Pesticides and Toxic Substances p.1-10, 1996.

VENTURINI, F. P. **Toxicidade aguda e respostas metabólicas e hematológicas do pacu (*Piaractus mesopotamicus*, Holmberg, 1887) exposto a concentração sub-letal de triclofon e recuperação** / Francine Perri Venturini. - São Carlos: UFSCar, 2010.

VIZOTTO, L. D. **Ranicultura.** Ciência e Cultura. v.36, p.42-45. 1984.

WALKER, C. H. *et al.* **Principles of ecotoxicology.** Taylor and Francis, Boca Raton, FL, 2006.

WILDE, G. E. *et al.* **Seed treatment for control of wheat insects and its effect on yield.** J. Agr. Urban. Entomol, v.18, p.1-11, 2001.

WENDELAAR BONGA, S. E. **The stress response in fish.** Physiological Reviews, v. 77, p. 591-625, 1997.

WILKENS, A. L. L. **Efeito dos herbicidas boral 500 SC e glifosato isolados e em mistura sobre o balanço oxidativo, os níveis de glicose e de corticosterona de *Rana catesbeiana* Shaw, 1802.** 2017. Dissertação (Mestrado em Zoologia) – Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2017.

YING, Guang-guo; KOOKANA, Rai. **Laboratory and field studies on the degradation of fipronil in a soil.** Australian Journal Of Soil Research, v. 40, n. 7, p.1095-1102, 2002. CSIRO Publishing. <http://dx.doi.org/10.1071/sr02018>.

ZAYA, R. M. *et al.* **Atrazine exposure affects growth, body condition and liver health in *Xenopus laevis* tadpoles.** Aquatic toxicology, v. 104, n. 3, p. 243-253, 2011.

ZHU, Guonian *et al.* **Microbial Degradation of Fipronil in Clay Loam Soil.** Water, Air, & Soil Pollution, [s.l.], v. 153, n. 1-4, p.35-44, mar. 2004.



NORTOX S/A
 Rodovia BR 369 – Km 197
 Tel. [43] 3274 8585
 Fax [43] 3274 8500
 86700 970 Arapongas/PR - Brasil

FIPRONIL NORTOX 800 WG

Registrado no Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento – MAPA sob nº 10412

COMPOSIÇÃO:

(RS)-5-amino-1-(2,6-dichloro- α,α,α -trifluoro-p-tolyl)-4-trifluoromethylsulfinylpyrazole-3-carbonitrile (FIPRONIL).....**800,0 g/kg (80,0 % m/m)**
 Outros Ingredientes.....**200,0 g/kg (20,0 % m/m)**

GRUPO	2B	INSETICIDA
-------	----	------------

PESO LÍQUIDO: VIDE RÓTULO.

CLASSE: Inseticida e cupinicida de ação de contato e ingestão do grupo químico Pirazol.

TIPO DE FORMULAÇÃO: Grânulos Dispersíveis em água - WG

TITULAR DO REGISTRO:

NORTOX S/A

Rodovia BR 369, km 197 - CEP: 86700-970 - ARAPONGAS – PR; CNPJ: 75.263.400/0001-99

Fone: (43)3274-8585 - Fax: (43) 3274.8500. Registro Agência de Defesa Agropecuária do Paraná – ADAPAR/PR Nº 466.

FABRICANTES DO PRODUTO TÉCNICO:

FIPRONIL TÉCNICO NORTOX

Registro MAPA Nº 012111

JIANGSU TUOQIU AGROCHEMICAL CO., LTD.

Kaitai Road, Coastal Industrial Park, Jiangsu Binhai Economic and Development Zone, Jiangsu - China.

NORTOX S/A

Rodovia BR 369, km 197 - CEP: 86700-970 - ARAPONGAS – PR; CNPJ: 75.263.400/0001-99

Fone: (43)3274-8585 - Fax: (43) 3274.8500. Registro Agência de Defesa Agropecuária do Paraná – ADAPAR/PR Nº 466.

JIANGSU CHANGQING BIOTECHNOLOGY CO. LTD.

No. 1 Jiangling Road, Putou Town Jiangdu District Yangzhou City, Jiangsu China

REGENT TÉCNICO

Registro MAPA Nº 05894

BASF AGRI PRODUCTION S.A.S.

Eubeuf, 32, Rue Verdun 76410 - Saint-Aubin-lès-Elbeuf - França

FIPRONIL TÉCNICO SULPHUR MILLS

Registro MAPA Nº 34217

TAGROS CHEMICALS INDIA LIMITED.

A4 / 1 & 2 Sipcot Industrial Complex, Pachayankuppam, 607 005 Cuddalore, Tamil Nadu, Índia.

FIPRONIL TÉCNICO TAGROS

Registro MAPA Nº 34317

TAGROS CHEMICALS INDIA LIMITED.

A4 / 1 & 2 Sipcot Industrial Complex, Pachayankuppam, 607 005 Cuddalore, Tamil Nadu, Índia.

FIPRONIL TÉCNICO GHARDA

Registro MAPA Nº 10614

GHARDA CHEMICALS LIMITED

B-27, MIDC, Dombivli (E) – 421203 Dist. Thane, Maharashtra State - Índia

FIPRONIL TÉCNICO HY-GREEN

Registro MAPA Nº 35318

JIANGSU CHANGQING AGROCHEMICAL CO., LTD.

Nº 8 Sanjiang Road, Jiangdu Economy Development Zone, 225215, Yangzhou City, Jiangsu, China.



NORTOX S/A
 Rodovia BR 369 – Km 197
 Tel. [43] 3274 8585
 Fax [43] 3274 8500
 86700 970 Arapongas/PR - Brasil

1.1.1 Aplicação Foliar:

CULTURA	PRAGAS	FIPRONIL NORTOX 800 WG DOSE		NÚMERO, ÉPOCA E INTERVALO DE APLICAÇÃO E VOLUME DE CALDA
		g a.i./ha	g p.c./ha	
ALGODÃO	Curuquerê (<i>Alabama argilacea</i>)	24	30	<p>Curuquerê: Iniciar o tratamento nas seguintes situações:</p> <ul style="list-style-type: none"> - Quando encontrar em média 1 (uma) lagarta por planta quando a cultura não tiver “maças” abertas; - Quando encontrar em média 2 (duas) lagartas por planta e cultura já possuir “maças” abertas. <p>Bicudo: Iniciar as aplicações quando encontrar 5% das estruturas de frutificação danificadas, fazendo baterias de 3 aplicações com intervalo de 7 dias entre as aplicações.</p> <p>Tripes: Aplicar o produto quando encontrar plantas com folhas deformadas e em média 6 tripes por planta, até a idade onde a praga provoca dano econômico (15 a 20 dias após a emergência da cultura). O volume de calda utilizado é de 100-300 litros/ha. Efetuar no máximo 3 aplicações.</p>
	Bicudo (<i>Anthonomus grandis</i>)	80	100	
	Tripes (<i>Frankliniella schultzei</i>)	12	15	
SOJA	Tamanduá-da-soja (<i>Sternechus susignatus</i>)	32	40	<p>Tamanduá-da-soja: Iniciar a aplicação assim que for constatada a presença de adultos do inseto na área. Repetir em caso de necessidade até que a cultura atinja a idade entre 35 e 40 dias, que é quando a mesma deixa de ser alvo do ataque desta praga. O volume de calda utilizado é de 100 - 200 litros/ha. Efetuar no máximo 2 aplicações.</p>

Nota: 1 Quilo do produto comercial contém 800 gramas de Fipronil.
 a.i – ingrediente ativo / p.c – produto comercial.

1.1.2 – Aplicação no solo

CULTURA	PRAGAS	FIPRONIL NORTOX 800 WG DOSE		NÚMERO, ÉPOCA E INTERVALO DE APLICAÇÃO E VOLUME DE CALDA
		g a.i./ha	g p.c./ha	
BATATA	Vaquinha-verde-amarela (<i>Diabrotica speciosa</i>)	120 – 160	150 - 200	<p>Para o controle da Larva-alfinete, realizar a aplicação em jato dirigido no sulco do plantio da cultura no momento da semeadura na dose de 150 g p.c./ha (120 g a.i./ha). Efetuar uma complementação na dose de 200 g p.c./ha (160 g a.i./ha) no momento da “amontoa” (15 a 25 dias após a semeadura), cobrindo o produto imediatamente com terra após a aplicação.</p> <p>O volume de calda utilizado é de 200 litros/ha. Efetuar no máximo 2 aplicações.</p>

VER 13 –29.05.2019



NORTOX S/A
Rodovia BR 369 – Km 197
Tel. [43] 3274 8585
Fax [43] 3274 8500
86700 970 Arapongas/PR - Brasil

CULTURA	PRAGAS	FIPRONIL NORTOX 800 WG DOSE		NÚMERO, ÉPOCA E INTERVALO DE APLICAÇÃO E VOLUME DE CALDA
		g a.i./ha	g p.c./ha	
CANÁ-DE-AÇÚCAR	Cupim (<i>Heterotermes tenuis</i>)	160 - 200	200 - 250	<p>Cana Planta: Cupins e Migdolos: aplicar preventivamente, diretamente no sulco do plantio, sobre os toletes de cana-de-açúcar, e cobrir imediatamente com uma camada de terra.</p> <p>O volume de calda utilizado é de 200 litros/ha.</p> <p>Usar a maior dose quando houver maior intensidade de ataque.</p> <p>Efetuar apenas uma aplicação.</p> <p>Cana Soca: Cupins: aplicar o produto abrindo um sulco lateral de cada lado da soqueira, somente após ser constatada a presença da praga na área e acima do nível de dano econômico.</p> <p>O volume de calda utilizado é de 300 litros/ha.</p>
	Migdolos (<i>Migdolos fryanus</i>)	400	500	
	Cupim (<i>Neocapritermes opacus</i>)	160 - 200	200 - 250	
	Cupim (<i>Procornitermes triacifer</i>)			
	Cupim (<i>Cornitermes cumulans</i>)			
MILHO	Vaquinha-verde-amarela (<i>Diabrotica speciosa</i>)	80	100	<p>Vaquinha-verde-amarela ou Larva Alfinete: No controle da larva-alfinete, proceder à aplicação preventivamente em jato dirigido no sulco de plantio no momento da realização da semeadura, com equipamento adaptado e bico de jato plano (leque), cobrindo o produto que foi pulverizado imediatamente com terra.</p> <p>Pão-de-galinha: Para o controle do Pão-de-galinha o produto poderá ser aplicado no momento da semeadura com o auxílio de pulverizadores específicos de tal forma que haja uma distribuição homogênea do produto.</p> <p>O volume de calda utilizado é de 250 a 300 litros/ha.</p> <p>Efetuar apenas uma aplicação.</p>
	Pão-de-galinha (<i>Diloboderus abderus</i>)	80	100	

Nota: 1 Quilo do produto comercial contém 800 gramas de Fipronil
a.i – ingrediente ativo / p.c – produto comercial.

1.2 - MODO DE APLICAÇÃO:

FIPRONIL NORTOX 800 WG é um sólido apresentado como grânulos dispersíveis em água para diluição em água. É aplicado através de pulverizadores tratorizados adaptados equipados com bicos de jato em cone da Serie X ou D como por exemplo JA-2, D2 ou similares ou em jato leque com Twinjet 8003 VB, dependendo do alvo a ser atingido. Deve procurar sempre colocar o produto no local de ocorrência da praga a se controlada.

Os bicos regulados à pressão 20 a 80 lb/pol², deverão proporcionar gotas de 110 a 250 micras de diâmetro com densidade mínima de 40 gotas/cm². Evitar aplicação na presença de ventos fortes (acima de 10 Km/hora), nas horas mais quentes do dia (temperatura acima de 27°) e umidade



NORTOX S/A
 Rodovia BR 369 – Km 197
 Tel. [43] 3274 8585
 Fax [43] 3274 8500
 86700 970 Arapongas/PR - Brasil

relativa do ar abaixo de 50%. A critério do Técnico Responsável as condições de aplicação podem ser alteradas.

PREPARAÇÃO DA CALDA

Para melhor preparação da calda, abasteça o pulverizador até 3/4 de sua capacidade mantendo agitador ou retorno acionado. Coloque a dose indicada do inseticida **FIPRONIL NORTOX 800 WG** em um recipiente com água a parte para se obter uma pré-diluição do produto e adicione ao tanque do pulverizador, após isso complete o volume restante do pulverizador com água e aplique de imediato sobre o alvo biológico.

1.3 - INTERVALO DE SEGURANÇA:

CULTURA	DIAS
Algodão	30 dias
Batata	(1)
Cana-de-açúcar (Aplicação no sulco do plantio)	(1)
Milho	(1)
Soja	60 dias

(1) Intervalo de segurança não determinado devido à modalidade de emprego.

1.4 - INTERVALO DE REENTRADA DE PESSOAS NAS CULTURAS E ÁREAS TRATADAS:

Não entre na área em que o produto foi aplicado antes da secagem completa da calda (no mínimo 24 horas após a aplicação). Caso necessite entrar antes desse período, utilize os equipamentos de proteção individual (EPIs) recomendados para o uso durante a aplicação.

1.5 - LIMITAÇÕES DE USO:

Uso restrito as culturas agrícolas, alvos e doses registrados.
 O produto não é autorizado para modalidade de aplicação aérea.

1.6 - INFORMAÇÕES SOBRE OS EQUIPAMENTOS DE PROTEÇÃO INDIVIDUAL A SEREM UTILIZADOS:

VIDE ITENS PRECAUÇÕES GERAIS, PRECAUÇÕES NA PREPARAÇÃO DA CALDA E PRECAUÇÕES DURANTE A APLICAÇÃO.

1.7 - INFORMAÇÕES SOBRE OS EQUIPAMENTOS DE APLICAÇÃO A SEREM USADOS:

Vide Modo de Aplicação.

1.8 - DESCRIÇÃO DOS PROCESSOS DE TRÍPLICE LAVAGEM DA EMBALAGEM OU TECNOLOGIA EQUIVALENTE:

VIDE DADOS RELATIVOS À PROTEÇÃO DO MEIO AMBIENTE.

1.9 - INFORMAÇÕES SOBRE OS PROCEDIMENTOS PARA A DEVOLUÇÃO, DESTINAÇÃO, TRANSPORTE, RECICLAGEM, REUTILIZAÇÃO E INUTILIZAÇÃO DAS EMBALAGENS VAZIAS:

VIDE DADOS RELATIVOS À PROTEÇÃO DO MEIO AMBIENTE.

1.10 - INFORMAÇÕES SOBRE OS PROCEDIMENTOS PARA A DEVOLUÇÃO E DESTINAÇÃO DE PRODUTOS IMPRÓPRIOS PARA UTILIZAÇÃO OU EM DESUSO:

VIDE DADOS RELATIVOS À PROTEÇÃO DO MEIO AMBIENTE.

1.11 - INFORMAÇÕES SOBRE MANEJO DE RESISTÊNCIA:

O inseticida **FIPRONIL NORTOX 800 WG** pertence ao grupo 2B (Bloqueadores de canais de cloro mediados pelo GABA - Pirazol) e o uso repetido deste inseticida ou de outro produto do mesmo grupo pode aumentar o risco de desenvolvimento de populações resistentes em algumas culturas.



NORTOX S/A
 Rodovia BR 369 – Km 197
 Tel. [43] 3274 8585
 Fax [43] 3274 8500
 86700 970 Arapongas/PR - Brasil

Para manter a eficácia e longevidade de **FIPRONIL NORTOX 800 WG** como uma ferramenta útil de manejo de pragas agrícolas, é necessário seguir as estratégias de MIP que podem prevenir, retardar ou reverter a evolução da resistência.

1.12 - INFORMAÇÕES SOBRE MANEJO INTEGRADO DE PRAGAS:

- Rotacionar as aplicações com produtos efetivos para a praga alvo com mecanismos de ação distintos do Grupo 2B.
- Respeitar o intervalo de aplicação para a reutilização de **FIPRONIL NORTOX 800 WG** ou outros produtos do Grupo 2B quando for necessário;
- Sempre que possível, realizar as aplicações direcionadas as fases mais suscetíveis das pragas a serem controladas;
- Adotar outras táticas de controle, previstas no Manejo Integrado de Pragas (MIP) como rotação de culturas, controle biológico, controle por comportamento etc., sempre que disponível e apropriado;
- Utilizar as recomendações e modalidade de aplicação de acordo com a bula do produto;
- Sempre consultar um Engenheiro Agrônomo para o direcionamento das principais estratégias regionais para o manejo de resistência e para a orientação técnica na aplicação de inseticidas;
- Informações sobre possíveis casos de resistência em insetos e ácaros devem ser encaminhados para o IRAC-BR (www.irac-br.org.br), ou para o Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (www.agricultura.gov.br).

MINISTÉRIO DA SAUDE – AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA.

2. DADOS RELATIVOS À PROTEÇÃO DA SAÚDE HUMANA

ANTES DE USAR LEIA COM ATENÇÃO AS INSTRUÇÕES

PRODUTO PERIGOSO

USE OS EQUIPAMENTOS DE PROTEÇÃO INDIVIDUAL COMO INDICADO

2.1. PRECAUÇÕES GERAIS:

- Produto para **uso exclusivamente agrícola**.
- O manuseio do produto deve ser realizado apenas por trabalhador capacitado.
- Não coma, não beba e não fume durante o manuseio e aplicação do produto.
- Não transporte o produto juntamente com alimentos, medicamentos, rações, animais e pessoas.
- Não manuseie ou aplique o produto sem os equipamentos de proteção individual (EPI) recomendados.
- Não utilize equipamentos com vazamentos ou defeitos e não desentupa bicos, orifícios e válvulas com a boca.
- Não utilize equipamentos de proteção individual (EPI) danificados, úmidos, vencidos ou com vida útil fora da especificação. Siga as recomendações determinadas pelo fabricante.
- Não aplique próximo de escolas, residências e outros locais de permanência de pessoas e de áreas de criação de animais. Siga as orientações técnicas específicas de um profissional habilitado.
- Caso ocorra contato acidental da pessoa com o produto, siga as orientações descritas em primeiros socorros e procure rapidamente um serviço médico de emergência.
- Mantenha o produto adequadamente fechado, em sua embalagem original, em local trancado, longe do alcance de crianças e de animais.
- Os equipamentos de proteção individual (EPI) recomendados devem ser vestidos na seguinte ordem: macacão com tratamento hidrorrepelente, botas de borracha, avental, máscara, óculos, touca árabe e luvas de nitrila.



NORTOX S/A
 Rodovia BR 369 – Km 197
 Tel. [43] 3274 8585
 Fax [43] 3274 8500
 86700 970 Arapongas/PR - Brasil

- Seguir as recomendações do fabricante do Equipamento de Proteção Individual (EPI) com relação à forma de limpeza, conservação e descarte do EPI danificado.

2.2. PRECAUÇÕES NA PREPARAÇÃO DA CALDA:

- Produto extremamente irritante para os olhos.

- Utilize equipamento de proteção individual – EPI: macacão com tratamento hidrorrepelente com mangas compridas passando por cima do punho das luvas e as pernas das calças por cima das botas; botas de borracha; avental impermeável; máscara com filtro combinado (filtro químico contra vapores orgânicos e filtro mecânico classe P2 ou P3); óculos de segurança com proteção lateral; touca árabe e luvas de nitrila.

- Manuseie o produto em local aberto e ventilado, utilizando os equipamentos de proteção individual (EPI) recomendados.

- Ao abrir a embalagem, faça-o de modo a evitar a dispersão de poeira.

- Caso ocorra contato acidental da pessoa com o produto, siga as orientações descritas em primeiros socorros e procure rapidamente um serviço médico de emergência.

2.3. PRECAUÇÕES DURANTE A APLICAÇÃO:

- Evite o máximo possível o contato com a área tratada.

- Aplique o produto somente nas doses recomendadas e observe o intervalo de segurança (intervalo de tempo entre a última aplicação e a colheita).

- Não permita que animais, crianças ou qualquer pessoa não autorizada permaneça na área em que estiver sendo aplicado do produto.

- Não aplique o produto na presença de ventos fortes e nas horas mais quentes do dia, respeitando as melhores condições climáticas para cada região.

- Verifique a direção do vento e aplique de modo a não entrar na névoa do produto.

- Utilize equipamento de proteção individual – EPI: macacão com tratamento hidrorrepelente com mangas compridas passando por cima do punho das luvas e as pernas das calças por cima das botas; botas de borracha; máscara com filtro combinado (filtro químico contra vapores orgânicos e filtro mecânico classe P2 ou P3); óculos de segurança com proteção lateral; touca árabe e luvas de nitrila.

- Recomendações adicionais de segurança podem ser adotadas pelo técnico responsável pela aplicação em função do método utilizado ou da adoção de medidas coletivas de segurança.

2.4. PRECAUÇÕES APÓS A APLICAÇÃO:

- Sinalizar a área tratada com os dizeres: “PROIBIDA A ENTRADA. ÁREA TRATADA” e manter os avisos até o final do período de reentrada.

- Evite o máximo possível o contato com a área tratada. Caso necessite entrar na área tratada com o produto antes do término do intervalo de reentrada, utilize os Equipamentos de proteção individual (EPI) recomendados para o uso durante a aplicação.

- Não permita que animais, crianças ou qualquer pessoa não autorizada permaneça em áreas tratadas logo após a aplicação.

- Aplique o produto somente nas doses recomendadas e observe o intervalo de segurança (intervalo de tempo entre a última aplicação e a colheita).

- Antes de retirar os equipamentos de proteção individual (EPI), lave as luvas ainda vestidas para evitar contaminação.

- Mantenha o restante do produto adequadamente fechado em sua embalagem original em local trancado, longe do alcance de crianças e animais.

- Tome banho imediatamente após a aplicação do produto e troque as roupas.



NORTOX S/A
 Rodovia BR 369 – Km 197
 Tel. [43] 3274 8585
 Fax [43] 3274 8500
 86700 970 Arapongas/PR - Brasil

- Lave as roupas e os equipamentos de proteção individual (EPI) separados das demais roupas da família. Ao lavar as roupas, utilizar luvas e avental impermeáveis.
- Após cada aplicação do produto faça a manutenção e a lavagem dos equipamentos de aplicação.
- Não reutilizar a embalagem vazia.
- No descarte de embalagens utilize equipamento de proteção individual – EPI: macacão com tratamento hidrorrepelente com mangas compridas, luvas de nitrila e botas de borracha.
- Os equipamentos de proteção individual (EPIs) recomendados devem ser retirados na seguinte ordem: touca árabe, óculos, avental, botas, macacão, luvas e máscara.
- Recomendações adicionais de segurança podem ser adotadas pelo técnico responsável pela aplicação em função do método utilizado ou da adoção de medidas coletivas de segurança.
- Fique atento ao tempo de uso dos filtros, seguindo corretamente as especificações do fabricante.

PRIMEIROS SOCORROS: procure imediatamente um serviço médico de emergência levando a embalagem, rótulo, bula, folheto informativo e/ou receituário agrônomo do produto.

Ingestão: Se engolir o produto, não provoque vômito, exceto quando houver indicação médica. Caso o vômito ocorra naturalmente, deite a pessoa de lado. Não dê nada para beber ou comer.

Olhos: ATENÇÃO: PRODUTO EXTREMAMENTE IRRITANTE AOS OLHOS. Em caso de contato, lave com muita água corrente durante pelo menos 15 minutos. Evite que a água de lavagem entre no outro olho. Caso utilize lente de contato, deve-se retirá-la.

Pele: Em caso de contato, tire toda roupa e acessórios (cinto, pulseira, óculos, relógios, anéis, etc.) contaminados e lave a pele com muita água corrente e sabão neutro, por pelo menos 15 minutos.

Inalação: Se o produto for inalado (“respirado”), leve a pessoa para um local aberto e ventilado.

A pessoa que ajudar deve proteger-se da contaminação usando luvas e avental impermeáveis, por exemplo.

- INTOXICAÇÕES POR FIPRONIL NORTOX 800 WG -

INFORMAÇÕES MÉDICAS

Grupo químico	Fipronil: Pirazol
Vias de exposição	Oral, inalatória, dérmica e ocular
Toxicocinética	Em animais de laboratório, não houve diferença significativa entre os ratos machos e fêmeas quanto à absorção, distribuição, metabolismo ou excreção do Fipronil, após administração oral. Uma vez absorvido, o Fipronil foi rapidamente metabolizado e os resíduos foram amplamente distribuídos nos tecidos. Quantidades significativas permaneceram particularmente em tecidos adiposos, uma semana após o tratamento. A meia vida do Fipronil no sangue (150 - 245 h) pode refletir a liberação lenta dos resíduos a partir do tecido adiposo, com potencial de bioacumulação dos produtos metabólicos do Fipronil. Em ratos, as principais vias de excreção foram as fezes (45-75%), seguida pela urina (5-25%).



NORTOX S/A
 Rodovia BR 369 – Km 197
 Tel. [43] 3274 8585
 Fax [43] 3274 8500
 86700 970 Araçongas/PR - Brasil

Mecanismo de toxicidade	E um bloqueador seletivo reversível do canal de cloro ligado ao ácido gama toxicidade aminobutírico (GABA), um dos neurotransmissores responsáveis pelos efeitos inibitórios no sistema nervoso central (SNC) em mamíferos. Diferenças na sensibilidade do receptor GABA fazem o produto mais tóxico para insetos do que para mamíferos.												
Sintomas e sinais clínicos	<p>Toxicidade aguda: os dados de intoxicação em humanos são muito limitados; em animais, o SNC foi o órgão alvo da toxicidade (convulsões).</p> <table border="1" data-bbox="459 555 1329 801"> <thead> <tr> <th colspan="2">Sinais e sintomas</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>Dérmica</td> <td>Irritação; não é sensibilizante dérmico</td> </tr> <tr> <td>Ocular</td> <td>Irritação</td> </tr> <tr> <td>Inalatória</td> <td>Baixa toxicidade</td> </tr> <tr> <td>Oral</td> <td>Elevada toxicidade</td> </tr> <tr> <td>Sistêmica</td> <td>Em humanos tem se observado sintomas no SNC com alteração no nível de consciência. Em animais, depressão no SNC.</td> </tr> </tbody> </table> <p>Toxicidade crônica: não relatada em humanos.</p>	Sinais e sintomas		Dérmica	Irritação; não é sensibilizante dérmico	Ocular	Irritação	Inalatória	Baixa toxicidade	Oral	Elevada toxicidade	Sistêmica	Em humanos tem se observado sintomas no SNC com alteração no nível de consciência. Em animais, depressão no SNC.
Sinais e sintomas													
Dérmica	Irritação; não é sensibilizante dérmico												
Ocular	Irritação												
Inalatória	Baixa toxicidade												
Oral	Elevada toxicidade												
Sistêmica	Em humanos tem se observado sintomas no SNC com alteração no nível de consciência. Em animais, depressão no SNC.												
Outros componentes	Os outros componentes da formulação podem explicar os efeitos de irritação ocular importante. Ingestão de grandes quantidades do produto pode provocar diarréia profusa e secundariamente desidratação, hipotensão e alterações hidroeletrólíticas (hipocalemia hipernatremia).												
Diagnóstico	O diagnóstico é estabelecido pela confirmação da exposição e pela ocorrência de quadro clínico compatível. Obs.: Em se apresentando sinais e sintomas indicativos de intoxicação aguda, trate o paciente imediatamente.												
Tratamento	<p>Antídoto: não há antídoto específico.</p> <p>Tratamento: as medidas gerais são orientadas à remoção da fonte de exposição, descontaminação do paciente, proteção das vias respiratórias, prevenção de pneumonia por aspiração, tratamento sintomático e de suporte.</p> <p>Exposição Oral: em casos de ingestão de grandes quantidades proceder:</p> <ul style="list-style-type: none"> • Lavagem gástrica: na maioria dos casos não é necessário. <ol style="list-style-type: none"> 1. Considere logo após ingestão de uma grande quantidade do produto (até 1 hora). Proteger as vias aéreas em posição de <i>Trendelenburg</i> e decúbito lateral esquerdo ou por intubação endotraqueal. 2. Contra-indicações: perda de reflexos protetores das vias respiratórias ou alteração de consciência em pacientes não-intubados; corrosivos e hidrocarbonetos; risco de hemorragia ou perfuração gastrointestinal. • Carvão ativado: se liga à maioria dos agentes tóxicos e pode diminuir a absorção sistêmica deles, se administrado logo após a ingestão (1 hora). <ol style="list-style-type: none"> 1. Dose: suspensão de carvão ativado em água (240 ml de água/30 g de carvão). Dose usual: 25 a 100 g em adultos / adolescentes, 25 a 50 g em crianças de (1 a 12 anos) e 1 g/kg em crianças < 1 ano; 2. Não atua com metais ou ácidos e bases fortes, nem com substâncias irritantes, quando pode dificultar a endoscopia. • Não provocar vômito, caso ocorra espontaneamente não deve ser evitado; deitar o paciente de lado para evitar que aspire resíduos. • Convulsões: indicado benzodiazepínicos IV: Diazepam (adultos = 5-10 mg; crianças = 0,2-0,5 mg/kg, e repetir a cada 10-15 minutos) ou Lorazepam (adultos: 2-4 mg; crianças: 0,05-0,1 mg/kg). Considerar Fenobarbital ou Propofol na recorrência das convulsões em >5 anos. • Emergência, suporte e tratamento sintomático: manter as vias aéreas permeáveis: aspirar secreções, administrar oxigênio e intubar se necessário. Atenção especial para parada respiratória repentina, hipotensão e arritmias. 												

VER 13 -29.05.2019



NORTOX S/A
 Rodovia BR 369 – Km 197
 Tel. [43] 3274 8585
 Fax [43] 3274 8500
 86700 970 Arapongas/PR - Brasil

Tratamento	<p>Uso de ventilação assistida se requerido. Repor volemia com fluidos intravenosos. Monitorizar oxigenação (oximetria/gasometria), eletrólitos, ECG, radiografia de tórax, etc. Tratar acidose metabólica severa com Bicarbonato de sódio. Corrigir hipokalemia e hipernatremia.</p> <ul style="list-style-type: none"> • Hipotensão: infundir (1 0-20) ml/kg de líquido isotônico. Se persistir: Dopamina (5-20 µg/kg/min) ou Norepinefrina (adulto: começar infusão de 0,5-1 µg/min; crianças: começar com 0,1 µg/kg/min). • Manter internação por no mínimo 24 horas após o desaparecimento dos sintomas. 	
	Exposição Inalatória	Se ocorrer tosse/dispnéia, avalie quanto a irritação, bronquite ou pneumonia. Administre oxigênio e auxilie na ventilação. Trate broncoespasmos com β2-agonistas via inalatória e corticosteroides via oral ou parenteral.
	Exposição Ocular	Lave os olhos expostos com quantidades copiosas de água ou salina 0,9%, a temperatura ambiente, por pelo menos 15 minutos. Se os sintomas persistirem, encaminhar o paciente para o especialista.
	Exposição Dérmica	Remova as roupas contaminadas e lave a área exposta com abundante água e sabão. Encaminhar o paciente para o especialista caso à irritação ou dor persistirem.
<p>CUIDADOS para os prestadores de primeiros socorros:</p> <ul style="list-style-type: none"> • EVITAR aplicar respiração boca-boca em caso de ingestão do produto, usar equipamento de reanimação manual (Ambú). <p>Usar equipamentos de PROTEÇÃO: para evitar contato cutâneo, ocular e inalatório com o produto.</p>		
Contra-indicações	A indução do vômito é contra-indicada em razão do risco de aspiração e de pneumonite química.	
Efeitos sinérgicos	Com outros irritantes.	
Atenção	Ligue para o Disque-Intoxicação: 0800-722-6001 para notificar o caso e obter informações especializadas sobre o diagnóstico e tratamento.	
	Rede Nacional de Centros de Informação e Assistência Toxicológica RENACIAT – ANVISA/MS. Notifique ao Sistema de Informação de Agravos de Notificação (SINAN/MS)	
	Centro de Controle de Intoxicações de Londrina – PR (43) 3371-2244 Telefone de Emergência da empresa: (43) 3374-8585	

Mecanismo de Ação, Absorção e Excreção para Animais de Laboratório:

Vide item Toxicocinética e Mecanismos de toxicidade no quadro acima.

Efeitos Agudos e Crônicos para Animais de Laboratório:

Efeitos agudos:

DL₅₀ oral em ratos: > 50 - 300 mg/kg peso corpóreo

DL₅₀ dérmica em ratos: 767,36 mg/kg peso corpóreo

CL₅₀ inalatória em ratos: 0,667 mg/L

Corrosão/Irritação cutânea em coelhos: No estudo realizado o produto não se mostrou irritante à pele.

Corrosão/Irritação ocular em coelhos: No estudo realizado os animais apresentaram opacidade, hiperemia e quemose com reversão total das irritações e opacidade em 7 dias.

Sensibilização cutânea em cobaias: O produto não é sensibilizante.

Efeitos crônicos:

Os efeitos crônicos observados nas doses mais altas de Fipronil em ratos foram alterações no fígado, tireóide e rins. Episódios convulsivos não foram observados na dose baixa, mas foram



NORTOX S/A
 Rodovia BR 369 – Km 197
 Tel. [43] 3274 8585
 Fax [43] 3274 8500
 86700 970 Arapongas/PR - Brasil

observados com o aumento da dose. Em ratos machos e fêmeas, o Fipronil induziu a formação de tumores na dose mais alta do estudo. Não foi observada evidência de carcinogenicidade em camundongos. Não foram observados efeitos genotóxicos ou mutagênicos.

Estudos em ratos mostraram efeitos reprodutivos (diminuição da ninhada, do peso corporal, do acasalamento, da sobrevivência pós-implantação e da sobrevivência pós-natal dos filhotes, e retardo no desenvolvimento físico), mas não foram observados efeitos teratogênicos causados pelo Fipronil.

INSTITUTO BRASILEIRO DO MEIO AMBIENTE E DOS RECURSOS NATURAIS RENOVÁVEIS

3 - DADOS RELATIVOS À PROTEÇÃO AO MEIO AMBIENTE:

3.1. PRECAUÇÕES DE USO E ADVERTÊNCIAS QUANTO À PROTEÇÃO AO MEIO AMBIENTE:

Este produto é:

- | | |
|-------------------------------------|---|
| <input type="checkbox"/> | Altamente Perigoso ao Meio Ambiente (CLASSE I). |
| <input checked="" type="checkbox"/> | MUITO PERIGOSO AO MEIO AMBIENTE (CLASSE II). |
| <input type="checkbox"/> | Perigoso ao Meio Ambiente (CLASSE III). |
| <input type="checkbox"/> | Pouco Perigoso ao Meio Ambiente (CLASSE IV). |

- Este produto é **ALTAMENTE PERSISTENTE** ao meio ambiente;
- Este produto é **ALTAMENTE TÓXICO** para organismos aquáticos (microcrustáceos e peixes);
- Este produto é **ALTAMENTE TÓXICO** para abelhas, podendo atingir outros insetos benéficos. Não aplique o produto no período de maior visitação das abelhas.
- Evite a contaminação ambiental - **Preserve a Natureza.**
- Não utilize equipamento com vazamento.
- Não aplique o produto na presença de ventos fortes ou nas horas mais quentes.
- Aplique somente as doses recomendadas.
- Não lave as embalagens ou equipamento aplicador em lagos, fontes, rios e demais corpos d'água. Evite a contaminação da água.
- A destinação inadequada de embalagens ou restos de produtos ocasiona contaminação do solo, da água e do ar, prejudicando a fauna, a flora e a saúde das pessoas.

3.2. INSTRUÇÕES DE ARMAZENAMENTO DO PRODUTO, VISANDO SUA CONSERVAÇÃO E PREVENÇÃO CONTRA ACIDENTES:

- Mantenha o produto em sua embalagem original, sempre fechada.
- O local deve ser exclusivo para produtos tóxicos, devendo ser isolado de alimentos, bebidas, rações ou outros materiais.
- A construção deve ser de alvenaria ou de material não combustível.
- O local deve ser ventilado, coberto e ter piso impermeável.
- Coloque placa de advertência com os dizeres: **CUIDADO VENENO.**
- Tranque o local, evitando o acesso de pessoas não autorizadas, principalmente crianças.
- Deve haver sempre embalagens adequadas disponíveis, para envolver embalagens rompidas ou para o recolhimento de produtos vazados.
- Em caso de armazéns, deverão ser seguidas as instruções constantes da NBR 9843 da Associação Brasileira de Normas Técnicas - ABNT.
- Observe as disposições constantes da legislação estadual e municipal.

3.3. INSTRUÇÕES EM CASO DE ACIDENTES:

- Isole e sinalize a área contaminada.
- Contate as autoridades locais competentes e a empresa **NORTOX S/A**, pelo telefone de emergência: (43) 3274-8585.
- Utilize equipamento de proteção individual - EPI (macacão impermeável, luvas e botas de borracha, óculos protetor e máscara com filtros).



NORTOX S/A
 Rodovia BR 369 – Km 197
 Tel. [43] 3274 8585
 Fax [43] 3274 8500
 86700 970 Arapongas/PR - Brasil

- Em caso de derrame, siga as instruções abaixo:

- **Piso pavimentado:** recolha o material com auxílio de uma pá e coloque em recipiente lacrado e identificado devidamente. O produto derramado não deverá mais ser utilizado. Neste caso, consulte o registrante através do telefone indicado no rótulo para a sua devolução e destinação final.
- **Solo:** Retire as camadas de terra contaminada até atingir o solo não contaminado, recolha esse material e coloque em recipiente lacrado e devidamente identificado. Contate a empresa registrante conforme indicado acima.
- **Corpos d'água:** Interrompa imediatamente a captação para o consumo humano ou animal, e contate o órgão ambiental mais próximo e o centro de emergência da empresa, visto que as medidas a serem adotadas dependem das proporções do acidente, das características do corpo hídrico em questão e da quantidade do produto envolvido.

Em caso de incêndio, use EXTINTORES DE ÁGUA EM FORMA DE NEBLINA, CO₂, PÓ QUÍMICO, ETC, ficando a favor do vento para evitar intoxicação.

3.4. PROCEDIMENTOS DE LAVAGEM, ARMAZENAMENTO, DEVOLUÇÃO, TRANSPORTE E DESTINAÇÃO DE EMBALAGENS VAZIAS E RESTOS DE PRODUTOS IMPRÓPRIOS PARA UTILIZAÇÃO OU EM DESUSO:

EMBALAGEM RÍGIDA LAVÁVEL

- LAVAGEM DA EMBALAGEM

Durante o procedimento de lavagem o operador deverá estar utilizando os mesmos EPI's – Equipamentos de Proteção Individual – recomendados para o preparo da calda do produto.

- **Tríplice Lavagem (Lavagem Manual):**

Esta embalagem deverá ser submetida ao processo de Tríplice Lavagem, imediatamente após o seu esvaziamento, adotando-se os seguintes procedimentos:

- Esvazie completamente o conteúdo da embalagem no tanque do pulverizador, mantendo-a na posição vertical durante 30 segundos;
- Adicione água limpa à embalagem até ¼ do seu volume;
- Tampe bem a embalagem e agite-a, por 30 segundos;
- Despeje a água de lavagem no tanque pulverizador;
- Faça esta operação três vezes;
- Inutilize a embalagem plástica ou metálica perfurando o fundo.

- **Lavagem sob Pressão:**

Ao utilizar pulverizadores dotados de equipamentos de lavagem sob pressão seguir os seguintes procedimentos:

- Encaixe a embalagem vazia no local apropriado do funil instalado no pulverizador;
- Acione o mecanismo para liberar o jato de água;
- Direcione o jato de água para todas as paredes internas da embalagem, por 30 segundos;
- A água de lavagem deve ser transferida para o tanque do pulverizador;
- Inutilize a embalagem plástica ou metálica, perfurando o fundo.

Ao utilizar equipamento independente para lavagem sob pressão adotar os seguintes procedimentos:

- Imediatamente após o esvaziamento do conteúdo original da embalagem, mantê-la invertida sobre a boca do tanque de pulverização, em posição vertical, durante 30 segundos;
- Manter a embalagem nessa posição, introduzir a ponta do equipamento de lavagem sob pressão, direcionando o jato de água para todas as paredes internas da embalagem, por 30 segundos;
- Toda a água de lavagem é dirigida diretamente para o tanque do pulverizador;



NORTOX S/A
 Rodovia BR 369 – Km 197
 Tel. [43] 3274 8585
 Fax [43] 3274 8500
 86700 970 Araçongas/PR - Brasil

- Inutilize a embalagem plástica ou metálica, perfurando o fundo.

- ARMAZENAMENTO DA EMBALAGEM VAZIA

Após a realização da Tríplice Lavagem ou Lavagem Sob Pressão, esta embalagem deve ser armazenada com a tampa, em caixa coletiva, quando existente, separadamente das embalagens não lavadas.

O armazenamento das embalagens vazias, até sua devolução pelo usuário, deve ser efetuado em local coberto, ventilado, ao abrigo de chuva e com piso impermeável, ou no próprio local onde são guardadas as embalagens cheias.

- DEVOLUÇÃO DA EMBALAGEM VAZIA

No prazo de até um ano da data da compra, é obrigatória a devolução da embalagem vazia, com tampa, pelo usuário, ao estabelecimento onde foi adquirido o produto ou no local indicado na nota fiscal, emitida no ato da compra.

Caso o produto não tenha sido totalmente utilizado nesse prazo, e ainda esteja dentro de seu prazo de validade, será facultada a devolução da embalagem em até 6 meses após o término do prazo de validade.

O usuário deve guardar o comprovante de devolução para efeito de fiscalização, pelo prazo mínimo de um ano após a devolução da embalagem vazia.

- TRANSPORTE

As embalagens vazias não podem ser transportadas junto com alimentos, bebidas, medicamentos, rações, animais e pessoas.

EMBALAGEM RÍGIDA NÃO LAVÁVEL

ESTA EMBALAGEM NÃO PODE SER LAVADA

- ARMAZENAMENTO DA EMBALAGEM VAZIA

O armazenamento das embalagens vazias, até sua devolução pelo usuário, deve ser efetuado em local coberto, ventilado, ao abrigo de chuva e com piso impermeável, ou no próprio local onde são guardadas as embalagens cheias.

Use luvas no manuseio dessa embalagem.

Essa embalagem deve ser armazenada com sua tampa, em caixa coletiva, quando existente, separadamente das embalagens lavadas.

- DEVOLUÇÃO DA EMBALAGEM VAZIA

No prazo de até um ano da data da compra, é obrigatória a devolução da embalagem vazia, com tampa, pelo usuário, ao estabelecimento onde foi adquirido o produto ou no local indicado na nota fiscal, emitida no ato da compra.

Caso o produto não tenha sido totalmente utilizado nesse prazo, e ainda esteja dentro de seu prazo de validade, será facultada a devolução da embalagem em até 6 meses após o término do prazo de validade.

O usuário deve guardar o comprovante de devolução para efeito de fiscalização, pelo prazo mínimo de um ano após a devolução da embalagem vazia.

- TRANSPORTE

As embalagens vazias não podem ser transportadas junto com alimentos, bebidas, medicamentos, rações, animais e pessoas.

EMBALAGEM FLEXÍVEL

ESTA EMBALAGEM NÃO PODE SER LAVADA

- ARMAZENAMENTO DA EMBALAGEM VAZIA

O armazenamento da embalagem vazia, até sua devolução pelo usuário, deve ser efetuado em local coberto, ventilado, ao abrigo de chuva e com piso impermeável, no próprio local onde são guardadas as embalagens cheias.



NORTOX S/A
 Rodovia BR 369 – Km 197
 Tel. [43] 3274 8585
 Fax [43] 3274 8500
 86700 970 Arapongas/PR - Brasil

Use luvas no manuseio dessa embalagem.

Essa embalagem vazia deve ser armazenada separadamente das lavadas, em saco plástico transparente (Embalagens Padronizadas - modelo ABNT), devidamente identificado e com lacre, o qual deverá ser adquirido nos Canais de Distribuição.

- DEVOLUÇÃO DA EMBALAGEM VAZIA

No prazo de até um ano da data da compra, é obrigatória a devolução da embalagem vazia, pelo usuário, ao estabelecimento onde foi adquirido o produto ou no local indicado na nota fiscal, emitida no ato da compra.

Caso o produto não tenha sido totalmente utilizado nesse prazo, a devolução deverá ocorrer até o fim do seu prazo de validade.

O usuário deve guardar o comprovante de devolução para efeito de fiscalização, pelo prazo mínimo de um ano após a devolução da embalagem vazia.

- TRANSPORTE

As embalagens vazias não podem ser transportadas junto com alimentos, bebidas, medicamentos, rações, animais e pessoas. Devem ser transportadas em saco plástico transparente (Embalagens Padronizadas - modelo ABNT), devidamente identificado e com lacre, o qual deverá ser adquirido nos Canais de Distribuição.

EMBALAGEM SECUNDÁRIA (NÃO CONTAMINADA)
ESTA EMBALAGEM NÃO PODE SER LAVADA

- ARMAZENAMENTO DA EMBALAGEM VAZIA

O armazenamento da embalagem vazia, até sua devolução pelo usuário, deve ser efetuado em local coberto, ventilado, ao abrigo de chuva e com piso impermeável, no próprio local onde guardadas as embalagens cheias.

- DEVOLUÇÃO DA EMBALAGEM VAZIA

É obrigatória a devolução da embalagem vazia, pelo usuário, onde foi adquirido o produto ou no local indicado na nota fiscal, emitida pelo estabelecimento comercial.

- TRANSPORTE

As embalagens vazias não podem ser transportadas junto com alimentos, bebidas, medicamentos, rações, animais e pessoas.

- DESTINAÇÃO FINAL DAS EMBALAGENS VAZIAS

A destinação final das embalagens vazias, após a devolução pelos usuários, somente poderá ser realizada pela Empresa Registrante ou por empresas legalmente autorizadas pelos órgãos competentes.

- É PROIBIDO AO USUÁRIO A REUTILIZAÇÃO E A RECICLAGEM DESTA EMBALAGEM VAZIA OU O FRACIONAMENTO E REEMBALAGEM DESTE PRODUTO.

- EFEITOS SOBRE O MEIO AMBIENTE DECORRENTES DA DESTINAÇÃO INADEQUADA DA EMBALAGEM VAZIA E RESTOS DE PRODUTOS

A destinação inadequada das embalagens vazias e restos de produtos no meio ambiente causa contaminação do solo, da água e do ar, prejudicando a fauna, a flora e a saúde das pessoas.

- PRODUTOS IMPRÓPRIOS PARA UTILIZAÇÃO OU EM DESUSO

Caso este produto venha a se tornar impróprio para utilização ou em desuso, consulte o registrante através do telefone indicado no rótulo para sua devolução e destinação final.



NORTOX S/A
Rodovia BR 369 – Km 197
Tel. [43] 3274 8585
Fax [43] 3274 8500
86700 970 Arapongas/PR - Brasil

A desativação do produto é feita através de incineração em fornos destinados para este tipo de operação, equipados com câmaras de lavagem de gases efluentes e aprovados por órgão ambiental competente.

- TRANSPORTE DE AGROTÓXICO, COMPONENTES E AFINS:

O transporte de agrotóxicos está sujeito às regras e aos procedimentos estabelecidos na legislação específica, que inclui o acompanhamento da ficha de emergência do produto, bem como determina que os agrotóxicos não podem ser transportados junto de pessoas, animais, rações, medicamentos ou outros materiais.

4- RESTRICÕES ESTABELECIDAS POR ÓRGÃO COMPETENTE DO ESTADO, DISTRITO FEDERAL OU MUNICIPAL.

Produto com restrição de uso temporária no estado do Paraná para: *Alabama argilacea* e *Frankliniella schultzei* na cultura do algodão, e *Diloboderus abderus* na cultura do milho.