



**GOVERNO DO ESTADO DO PIAUÍ
UNIVERSIDADE ESTADUAL DO PIAUÍ-UESPI
CAMPUS ALEXANDRE ALVES DE OLIVEIRA
LICENCIATURA PLENA EM CIÊNCIAS BIOLÓGICAS**



Luís Felipe da Silva Matos

AVALIAÇÃO DO POTENCIAL GENOTÓXICO DO ESPINOSADE (NATULAR DT) POR
MEIO DO TESTE DE MICRONÚCLEO E DA FREQUÊNCIA DE ANORMALIDADES
NUCLEARES EM PEIXES, COM êNFASE NO CONTROLE DE LARVAS DE *Aedes*
aegypti (Linnaeus, 1762)

Parnaíba - PI

2025

Luís Felipe da Silva Matos

AVALIAÇÃO DO POTENCIAL GENOTÓXICO DO ESPINOSADE (NATULAR DT) POR
MEIO DO TESTE DE MICRONÚCLEO E DA FREQUÊNCIA DE ANORMALIDADES
NUCLEARES EM PEIXES, COM êNFASE NO CONTROLE DE LARVAS DE *Aedes*
aegypti (Linnaeus, 1762)

Trabalho de conclusão de curso apresentado ao
curso de Licenciatura Plena em Ciências
Biológicas da Universidade Estadual do Piauí
como requisito parcial para a obtenção do Título
de Licenciado em Ciências Biológicas.

Orientador (a): Dr^a. Alessandra Ribeiro Torres
Coorientador (a): Dr^a. Sheila Milena Neves de Araújo

Parnaíba - PI

2025

M425a Matos, Luis Felipe da Silva.

Avaliação do potencial genotóxico do Espinosade (Natular DT)
por meio do Teste de Micronúcleo e da Frequência de Anormalidades
Nucleares em Peixes, com ênfase no controle de Larvas de Aedes
aegypti (Linnaeus, 1762) / Luis Felipe da Silva Matos. - 2025.
27f.: il.

Monografia (graduação) - Universidade Estadual do Piauí -
UESPI, Licenciatura Plena em Ciências Biológicas, Parnaíba - PI,
2025.

"Orientadora: Profa Dra Alessandra Ribeiro Torres".

"Coorientadora: Profa Dra Sheila Milena Neves de Araújo
Soares".

1. Alterações Cromossômicas. 2. Tilápia do Nilo. 3.
Bioindicadores. 4. Bioinseticidas. 5. Citogenética. I. Torres,
Alessandra Ribeiro . II. Soares, Sheila Milena Neves de Araújo .
III. Título.

CDD 574.92

Luís Felipe da Silva Matos

Avaliação do potencial genotóxico do Espinosade (Natular DT) por meio do Teste de
Micronúcleo e da Frequência de Anormalidades Nucleares em Peixes, com Ênfase no controle
de Larvas de *Aedes aegypti* (Linnaeus, 1762)

Aprovação em: ____ / ____ / 2025

Banca Examinadora

Dr^a Alessandra Ribeiro Torres

Presidente

Dr. Luiz Carlos Guilherme

Dr. Filipe Augusto Gonçalves de Melo

Dedico o mérito deste trabalho aos autores da minha vida: Deus e Nossa Senhora da Conceição, que me deram a graça de alcançar o curso dos meus sonhos.

Dedico, em especial, à minha Mãe, Fernanda, que, sozinha, me criou e me garantiu uma educação de qualidade.

Dedico também à criança sonhadora e exploradora e que apesar dos pesares lutou pelo seu futuro e que nunca desacreditou de onde os seus pés poderiam pisar.

AGRADECIMENTOS

Agradeço, em primeiro lugar, ao Autor da Vida, Deus, por me conceder a graça, por meio da intercessão da Virgem Imaculada, de ingressar no ensino superior e realizar o sonho de me tornar biólogo, permitindo-me assim compreender melhor e contribuir para a preservação da criação divina.

Agradeço, de forma especial, aos meus amigos Breno Raphael e Vitória Cristina (nossa “Trio de Bio”), por todas as contribuições, tanto diretas, nas coletas e conselhos, momentos de diversão e muito sorriso, quanto indiretas. Vocês me mostraram que, mesmo diante das dificuldades e diferenças, é possível construir juntos ambientes agradáveis e, principalmente, divertidos. Amo vocês!

Agradeço também aos meus amigos Ramon e Kauê, por transformarem os desafios do nosso curso em momentos de descontração e alegria.

Agradeço aos meus demais amigos e colegas que construí ao longo desses anos de curso. Vocês foram peças fundamentais nos momentos de alegria e sorrisos, e alguns também nos conselhos. Minha gratidão a todos!

Sou grato a toda a minha turma de 2021.1, que tem sido o alicerce fundamental para construirmos juntos nossa trajetória acadêmica, pois, juntos, somos muito mais fortes.

Agradeço à minha orientadora, Profª. Alessandra Ribeiro Torres, pela confiança em meu trabalho e pelo total apoio nos momentos em que as dificuldades se mostraram mais persistentes.

Agradeço a todos os professores do curso de Biologia da UESPI de Parnaíba, em especial às professoras Conceição, Lissandra e Maura. Vocês são exemplos inspiradores de mulheres pesquisadoras que motivam seus alunos a serem excelentes educadores e cidadãos comprometidos com a sociedade atual. Profª. Conceição, a senhora tem um lugar especial no meu coração. Muito obrigado!

Agradeço à minha mãe, Paula Fernanda P. Silva, por me guiar no caminho certo da educação e dos estudos, e por agora ter o orgulho de dizer a seus amigos que sou professor. Obrigado por me mostrar que a educação salva vidas e transforma o mundo. Te amo!

Agradeço à Universidade Estadual do Piauí (UESPI), no Campus de Parnaíba, pela trajetória incrível que vivi ao longo desses anos de curso. De maneira especial, agradeço a todos os professores que, embora não sejam efetivos do curso de Biologia, passaram por nossa turma e, por meio de vocês, fui ainda mais cativado na minha tão sonhada jornada acadêmica.

Por fim, agradeço à Universidade Federal Delta do Parnaíba (UFDPar), especialmente ao professor Thiago, da Estação de Aquicultura, pela disponibilização dos exemplares de peixes utilizados neste trabalho e pelo apoio durante as coletas. Também agradeço ao Laboratório de Ecologia Aquática (LEA), na pessoa da Giovana, pela gentileza e pela disponibilização do espaço.

RESUMO

O aumento de arboviroses transmitidas por *Aedes aegypti* motivou a adoção de bioinseticidas como alternativa ao controle químico tradicional, entre eles o Espinosade. Considerado eficiente e menos tóxico ao ser humano, esse composto tem sido pouco investigado quanto ao seu impacto sobre organismos aquáticos não-alvo. Neste estudo, foi avaliado o potencial genotóxico do Espinosade em Tilápia do Nilo, por meio da análise da frequência de micronúcleos e anormalidades nucleares em eritrócitos. Os peixes foram expostos a três diferentes concentrações do larvicida em ambiente controlado e os dados foram submetidos a testes estatísticos apropriados. Os resultados demonstraram que todas as concentrações causaram alterações nucleares significativas nos primeiros períodos de exposição, mesmo na dose recomendada por órgãos oficiais. Com o passar do tempo, observou-se redução dessas alterações, sugerindo possível metabolização do composto pelos organismos expostos. Apesar de não ter sido detectado um efeito cumulativo persistente, houve mortalidade seletiva em peixes submetidos às concentrações mais elevadas, especialmente no período intermediário, o que aponta para picos de toxicidade aguda. A ausência de intensificação das alterações ao longo do tempo sugere que os danos genéticos iniciais podem ser atenuados por mecanismos fisiológicos de defesa. Ainda assim, os efeitos observados mesmo em baixas concentrações indicam risco potencial à biodiversidade aquática, sobretudo em ambientes com baixa renovação hídrica. Os achados reforçam a importância de reavaliar o uso ambiental do Espinosade, considerando tanto sua eficácia no controle vetorial quanto os possíveis efeitos colaterais em espécies não-alvo.

Palavras-chave: Alterações cromossômicas. Tilápia do Nilo. Bioindicadores. Bioinseticidas. Citogenética.

ABSTRACT

The rise in arbovirus cases transmitted by *Aedes aegypti* has led to the adoption of bioinsecticides as alternatives to conventional chemical control, including the use of Spinosad. Although considered effective and less harmful to humans, this compound has been insufficiently studied regarding its impact on non-target aquatic organisms. This study evaluated the genotoxic potential of Spinosad in Nile tilapia through the analysis of micronuclei and nuclear abnormalities in erythrocytes. Fish were exposed to three different concentrations of the larvicide in a controlled environment, and the data were analyzed using appropriate statistical methods. Results showed that all concentrations caused significant nuclear changes in the initial exposure periods, including the dose officially recommended for vector control. Over time, a reduction in these alterations was observed, suggesting a possible metabolization of the compound by the exposed organisms. Although persistent cumulative effects were not detected, selective mortality occurred in fish exposed to higher concentrations, particularly during intermediate periods, indicating acute toxicity peaks. The absence of progressive genetic damage suggests that early cytogenetic effects may be mitigated by physiological defense mechanisms. Nevertheless, the occurrence of genotoxic effects at low concentrations points to potential environmental risks, especially in aquatic habitats with low water renewal. These findings reinforce the need to reassess the environmental use of Spinosad, considering both its efficacy against vectors and its collateral effects on non-target species.

Key-words: Chromosomal alterations. Nile Tilapia. Bioindicators. Bioinsecticides. Cytogenetics.

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	10
2	OBJETIVOS	13
3	MATERIAIS E MÉTODOS	14
4	RESULTADOS E DISCUSSÕES.....	17
5	CONCLUSÃO.....	23
	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	24

1 INTRODUÇÃO

Os arbovírus são vírus transmitidos por artrópodes da classe Insecta e têm parte do seu ciclo de replicação em insetos. Através da picada de mosquitos fêmeas hematófagas, ocorre a propagação de doenças aos humanos e outros animais (Rezende, 2021).

Dengue, Zika e Chikungunya são arboviroses transmitidas por um único vetor, o *Aedes aegypti*. Anualmente, o número de casos aumenta significativamente, principalmente pelo acúmulo de água em locais considerados pelo Centro de Controle de Zoonoses (CCZ) como pontos estratégicos (terrenos alagados, cacimbões, lixo acumulado, entre outros), além de fatores climáticos. Sua profilaxia é eficiente, consistindo em evitar água parada, utilizar inseticidas, repelentes e telas de proteção nas residências.

Para o combate ao *Aedes aegypti*, o Governo Federal, por meio do Ministério da Saúde, orienta o uso de inseticidas no controle de mosquitos e larvas. Alguns deles podem ser de difícil degradação no meio ambiente e trazer problemas à saúde de animais e seres humanos. Com o uso frequente, os mosquitos adquirem resistência, exigindo a troca periódica desses compostos. Já foram utilizadas quatro classes: organoclorados, organofosforados, carbamatos e piretróides (Manjarres-Suarez & Olivero-Verbel, 2013), que são genotóxicos, ou seja, causam alterações cromossômicas a longo prazo.

Recentemente, a ANVISA (Agência Nacional de Vigilância Sanitária) passou a utilizar uma quinta classe: os bioinseticidas, iniciando com o Espinosade — larvicida que controla a proliferação de *Aedes aegypti* e *Aedes albopictus* (Skuse, 1894), substituindo o Piriproxifen. Essa mudança visou prevenir a resistência dos mosquitos. O Espinosade é derivado da fermentação biológica da bactéria *Saccharopolyspora spinosa* e é composto por Espinosina A e Espinosina D. É recomendado pelo programa de pré-qualificação de vetores da Organização Mundial de Saúde (OMS) e registrado na ANVISA (Brasil, 2021).

O Espinosade atua nos receptores de acetilcolina no sistema nervoso dos insetos, provocando transmissão contínua e descontrolada dos impulsos nervosos, induzindo tremores, excitação e fadiga muscular, o que leva à paralisia e morte. Sua ação ocorre por ingestão e/ou penetração na pele, sendo mais eficaz quando ingerido pelas larvas em todos os estágios, exceto ovo e pupa (Brasil, 2021).

O larvicida tem baixa toxicidade em humanos, mas pode representar riscos se inalado, ingerido ou em contato com a pele, causando irritações. No meio ambiente, o Espinosade é prejudicial, especialmente para organismos aquáticos (Brasil, 2021). Embora destinado ao controle de larvas aquáticas, ele e seus metabólitos podem afetar espécies não-alvo, causando

respostas adversas devido aos efeitos toxicológicos tanto do ingrediente ativo quanto dos compostos resultantes da metabolização (Mendonça *et al.*, 2019).

A utilização de peixes em estudos de monitoramento da qualidade da água oferece vantagens em relação aos testes com mamíferos, já que vivem diretamente no ambiente aquático, onde há maior acúmulo de poluentes. Assim, tornam-se importantes biomonitoras de ecossistemas sujeitos a estresse ou alterações que podem comprometer a diversidade genética das populações aquáticas. Grupos expostos a esses estressores tendem a apresentar diversidade genética e aptidão biológica reduzidas, tornando-se mais vulneráveis aos impactos ambientais futuros (Torres De Lemos *et al.*, 2007).

A Tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus* Linnaeus, 1758), da ordem Perciformes e família Cichlidae, é originária da África e foi introduzida em mais de 100 países tropicais e subtropicais, incluindo o Brasil. Atualmente, é a espécie mais cultivada na piscicultura nacional devido à sua capacidade de adaptação, como tolerância a baixos níveis de oxigênio, reprodução fácil, valor comercial elevado e baixo custo de manutenção (Merengoni, 2006; Rocha, 2017). Destaca-se ainda por sua maior resistência à contaminação por agentes químicos em comparação com espécies nativas (De Jesus *et al.*, 2016).

O Teste de Micronúcleo (TMN) é amplamente utilizado na avaliação de ambientes aquáticos por sua capacidade de detectar agentes aneugênicos e clastogênicos. Agentes aneugênicos provocam a perda de cromossomos inteiros, enquanto os clastogênicos causam quebras na estrutura dos cromossomos. Entre essas alterações estão os micronúcleos, que são pequenos núcleos adicionais formados durante a divisão celular. Eles surgem a partir de fragmentos cromossômicos (geralmente acêtricos) ou de cromossomos inteiros que não conseguiram ser incorporados ao núcleo principal devido a falhas no fuso mitótico. A presença desses micronúcleos indica danos cromossômicos estruturais e/ou numéricos não reparados na replicação do DNA (Rocha, 2017).

Os eritrócitos de peixes, que possuem forma elíptica e núcleo com o mesmo formato, podem apresentar alterações morfológicas, chamadas anormalidades nucleares (AN) e estão associadas à quebra cromossômica e fatores genotóxicos, refletindo o esforço celular em expulsar material genético danificado (Fenech, 2000; Serrano-Garcia & Montero Montoya, 2001). As AN podem se manifestar de diversas formas: protusões na membrana (beebled), núcleos lobados (lobed), entalhados (notched) e vacuolizados (Carrasco, 1990; Ferraro, 2004).

Diante disso, esta pesquisa teve como objetivo avaliar o potencial genotóxico do Espinosade (Espinosa A e D, Natular DT) em Tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*),

utilizando o Teste de Micronúcleo (TMN) e a análise de Anormalidades Nucleares (AN) como biomarcadores citogenéticos. Essa investigação forneceu dados relevantes sobre os possíveis efeitos adversos do Espinosade em organismos aquáticos não-alvo, promovendo uma avaliação mais ampla dos riscos ambientais associados ao seu uso no controle de vetores, além de subsidiar estratégias de manejo que conciliem eficácia no combate às arboviroses e preservação da biodiversidade

2 OBJETIVOS

Objetivo Geral:

Identificar o possível potencial genotóxico do larvicida Espinosade (Espinosa A + Espinosina D) por meio do teste de micronúcleo (MN) e frequência de anormalidades nucleares (AN) em eritrócitos de *Oreochromis nilóticos* (Tilápia do Nilo).

Objetivos específicos:

- Efetuar a análise das amostras sanguíneas com o intuito de detectar eventuais anormalidades nucleares e micronúcleos.
- Avaliar as possíveis concentrações genotóxicas do larvicida Espinosade.

3 MATERIAL E MÉTODOS

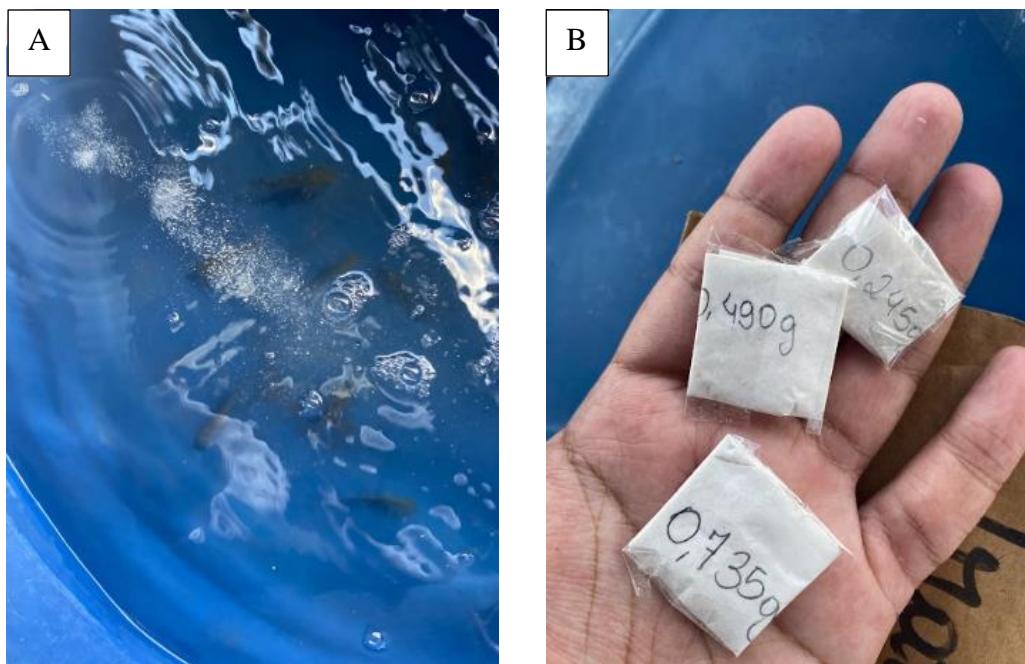
O estudo do potencial toxicológico do Espinosade (composto por Espinosa A e Espinosa D, Natular DT) foi realizado no Laboratório de Genética e Citogenética (LABGECITO), situado na Faculdade de Odontologia e Enfermagem (FACOE), anexa à Universidade Estadual do Piauí, Campus Alexandre Alves de Oliveira, situado em Parnaíba (PI) com a colaboração do Centro de Controle de Zoonoses (CCZ) e a Estação de Aquicultura da Universidade Federal Delta do Parnaíba (UFDPar) do mesmo município. Para esta investigação, foram alocados 12 exemplares de peixes em 12 caixas de água de polietileno com capacidade para 100 litros de água. Cada recipiente recebeu 50 litros de água proveniente de poços artesianos na estação de aquicultura. A água foi constantemente aerada para manter condições adequadas durante o período experimental.

O delineamento experimental foi inteiramente ao acaso, no esquema em parcela subdividida no tempo, com três repetições e uma testemunha adicional. As parcelas foram constituídas de Espinosade (Natular DT comprimidos, contendo 7,48% de Espinosa A e D e 92,52% de Carga, Aglutinantes, Lubrificante e Efervescentes qsp); conforme descrito abaixo e avaliadas em 3 tempos de exposição (10, 20, 30).

1. Controle negativo: caixas abastecidas com água para o uso humano;
2. Tratamento 1: caixas contendo solução de Espinosade, cada uma com 0,245g do tablete composto por 0,0182g do princípio ativo.
3. Tratamento 2: caixas contendo solução de Espinosade com 0,490g do tablete composto por 0,0365g do princípio ativo. Dose recomendada pela ANVISA.
4. Tratamento 3: caixas contendo solução de Espinosade com 0,735g do tablete composto por 0,0548g do princípio ativo.

Os tabletes foram macerados e pesados em balança de precisão no Laboratório de Limnologia da Universidade Federal Delta do Parnaíba, UFDPar, Parnaíba (PI) e foram diluídos na água das caixas, conforme a figura 1.

Figura 1 – Em (A) Veneno sendo despejado nas caixas d’água. Em (B) pacotes contendo veneno macerado com as gramas de cada concentração.



Fonte: Elaboração própria.

A tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*), proveniente da estação de aquicultura da Universidade Federal Delta do Parnaíba, foi utilizada como bioindicador. Ao término do período de exposição ao larvicida, foi realizada a anestesia de 10 peixes/caixa, conforme o estabelecido na resolução 714 de 20 de junho de 2013 – CFMV, a fim de obter uma gota de sangue por punção branquial de cada exemplar, seguida da preparação de um esfregaço sanguíneo com heparina como anticoagulante. Após a secagem ao ar, as lâminas foram fixadas em metanol 100% e coradas com Giemsa 5% por 10 minutos, para avaliar a presença de micronúcleos e anormalidades nucleares, de acordo com a técnica descrita por Grisolía & Cordeiro (2000), com modificações. Foram analisadas 1000 células por lâmina, totalizando 2000 células por animal, em microscópio óptico com objetiva de imersão (aumento de 100X).

As mutações (MN e NA) foram contadas e os dados obtidos organizados em planilhas do pacote Office da Microsoft Excel 2021. Inicialmente, eles foram submetidos ao teste de Shapiro-Wilk para verificar a normalidade da distribuição e ao teste de Bartlett para avaliar a homogeneidade das variâncias. Para os conjuntos de dados que atenderam aos pressupostos de normalidade e homocedasticidade, aplicou-se a análise de variância (ANOVA) de uma via, seguida pelo teste de comparações múltiplas de Tukey, a fim de identificar diferenças entre os grupos experimentais.

Os dados que não apresentaram distribuição normal, foram submetidos ao teste não paramétrico de Kruskal-Wallis complementado pelo teste de Dunn a posteriori. As análises foram realizadas utilizando o software estatístico BioEstat 5.3.

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

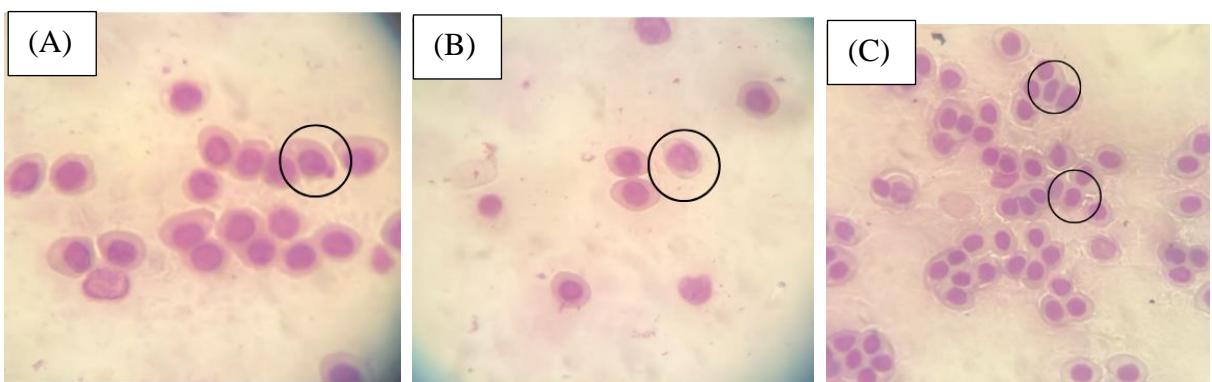
O monitoramento da genotoxicidade ambiental é uma ferramenta essencial na avaliação do impacto das substâncias químicas presentes nos inseticidas. O Espinosade (Natular DT) é amplamente utilizado no controle de vetores como o *Aedes aegypti*, transmissor de arboviroses como Dengue, Zika e Chikungunya. Embora considerado seguro para humanos e para o meio ambiente, estudos recentes indicam potenciais efeitos citogenotóxicos (Gimnig *et al.*, 2020).

Experimentos com *Allium cepa* demonstraram que a exposição ao inseticida contendo Espinosa provocou alterações como cromossomos retardatários e formação de micronúcleos, com frequência crescente conforme o aumento da concentração (Duta-Cornescu *et al.*, 2025).

Pesquisas apontam que concentrações elevadas de Espinosade induzem alterações celulares em diferentes organismos, incluindo invertebrados como *Drosophila melanogaster* (Mendonça *et al.*, 2019), plantas como *Allium cepa* (Duta-Cornescu *et al.*, 2025) e vertebrados. Conforme evidenciado nos resultados do presente estudo, mutações ocorrem mesmo em concentrações baixas.

Os métodos citogenéticos são amplamente utilizados na detecção de efeitos genotóxicos. Neste estudo, a aplicação do Teste do Micronúcleo (TMN), associada à análise da frequência de Anormalidades Nucleares (AN), permitiu identificar a formação de micronúcleos e outras alterações nucleares indicativas de mutações cromossômicas nas amostras de sangue dos peixes expostos ao larvicida Espinosade (Figura 2).

Figura 2 – Fotos de eritócitos de Tilápia do Nilo vistas em microscopia eletrônica. Em (A) o círculo destaca micronúcleo (MN), em (B) o círculo destaca núcleo vesiculado ou com bolhas e em (C) núcleo entalhado.



Fonte: Elaboração própria.

A exposição de *Oreochromis niloticus* ao larvicida Espinosade demonstrou potencial genotóxico, evidenciado por alterações nucleares nos eritrócitos dos peixes. A menor

concentração testada ($C_1 = 0,245$ g/50 L) apresentou toxicidade em comparação ao controle negativo (CN), com diferenças estatisticamente significativas nos dias 10 e 20 (Tabela 1). As demais concentrações também mantiveram diferenças significativas ao longo do tempo. A concentração intermediária ($C_2 = 0,490$ g/50 L), recomendada pela ANVISA para o combate às larvas de *Aedes aegypti*, mostrou diferenças significativas a partir do 20º dia, sugerindo uma resposta tardia. A concentração mais elevada ($C_3 = 0,735$ g/50 L) apresentou alterações com frequência, com significância estatística em todos os períodos analisados (10, 20 e 30 dias), reforçando o efeito genotóxico do composto (Tabela 1).

Apesar da ampla aplicação do Espinosade, estudos sobre sua segurança ambiental e ecotoxicidade ainda são limitados (Santos *et al.*, 2019). A ANVISA recomenda o uso de 1/4 de comprimido, contendo 0,0365 g do princípio ativo (Espinosa A + Espinosa D), em 0,490 g do comprimido, para até 50 L de água (Tabela 2).

Os dados mostraram que essa concentração (C_2) é genotóxica, assim como as concentrações 1 e 3, quando comparadas ao CN, com diferenças significativas já na primeira coleta. A C_2 manteve a presença de alterações nucleares aos 20 e 30 dias, indicando persistência do efeito genotóxico (Tabela 1). De modo semelhante, a C_3 apresentou redução na frequência de MN e AN na terceira coleta. As comparações entre C_3 e C_2 mostraram comportamento semelhante: presença significativa de alterações cromossômicas aos 20 dias, com tendência de redução aos 30 dias.

Entre as concentrações 1 e 2, a diferença foi significativa apenas na primeira coleta, sem significância nos períodos seguintes. A C_1 , em relação ao CN, apresentou significância aos 10 e 20 dias, mas não no terceiro período. De forma geral, observou-se que, embora a exposição inicial ao larvicida tenha causado danos celulares relevantes, houve uma redução progressiva nas alterações cromossômicas ao longo do tempo, especialmente nas concentrações mais elevadas (Tabela 1).

Tabela 1 – Média significativa de MN + AN em eritrócitos de *Oreochromis niloticus* expostos a diferentes concentrações de larvicida ao longo de 10, 20 e 30 dias. CN= controle

negativo, C1 = 0,245g/50L, C2 = 0,490g/50L e C3 = 0,735g/50L.

Concentração/Período	10 dias	20 dias	30 dias
C3 x CN	< 0.01	< 0.01	< 0.05
C1 x C2	< 0.05	-	-
C3 x C2	-	< 0.01	< 0.05
C1 x CN	< 0.01	< 0.01	-
C2 x CN	-	< 0.05	< 0.05

Fonte: Elaboração própria,

Esse padrão sugere uma possível metabolização do composto pelos organismos expostos (Fenech, 2000). Embora essa hipótese não possa ser confirmada sem análises metabólicas complementares dos peixes utilizados neste trabalho.

Diferentemente de compostos como o *Bacillus thuringiensis israelensis* (BTI), que é um biolarvicida e o Diflubenzuron, reconhecidos por sua baixa toxicidade e ausência de efeitos genotóxicos cumulativos (Silva *et al.*, 2020; Amaral *et al.*, 2015), o Espinosade apresentou efeitos citotóxicos em Tilápias, seguidos de uma atenuação ao longo do tempo. Nos primeiros 10 dias de exposição, apesar de alterações nucleares significativas nos eritrócitos, não foi registrada mortalidade nas amostras analisadas. Contudo, no 20º dia, foi observada mortalidade em grupos expostos às concentrações mais elevadas, indicando um possível pico de toxicidade aguda. Curiosamente, esse padrão não se intensificou no 30º dia, quando os níveis de mortalidade se estabilizaram e a frequência de alterações cromossômicas foi reduzida em comparação aos períodos anteriores. Esse padrão sugere que o larvicida não possui efeito cumulativo persistente, e que os organismos podem ter ativado mecanismos de detoxificação ou metabolização, reduzindo tanto os danos genotóxicos quanto os impactos sobre a sobrevivência (Fenech, 2000).

O Espinosade não causou efeitos genotóxico significativos em espécies de peixes utilizados no controle biológico de larvas de *Aedes aegypti*, como o *Poecilia reticulata* e *Xiphophorus maculatus*, diferente do que foi observado no presente trabalho. Porém, foram observadas alterações comportamentais neurológicas, como natação errática e letárgica, que podem ser consequências da ação celular, indicando potencial citotoxicidade em concentrações elevadas (Pereira *et al.*, 2016).

Em estudos com mamíferos, os resultados são divergentes. Alguns trabalhos, não

descrevem efeitos genotóxicos em ratos e camundongos, embora tenham registrado sinais de citotoxicidade em doses elevadas, outros demonstraram efeitos genotóxicos e imunotóxicos significativos em camundongos Swiss, indicando que a toxicidade do Espinosade pode variar conforme a espécie, dose e tempo de exposição (Busch *et al.*, 2002a, 2002b; Sharma, 2016).

Portanto, os dados indicam que, embora o Espinosade cause citotoxicidade em períodos iniciais, sua genotoxicidade não é progressiva, o que o diferencia de substâncias bioacumulativas com efeitos letais contínuos.

Os resultados indicam que, nos tratamentos 1 (0,245 g), 2 (0,490 g) e 3 (0,735 g), houve uma redução progressiva na taxa de sobrevivência ao longo dos dias de coleta. Observa-se que, no tratamento 3, correspondente à maior concentração, a taxa de mortalidade foi mais elevada. Esses dados são respaldados pela comparação com as caixas de controle negativo, nas quais o número de indivíduos permaneceu o mesmo durante os 30 dias de análise.

Tabela 2 - Recomendação de dose (tablete) de Espinosade pela capacidade do depósito em litros.

Capacidade do depósito (L)	Doses (Tabletes)
Até 50	1/4
Entre 50 e 100	1/2
Entre 50 e 150	½ + ¼
200	1
300	1 + ½
400	2
500	2 + ½
600	3
700	3 + ½
800	4
900	4 + ½
1000	5

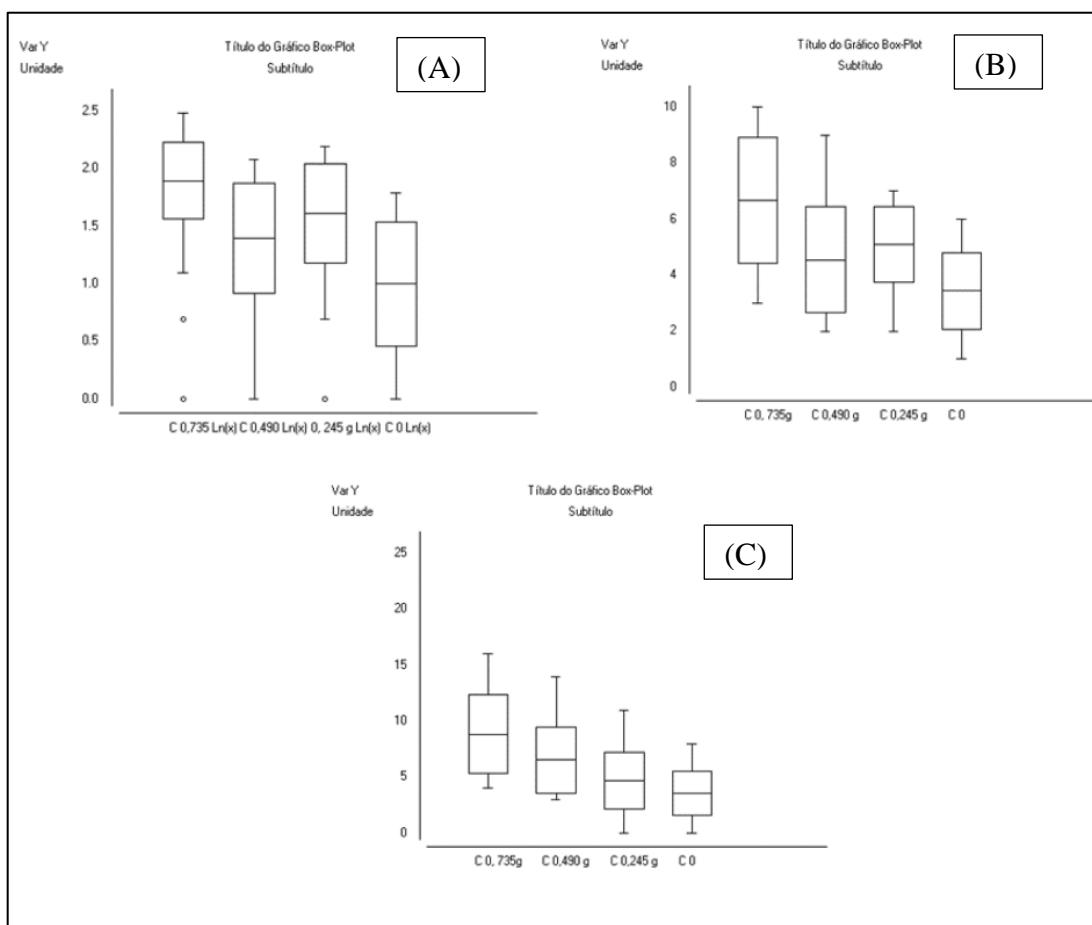
Fonte: Ministério da Saúde, 2021.

Além disso, a mortalidade observada após a primeira coleta indica a ocorrência de

um processo de seleção natural, onde os indivíduos mais suscetíveis foram eliminados, restando os mais resistentes, que possivelmente apresentaram maior capacidade adaptativa ou mecanismos de defesa mais eficientes frente ao agente tóxico. Dessa forma, os dados indicam que o larvicida não possui caráter cumulativo, uma vez que as alterações nucleares não se intensificaram com o tempo, mas sim diminuíram conforme a figura 3, ressaltando assim, a importância de investigações futuras para elucidar os mecanismos de resistência e os potenciais efeitos subletais decorrentes da exposição crônica a esse composto.

Dessa forma, os resultados obtidos neste estudo reforçam a necessidade de uma avaliação mais criteriosa dos impactos ecotoxicológicos do Espinosade, especialmente considerando seu uso recorrente no controle vetorial.

Figura 3 – Prancha de gráficos com as médias de MN + AN em eritrócitos de Tilápia do Nilo. Em (A) corresponde a primeira coleta (10 dias), em (B) corresponde a segunda coleta (20 dias) e em (C) corresponde a terceira coleta (30 dias).



Fonte: Elaboração própria,

Ainda assim, a genotoxicidade observada mesmo em baixas concentrações, especialmente nas primeiras coletas, evidencia que o larvícola pode representar um risco ambiental considerável, principalmente para organismos aquáticos expostos de forma contínua ou em ambientes com baixa renovação hídrica. A seletividade aparente levanta importantes questões sobre os potenciais efeitos subletais a longo prazo, como alterações reprodutivas, imunológicas ou de crescimento, que não foram abordadas neste estudo.

Portanto, apesar de sua eficácia no controle de vetores e de sua ampla aceitação como alternativa “segura”, o Espinosade deve ser reavaliado quanto à sua segurança ambiental, especialmente no que tange à fauna aquática. Investigações futuras devem focar na identificação de biomarcadores de resistência, no acompanhamento de efeitos crônicos subletais e na análise do metabolismo do composto em organismos não-alvo, contribuindo assim para o uso mais seguro e responsável desse larvícola.

5 CONCLUSÃO

Os resultados obtidos neste estudo demonstram que o larvicida Espinosade, embora amplamente utilizado no controle de vetores como o *Aedes aegypti*, apresenta efeitos genotóxicos em organismos aquáticos, mesmo quando aplicado em concentrações recomendadas pelos órgãos de saúde. A ocorrência de alterações nucleares nos eritrócitos de *Oreochromis niloticus* evidencia seu potencial de causar danos celulares significativos, especialmente em exposições iniciais. No entanto, a redução progressiva dessas alterações ao longo do tempo sugere a ativação de mecanismos fisiológicos de defesa, como a metabolização e eliminação parcial do composto.

Apesar da ausência de bioacumulação persistente, os efeitos genotóxicos iniciais levantam preocupações importantes sobre o uso recorrente do Espinosade em ambientes naturais. A mortalidade seletiva observada indica que indivíduos mais suscetíveis podem ser eliminados precocemente, o que reforça a necessidade de estudos adicionais sobre impactos subletais, como prejuízos à reprodução, ao crescimento e ao sistema imune dos organismos expostos.

Diante disso, conclui-se que o Espinosade, embora eficiente no controle de vetores, deve ser reavaliado quanto à sua segurança ambiental. A adoção de critérios mais rigorosos de monitoramento e a realização de estudos complementares são fundamentais para garantir um uso mais responsável, que leve em consideração a preservação da biodiversidade aquática e a sustentabilidade dos ecossistemas.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AMARAL, C. D. B.; PERET, A. C.; ASSIS, C. R. D. Avaliação ecotoxicológica do diflubenzuron em organismos aquáticos. Universidade Estadual Paulista (UNESP), 2015.

Disponível em: <https://repositorio.unesp.br/items/4cb1057c-662c-4a4e-b2f8-a9daf50815b8>. Acesso em: 20 mai. 2025.

BUSCH, D. S. et al. Spinosad insecticide: subchronic and chronic toxicity and lack of carcinogenicity in Fischer 344 rats. **Toxicological Sciences**, v. 65, n. 2, p. 288–297, 2002a.

Disponível em: <https://doi.org/10.1093/toxsci/65.2.288>. Acesso em: 23 jun. 2025.

BUSCH, D. S. et al. Spinosad insecticide: subchronic and chronic toxicity and lack of carcinogenicity in CD-1 mice. **Toxicological Sciences**, v. 65, n. 2, p. 276–287, 2002b.

Disponível em: <https://doi.org/10.1093/toxsci/65.2.276>. Acesso em: 23 jun. 2025

CARRASCO, K. R.; TILBURY, K. L.; MYERS, M. S. Assessment of the Piscine Micronucleus Test as an in situ Biological indicator of Chemical Contaminant Effects. **Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences**, v. 47, n. 11, p. 2123-2136, 1 nov. 1990. Disponível em: <https://doi.org/10.1139/f90-237>. Acesso em: 20 mai. 2025.

DE JESUS, I. S. et al. Genotoxicity Effects in Freshwater Fish from a Brazilian Impacted River. **Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology**, v. 96, n. 4, p. 490-495, fev. 2016. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/s00128-016-1755-1>. Acesso em: 20 mai. 2025.

DUTA-CORNESCU, G. et al. Evaluation of Clastogenic and Aneugenic Action of Two Bio-Insecticides Using *Allium* Bioassay. **Journal of Xenobiotics**, v.15, n. 2, p. 35, 27 fev. 2025. Disponível em: <https://doi.org/10.3390/jox15020035>. Acesso em: 20 mai. 2025.

FENECH, M. The in vitro micronucleus technique. **Mutation Research/Fundamental and Molecular Mechanisms of Mutagenesis**, v. 455, n. 1-2, p. 81-95, nov. 2000. Disponível em: [https://doi.org/10.1016/s0027-5107\(00\)00065-8](https://doi.org/10.1016/s0027-5107(00)00065-8). Acesso em: 20 mai. 2025.

FERRARO, M. V. M. et al. Mutagenic effects of tributyltin and inorganic lead (Pb II) on

the fish *H. malabaricus* as evaluated using the comet assay and the piscine micronucleus and chromosome aberration tests. **Genetics and Molecular Biology**, v. 27, n. 1, p. 103-107, 2004. Disponível em: <https://doi.org/10.1590/s1415-47572004000100017>. Acesso em: 20 mai. 2025.

GIMNIG, J. E. *et al.* Efficacy of extended release formulations of Natular™ (spinosad) against larvae and adults of *Anopheles* mosquitoes in western Kenya. **Malaria Journal**, v. 19, n. 1, 26 nov. 2020. Disponível em: <https://doi.org/10.1186/s12936-020-03507-y>. Acesso em: 20 mai. 2025.

GRISOLIA, C. K.; CORDEIRO, C. M. T. Variability in micronucleus induction with different mutagens applied to several species of fish. **Genetics and Molecular Biology**, v. 23, n. 1, p. 235-239, mar. 2000. Disponível em: <https://doi.org/10.1590/s1415-47572000000100041>. Acesso em: 20 mai. 2025.

MANJARRES-SUAREZ, A.; OLIVERO-VERBEL, J. Chermical control of *Aedes aegypti*: a historical perspective. **Rev Costarr Salud Pública**, v. 22, n.1, p. 68-75, 2013. Disponível em: <https://www.scielo.sa.cr/pdf/rcsp/v22n1/art12v22n1.pdf>. Acesso em: 20 mai. 2025

MENDONÇA, T. P. *et al.* Genotoxic and mutagenic assessment of spinosad using bioassays with *Tradescantia pallida* and *Drosophila melanogaster*. **Chemosphere**, v. 222, p. 503-510, maio 2019. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2019.01.182>. Acesso em: 20 mai. 2025.

MERENGONI, N. G. Produção de tilápia do Nilo *Oreochromis niloticus* (linhagem Chitralada), cultivada em tanques-rede, sob diferentes densidades de estocagem. **Archivos de Zootecnia**, v. 55, n. 210, p. 127-138, 2006.

Ministério da Saúde. Nota técnica nº 10/2021-CGARB/DEIDT/SVS/MS: orientações técnicas para utilização do larvicida Espinosade para o controle de *Aedes aegypti*. Brasília, DF, 2021. Disponível em: <https://www.gov.br/saude/pt-br/centrais-de-conteudo/publicacoes/notas-tecnicas/2021/nota-tecnica-no-102021-cgarbdeidtsvsms.pdf>. Acesso em: 20 mai. 2025.

PEREIRA, B. B. *et al.* Toxicological assessment of spinosad: Implications for integrated control of *Aedes aegypti* using larvicides and larvivorous fish. **Journal of Toxicology and Environmental Health, Part A**, v. 79, n. 12, p. 477-481, 13 jun. 2016. Disponível em: <https://doi.org/10.1080/15287394.2016.1176974>. Acesso em: 20 mai. 2025.

SANTOS, V. S. V. *et al.* Evaluation of toxicity and environmental safety in use of spinosad to rationalize control strategies against *Aedes aegypti* **Chemosphere**, v. 226, p. 166-172, jul. 2019. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2019.03.129>. Acesso em: 20 mai 2025.

SERRANO-GARCÍA, L.; MONTERO-MONTOYA, R. Micronuclei and chromatid buds are the result of related genotoxic events. **Environmental and Molecular Mutagenesis**, v. 38, n. 1, p. 38-45, 2001. Disponível em: <https://doi.org/10.1002/em.1048>. Acesso em: 20 mai. 2025.

SHARMA, R. **Immuno-pharmacological and genotoxic effects of spinosad insecticide in mice**. 2016. Dissertação (Mestrado em Toxicologia Experimental) – Universidade de Ciências Veterinárias e Pecuárias de Haryana, Hisar, Índia.. Disponível em: <http://krishikosh.egranth.ac.in/handle/1/72787>. Acesso em: 23 jun. 2025.

SILVA, L. F.; OLIVEIRA, R. A.; SANTOS, A. P. Avaliação do potencial genotóxico de *Bacillus thuringiensis israelensis* em modelos animais. **Revista de Saúde Pública do Estado de São Paulo**, v. 54, n. 1, p. 10–17, 2020. Disponível em: <https://periodicos.saude.sp.gov.br/RIAL/article/view/32713>. Acesso em: 20 mai. 2025.

REZENDE, R. B. Análise epidemiológica das arboviroses emergentes e reemergentes no Brasil entre os anos de 2019 e 2020. **Research, Society and Development**, v. 10, n. 2, p. e33010212611, 17 fev. 2021. Disponível em: <https://doi.org/10.33448/rsd-v10i2.12611>. Acesso em: 20 mai. 2025.

ROCHA, S. L. **Avaliação da água do rio Parnaíba, no município de Teresina (PI), por meio de teste do micronúcleo e anormalidades nucleares em sangue periférico de tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*)**. 2017. Dissertação (Mestrado em Química) –

Universidade Estadual do Piauí, Teresina, 2017.

TORRES DE LEMOS, C. *et al.* River water genotoxicity evaluation using micronucleus assay in fish erythrocytes. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 66, n. 3, p. 391-401, mar. 2007. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2006.01.004>. Acesso em: 20 mai. 2025.