
**Potencial genotóxico do inseticida clorpirifós em juvenis de tambaqui
Colossoma macropomum (Cuvier, 1818)**

Genotoxic potential of the insecticide chlorpyrifos in juvenile tambaqui *Colossoma macropomum* (Cuvier, 1818)

Joisiane Carvalho dos Santos

ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-1565-5117>

Universidade Federal do Oeste do Pará, Brasil

E-mail: joisianecarv@gmail.com

Osléias Ferreira Aguiar

ORCID: <http://orcid.org/0000-0002-9948-8354>

Universidade Federal do Oeste do Pará, Brasil

E-mail: leiastmsantos@gmail.com

Maxwell Barbosa de Santana

ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-7725-0970>

Universidade Federal do Oeste do Pará, Brasil

E-mail: barbosadesantana@gmail.com

Marcos Prado Lima

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-5278-2871>

Universidade Federal do Oeste do Pará, Brasil

E-mail: marcospradolima@yahoo.com.br

RESUMO

O estudo avaliou a genotoxicidade do inseticida clorpirifós em juvenis de *Colossoma macropomum* (tambaqui) por meio do ensaio cometa e do teste de Anormalidades Nucleares Eritrocíticas (ANEs). Os experimentos foram conduzidos em aquários de 17 L, cada um contendo 3 animais, divididos em quatro grupos: Controle, C1 (5 µg/L), C2 (25 µg/L) e C3 (50 µg/L), com duração de 15 dias. Ao final os animais foram eutanasiados para coleta de sangue e realização dos testes. No ensaio cometa, todos os grupos expostos ao clorpirifós apresentaram danos no DNA, com maior predominância nos grupos C2 (25 µg/L) e C3 (50 µg/L). Na avaliação das ANEs, foram observadas diversas anormalidades celulares, sendo "bebbled" e "lobed" as mais abundantes, com maior frequência no grupo C3 (50 µg/L). Os resultados indicaram que o clorpirifós possui alto potencial genotóxico em juvenis de tambaqui, levantando preocupações sobre seus efeitos sobre a fauna aquática. Além disso, o tambaqui foi considerado um excelente organismo-teste.

Palavras-chave: ANEs; Clorpirifós; *Colossoma macropomum*; Ensaio cometa; Genotoxicidade.

ABSTRACT

The study evaluated the genotoxicity of the insecticide chlorpyrifos in juvenile *Colossoma macropomum* (tambaqui) using the comet assay and the Erythrocytic Nuclear Abnormalities (ENA) test. The experiments were conducted in 17 L aquariums, each containing 3 animals, divided into four groups: Control, C1 (5 µg/L), C2 (25 µg/L) and C3 (50 µg/L), lasting 15 days. At the end, the animals were euthanized for blood collection and testing. In the comet assay, all the groups exposed to chlorpyrifos showed DNA damage, with a greater predominance in groups C2 (25 µg/L) and C3 (50 µg/L). In the evaluation of ANEs, various cellular abnormalities were observed, with “bebbled” and “lobed” being the most abundant, with a higher frequency in the C3 group (50 µg/L). The results indicated that chlorpyrifos has a high genotoxic potential in juvenile tambaqui, raising concerns about its effects on aquatic fauna. In addition, tambaqui was considered an excellent test organism.

Keywords: ANEs; Chlorpyrifos; *Colossoma macropomum*; Comet assay; Genotoxicity.

INTRODUÇÃO

Pesticidas são considerados substâncias tóxicas por ter objetivo de eliminar seres vivos causadores de obstáculos em plantações (Carneiro *et al.*, 2015). Sua ação ocorre devido à sua composição conter um ingrediente ativo que age sobre seres vivos sensíveis a ele ou alteram sua atividade biológica normal (Pelaez; Terra; Silva, 2010).

Quando lançados no meio ambiente, os pesticidas acabam provocando efeitos indesejados, principalmente a contaminação de espécies que não estão no alvo de serem eliminadas (espécies não-alvos) (Peres; Moreira, 2007). Se tratando do clorpirifós, este é um pesticida pertencente a classe dos inseticidas e têm uma ampla demanda de comercialização para usos na agropecuária, sendo seu percurso finalizado em corpos d’água, causando problemas ambientais e impactos nos organismos aquáticos, dependendo do seu grau de toxicidade, dosagem e tempo de exposição (Mataqueiro, 2006).

Os efeitos tóxicos do clorpirifós estão sendo cada vez mais amplamente estudados em várias espécies, sendo relatado que as espécies aquáticas estão suscetíveis à exposição a este inseticida, incluindo modificações no ácido desoxirribonucleico (DNA) (Banaee; Hagh; Ibrahim, 2013; Qiu *et al.*, 2017; Rahman *et al.*, 2021; Shabbir *et al.*, 2021; Smida *et al.*, 2017; Xu *et al.*, 2017).

As modificações no DNA podem ser detectadas através de testes, como o teste de Anormalidades Nucleares Eritrocíticas e ensaio cometa, que tem demonstrado serem relativamente simples e baratos (Castro, 2016). Através desses testes é possível

quantificar o dano no DNA em células individuais, permitindo avaliar o potencial genotóxico de substâncias tóxicas (Di Paolo, 2006).

O organismo teste deste estudo é a espécie *Colossoma macropomum*, conhecida popularmente como tambaqui, pertence à ordem Characiformes, família Serrasalminidae, é uma espécie natural da bacia amazônica, com ocorrência no Brasil, Peru, Colômbia, Bolívia e Venezuela e tem alto valor comercial, sendo muito apreciada para o consumo pela população local (Santos, 2015).

Em cativeiro apresenta facilidade de produção de alevinos, rápido crescimento, rusticidade, resistência a elevadas temperaturas na água dos sistemas de cultivo com baixo nível de oxigênio dissolvido na água, facilidade ao manuseio, resistente a enfermidades, o que propicia ser uma ótima escolha de organismo teste (Paula, 2009; Mendonça, et al., 2009).

De modo que o clorpirifós é considerado muito prejudicial para várias formas de vida, mesmo em concentrações muito baixas, pode matar animais aquáticos, sendo extremamente tóxicos para peixes e outros organismos aquáticos que podem sofrer efeitos após curta ou prolongada exposição (Mataqueiro, 2006; Sud *et al.*, 2020). O presente estudo teve como objetivo avaliar a genotoxicidade do inseticida clorpirifós em juvenis de tambaqui *Colossoma macropomum* através do ensaio cometa e do teste de Anormalidades Nucleares Eritrocíticas (ANEs).

MATERIAL E MÉTODOS

Foi utilizado como organismo-teste juvenis de *Colossoma macropomum* (Figura 1), popularmente conhecido como tambaqui, e foram expostos ao princípio ativo clorpirifós, de nome comercial Klorpan® (480 EC). Para a realização dos experimentos, foram utilizados um total de 36 indivíduos, com comprimento padrão (cm) de $7,0 \pm 0,6$ e comprimento total (cm) de $7,5 \pm 0,6$ com peso (g) $6,7 \pm 0,5$.

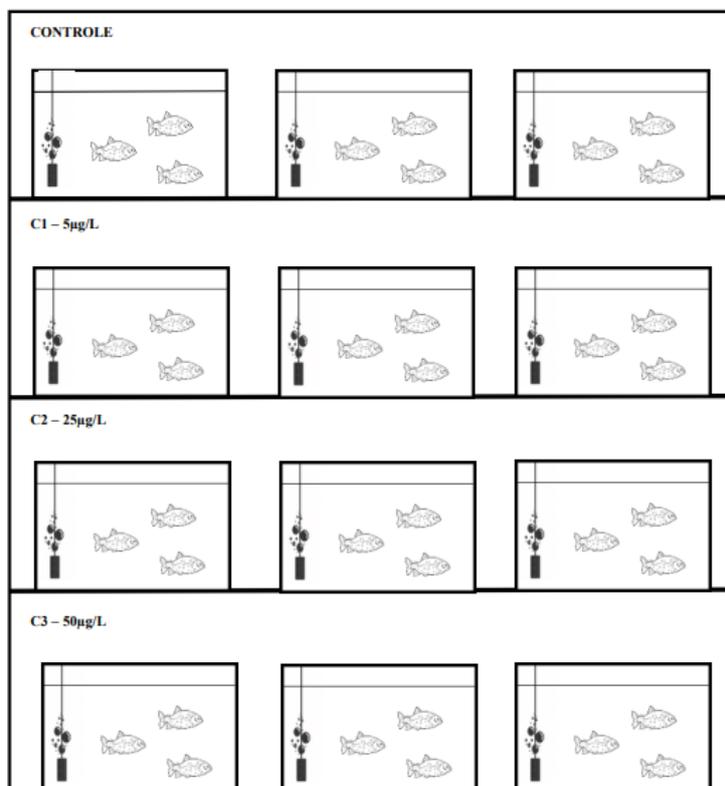
Figura 1 - Juvenil de *Colossoma macropomum*



Fonte: Autores (2024)

O teste foi realizado em aquários de 17 L, sendo quatro grupos: C1 (5 µg/L), C2 (25 µg/L), C3 (50 µg/L), mais um grupo controle (sem inseticida), todos em triplicata, contendo 3 animais/aquário (Figura 2). O experimento teve duração de 15 dias, em sistema semi-estático. Durante o experimento, os peixes foram alimentados a cada 48 horas e o potencial Hidrogeniônico (pH) e a temperatura da água foram monitorados regularmente.

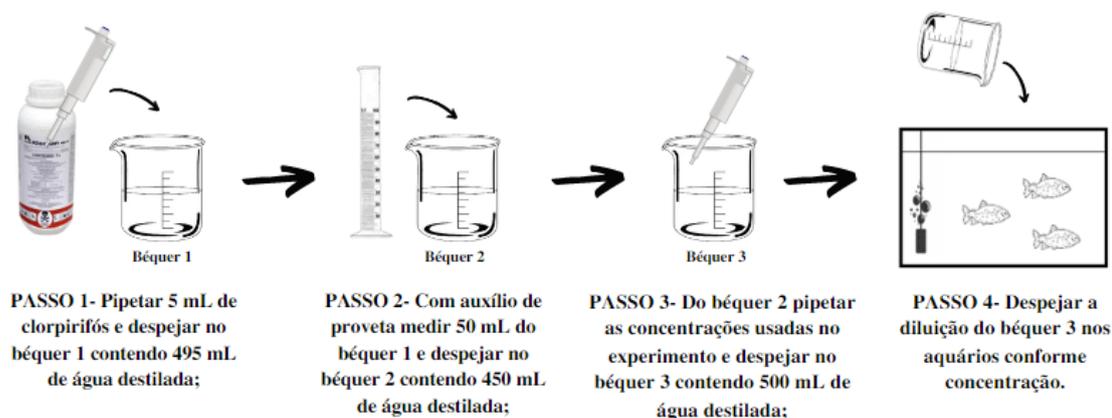
Figura 2 - Esquema ilustrativo da exposição dos organismos teste ao inseticida clorpirifós



Fonte: Autores (2024)

O volume necessário para a composição das concentrações finais do composto foi realizado através de 2 soluções (Figura 3):

Figura 3 - Processo de diluição do inseticida clorpirifós



Fonte: Autores (2024)

Após os 15 dias de exposição, os peixes foram retirados dos aquários, submetidos a avaliação biométrica e eutanasiados com uma solução de eugenol. Em seguida, foi realizada a coleta de sangue através de corte caudal para a realização do Ensaio Cometa e Teste de Anormalidades Nucleares Eritrocíticas.

O protocolo do ensaio cometa foi realizada de acordo com protocolo sugerido por Silva (2007) utilizando 10 μ L de sangue. As classes de danos (0, 1, 2, 3 e 4) foram observados através de lâminas em microscópio óptico na objetiva de 40X e contadas 100 células/lâmina.

Para o teste ANEs, foi utilizado 10 μ L de sangue e feito um esfregaço sanguíneo. As lâminas foram coradas com Giemsa, para posterior observação das anormalidades *Micronuclei*; *Bebbled*; *Lobed*; *Notched*; *Vacuolated* e *Binuclei*, em microscópio óptico na objetiva de 40X, onde foram contadas 1000 células/lâmina.

Para ambos os testes, a leitura das lâminas foi realizada as cegas e as células necrosadas, amontoadas ou com difícil leitura foram descartadas da visualização. Ademais, a leitura da lâmina ocorreu em zigue-zague para evitar repetição de um mesmo campo já observado.

O resultado da contagem das células, de ambos os testes, foi organizado em planilhas no programa Microsoft Excel. Os gráficos e a análise estatística foram realizados no programa GraphPad Prism 8.0.1. Para o ensaio cometa, foi calculado a

Porcentagem de Classes de Danos (PCD), Índice de Danos (ID) e Integridade Celular (IC), submetidos ao teste Kruskal-Wallis, usando $p < 0,05$ como nível de significância. Para as ANEs, foi calculado a Porcentagem de ANEs, Índice de Danos Total (ID Total) e Integridade Celular (IC) submetido a Anova Two Way de múltiplas comparações e ID Total e IC ao teste Kruskal-Wallis, usando $p < 0,05$ como nível de significância.

Esse trabalho foi avaliado pelo Comitê de Ética de Uso de Animais e obteve aprovação por respeitar as normas de experimentação animal e cumprir os princípios éticos, estando então protocolado sob o n° 0320210120.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

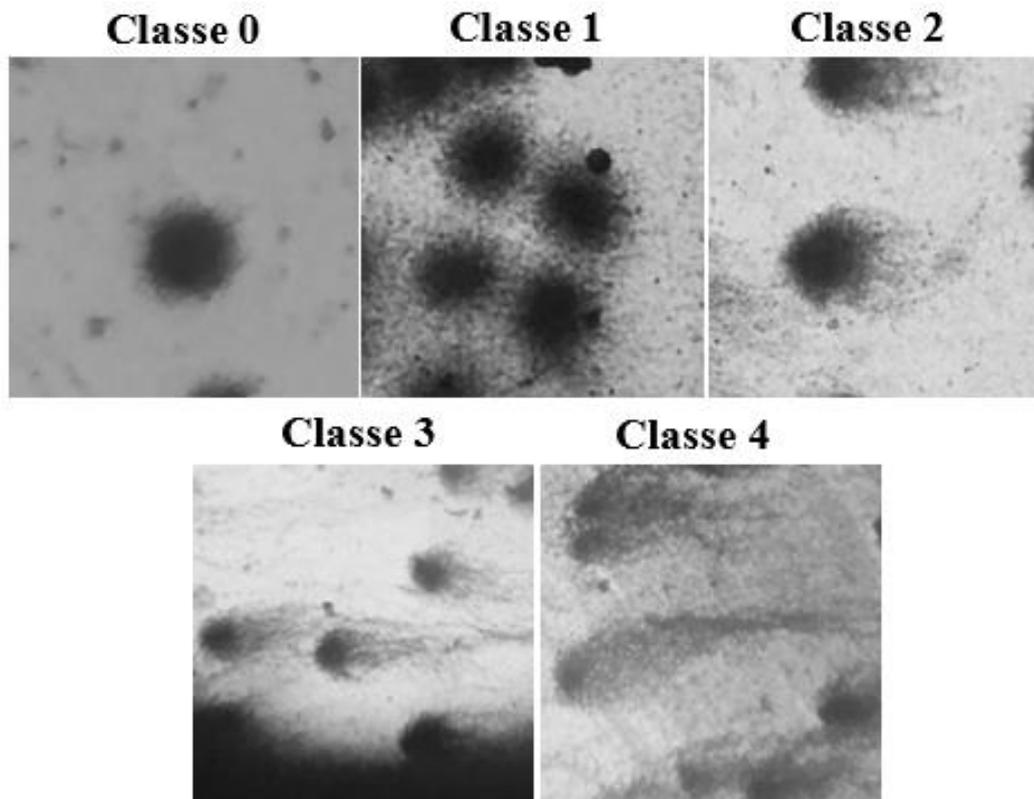
As substâncias tóxicas presentes nos diferentes corpos d'água chegam facilmente até o sangue dos peixes, pois as células sanguíneas estão entre os primeiros alvos de toxicidade, imediatamente após o epitélio branquial, assim o sangue pode ser considerado como alvo e transportador de produtos químicos, uma vez que a fração lipídica da membrana eritrocitária é considerada um local de interação com esses produtos (Jindal; Kaur, 2014).

Ensaio cometa

Os danos são chamados de cometas e classificados em cinco classes de danos (0, 1, 2, 3 e 4) conforme o tamanho da cauda. A figura 4 mostra as classes de danos que foram observadas na visualização de eritrócitos dos juvenis de tambaqui expostos ao inseticida clorpirifós.

A Classe 0 corresponde aos cometas considerados intactos (sem cauda), sem danos causados pela exposição; a Classe 1 é classificada como cometas com danos mínimos; a Classe 2 cometas com danos médios; a Classe 3 cometas com danos intensos; e a Classe 4 corresponde aos cometas com danos máximos (Di Paolo, 2006).

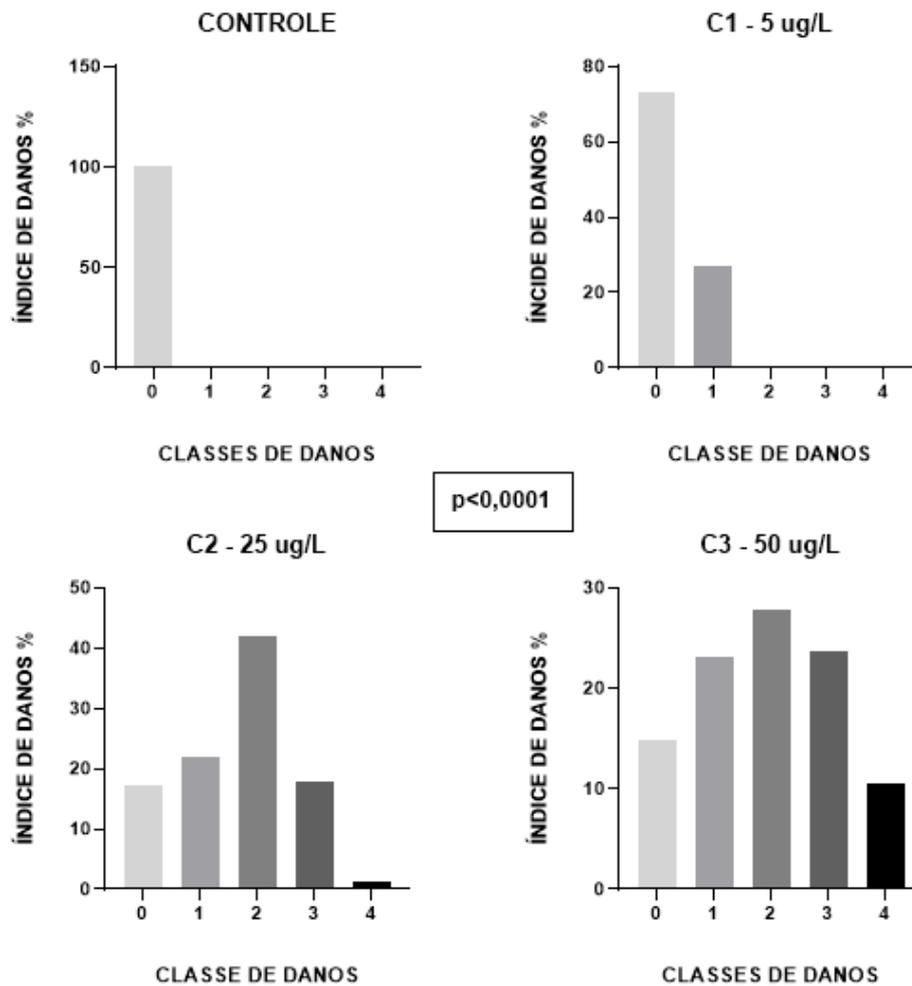
Figura 4 - Classes de danos (0, 1, 2, 3 e 4) que foram observadas na visualização de eritrócitos dos juvenis de tabaqui expostos ao inseticida clorpirifós



Fonte: Autores (2024)

A figura 5 apresenta os valores do índice de danos obtidos no grupo controle e nos três grupos expostos ao inseticida clorpirifós. Os gráficos mostram danos no DNA nos três grupos expostos, sendo a maior predominância de todos os danos nos grupos C2 - 25 μ g/L e C3 - 50 μ g/L. No grupo C3 - 50 μ g/L a ocorrência do dano 4 foi bem mais acentuada em comparação aos outros grupos.

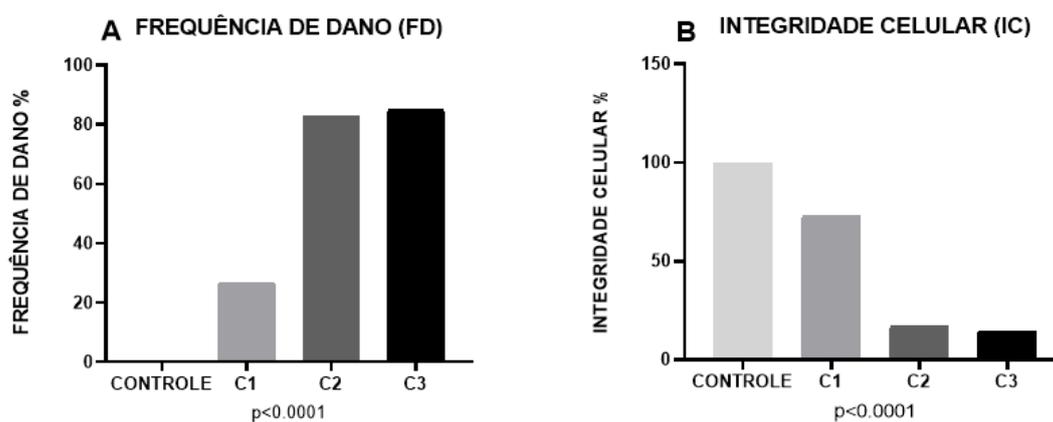
Figura 5 - Índice de danos ao DNA de tabaqui expostos a três diferentes concentrações de clorpirifós em comparação ao grupo controle



Fonte: Autores (2024)

Na figura 6A é observado que a Frequência de Danos é bem maior nos grupos C2 e C3, que são as maiores concentrações. E o gráfico de Integridade Celular (figura 6B) corrobora com os resultados da figura 5A, que a maior integridade celular é presente no grupo C1 - menor concentração.

Figura 6 - A) Frequência de danos ao DNA. B) Integridade Celular



Fonte: Elaborado pelos autores (2024)

O resultado deste estudo é corroborado por outras pesquisas que também avaliaram danos ao DNA causados pela genotoxicidade do clorpirifós em diferentes espécies de peixes como: *Labeo rohita*; *Channa punctatus*; *Gasterosteus aculeatus*; *Cyprinus carpio*; *Cnesterodon decemmaculatus*; *Danio rerio*; *Oreochromis niloticus* e; *Oncorhynchus mykis* (Ali *et al.*, 2008; El-Bouhy; El-Hakim; Mohamed, 2018; Ismail *et al.*, 2014; Marchand *et al.*, 2017; Mitkovska; Chassovnikarova, 2019; Sahinoz, 2019; Vera-Candiot *et al.*, 2013; Wang *et al.*, 2014)

As concentrações utilizadas neste estudo foram subletais e descritas em µg/L, considerando então que foram concentrações baixas comparando com os estudos de Sahinoz (2019), Vera-Candioti *et al.*, (2013) e Wang *et al.*, (2014) que utilizaram concentrações de mg/L em seus estudos.

Porém, diversos outros estudos comprovaram que concentrações em µg/L são extremamente genotóxicas para peixes, como o estudo de Ali *et al.*, 2008, El-Bouhy; El-Hakim; Mohamed (2018), Ismail *et al.*, (2014), Marchand *et al.*, (2017) e Mitkovska e Chassovnikarova (2019).

Estes diversos estudos citados demonstram variações de concentrações entre as diferentes espécies utilizadas nos estudos, o que pode estar relacionado à diferenças no comportamento de cada espécie e na composição do genoma de cada organismo, podendo influenciar na capacidade de cada espécie em realizar processos de desintoxicação para manutenção da homeostase fisiológica das diferentes espécies (Ismail *et al.*, 2014).

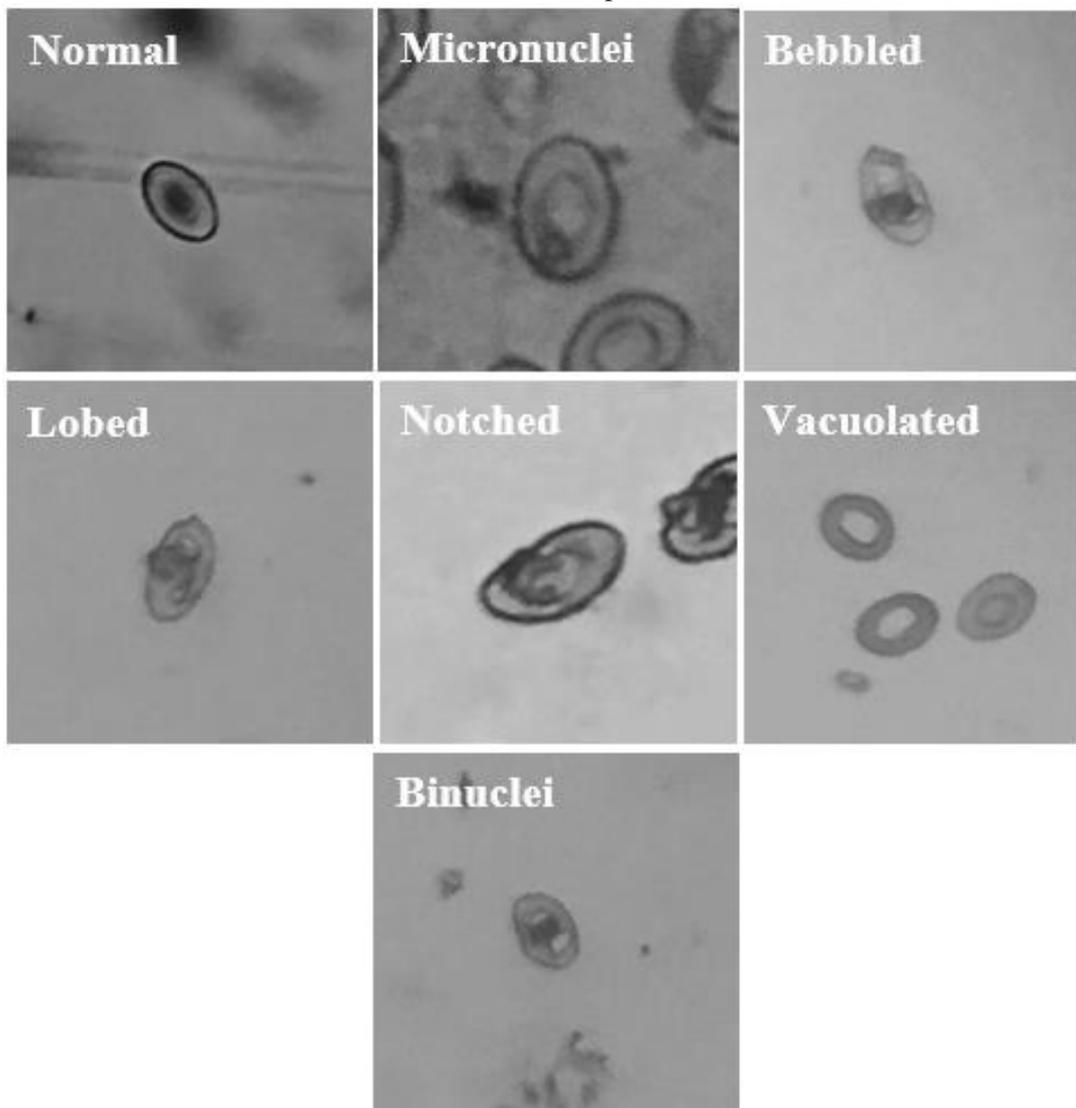
Importante também lembrar que os danos ao DNA podem ser reparados por processos fisiológicos e mecanismos de reparo celular, por isso o ensaio cometa é utilizado apenas para avaliar a ocorrência de danos genéticos nas células e não para

avaliar a presença de mutações (Trolly, 2019). Entretanto, caso ocorram danos ao DNA e esses não sejam reparados, podem gerar inúmeras consequências aos processos biológicos em células, tecidos e órgãos, que podem resultar na morte do animal, gerando consequências também ao nível de população e comunidade de organismos (Santos, 2015).

Teste de Anormalidades Nucleares Eritrocíticas (ANEs)

A figura 7 mostra as Anormalidades Nucleares Eritrocíticas que foram observadas na visualização de eritrócitos dos juvenis de tabaqui expostos ao inseticida clorpirifós.

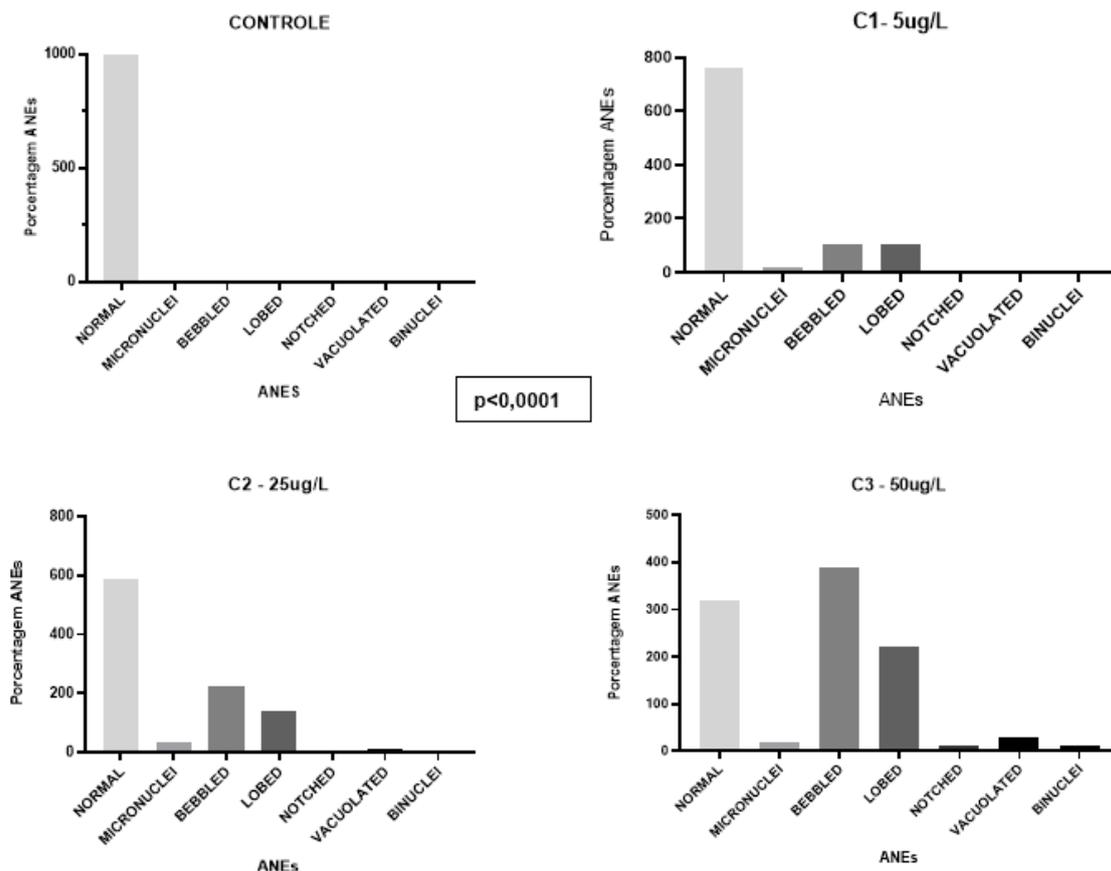
Figura 7 - Anormalidades Nucleares Eritrocíticas observadas em juvenis de tabaqui expostos ao inseticida clorpirifós



Fonte: Autores (2024)

Os resultados obtidos a partir da exposição de juvenis de tambaqui as concentrações de 5, 25 e 50 µg/L, em comparação ao grupo controle, evidenciaram anormalidades nos núcleos dos eritrócitos dos três grupos ($p < 0,0001$), sendo as anormalidades “*bebbled*” e “*lobed*” as mais abundantes e a maior porcentagem ocorreu no grupo C3 - 50 µg/L, com maior concentração do inseticida (Figura 8).

Figura 8 – Comparação do grupo controle em relação aos grupos C1, C2 e C3

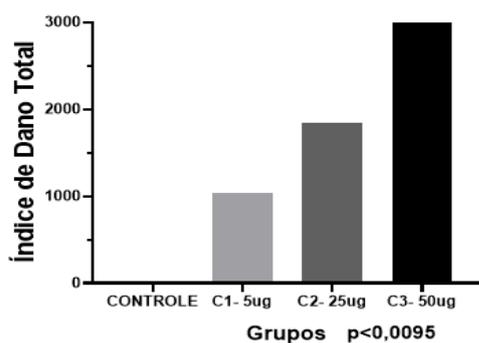


Micronuclei; Bebbled; Lobed; Notched; Vacuolated e Binuclei, são as ANEs.

Fonte: Autores (2024)

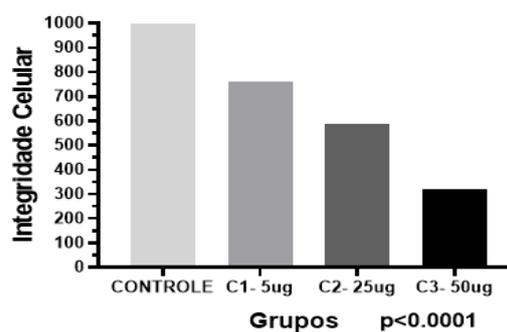
O maior ID Total (figura 9) ocorreu no grupo C3, cujo este tinha maior concentração do pesticida (50µg/L). Resultado este que corresponde ao de IC (figura 10) que foi menor em C3.

Figura 9 – Gráfico de ID Total



Fonte: Autores (2024)

Figura 10 – Gráfico de IC



Fonte: Autores (2024)

Os resultados do presente estudo estão de acordo com os achados anteriores que relataram ANEs em: *Ctenopharyngodon idella*; *Channa punctatus*; *Cirrhinus mrigala*; *Channa punctatus*; *Cyprinus carpio* e; *Clarias gariepinus* expostos ao clorpirifós (Abara *et al.*, 2020; Ali *et al.*, 2009; Bhatnagar; Yadav; Cheema, 2016; Khan *et al.*, 2021; Kumar, 2012; Mitkovska; Chassovnikarova, 2019).

Porém, comparando o resultado da exposição do tambaqui e os estudos citados, nota-se que diferentes espécies de peixe apresentam respostas distintas ao contato com clorpirifós, mas essa resposta parece ser dependente da dose de clorpirifós e do tempo de exposição ao agente tóxico (Kumar, 2012).

Ademais, a análise dos resultados de ANEs encontradas no tambaqui revelou maior presença de das anormalidades classificadas como *bebbled* e *lobed*, diferindo da maioria dos trabalhos citados anteriormente, nos quais os micronúcleos (*Micronuclei*) têm sido a classe de dano mais frequente, possivelmente por ser uma anormalidade de fácil visualização.

No entanto, a ausência ou a pequena presença de anormalidades classificadas como micronúcleos (*Micronuclei*), como observado no tambaqui, não significa necessariamente ausência de efeitos genotóxicos, pois em alguns casos o efeito genotóxico da substância testada pode levar a morte celular em grande escala, causando um resultado falso negativo. Além disso, os padrões de resposta são distintos para os diferentes organismos e dependem de fatores como taxas de assimilação, taxas de metabolização e eliminação dos compostos químicos (Vicari, 2009).

Por fim, o clorpirifós continua a ser um dos inseticidas organofosforados mais comumente usados, cujo metabólito primário é o TCP, sendo que a forte solubilidade em água e alta mobilidade resulta em quantidades de resíduos de TCP nocivos na água (Wang

et al., 2014). Por isso, a aplicação massiva deste inseticida e o seu possível destino final até igarapés, rios e lagos gera uma reflexão relacionada a potencial indução de danos no DNA e ANEs não somente em peixes, mas em outros organismos aquáticos.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

O ensaio cometa e a avaliação de ANEs nas concentrações de 5, 25 e 50 µg/L de clorpirifós demonstraram o alto potencial genotóxico do inseticida clorpirifós para juvenis de tambaqui, aumentando a preocupação sobre o seu uso indiscriminado e seus efeitos sobre a fauna aquática.

Os resultados obtidos levantam uma preocupação sobre o potencial risco dos inseticidas para os organismos aquáticos, especialmente para os peixes e, indiretamente, para os seres humanos.

O tambaqui demonstrou ser um excelente organismo-teste, assim como o ensaio cometa e a quantificação de ANEs demonstraram serem ferramentas úteis para estudos de genotoxicidade em peixes.

REFERÊNCIAS

ABARA, P. et al. Toxicity of Chlorpyrifos-Based Pesticide Formulation Termicot® on Nontarget Organism (*Clarias gariepinus*). **Jornal Internacional de Investigações Zoológicas**, v. 6, n. 2, p. 321-29, 2020.

ALI, D. et al. Genotoxicity assessment of acute exposure of chlorpyrifos to freshwater fish *Channa punctatus* (Bloch) using micronucleus assay and alkaline single-cell gel electrophoresis. **Chemosphere**, v. 71, n. 10, p. 1823–1831, 2008.

BANAEE, M.; HAGHI N. B.; IBRAHIM, A.T. Sub-lethal toxicity of chlorpyrifos on *Common carp, Cyprinus carpio* (Linnaeus, 1758): biochemical response. **International Journal of Aquatic Biology**, v. 1, n. 6, p. 281-288, 2013.

BHATNAGAR, A.; YADAV, A. S.; CHEEMA, N. Genotoxic Effects of Chlorpyrifos in Freshwater Fish *Cirrhinus mrigala* Using Micronucleus Assay. **Advances in Biology**, v. 2016, p. 1-6, 2016. Disponível em: <https://doi.org/10.1155/2016/9276963>. Acesso em: 25 maio 2024.

CARNEIRO, F. F. et al. **Dossiê ABRASCO: um alerta sobre os impactos dos agrotóxicos na saúde**. Rio de Janeiro: EPSJV; São Paulo: Expressão Popular, 2015, 624p.

- CASTRO, Tássia Flávia Dias. **Toxicidade de fungicida comercial a base de tebuconazol em *Danio rerio***. 2016. 78f. Dissertação (Pós-Graduação em Ciências Veterinárias), Universidade Federal de Lavras, Lavras, 2016.
- DI PAOLO, Carolina. **Aplicação do ensaio cometa a estudo de danos ao DNA de robalos, *Centropomus parallelus* (Poey, 1860), expostos à β -naftoflavona**. 2006. 103 f. Dissertação (Mestrado em Ciências), Universidade de São Paulo, São Paulo, 2006.
- EL-BOUHY, Z. M.; EL-HAKIM, Y. A.; MOHAMED, E. M. Chronic Effect of Chlorpyrifos on Biochemical, Immunological Changes and DNA Damage in Juvenile Nile Tilapia (*Oreochromis niloticus*). **Zagazig Veterinary Journal**, v. 46, n. 1, p. 51-59, 2018.
- ISMAIL, M. et al. Genotoxicity of chlorpyrifos in freshwater fish *Labeo rohita* using Alkaline Single-cell Gel Electrophoresis (Comet) assay. **Drug and chemical toxicology**, v. 37, n. 4, p. 466-471, 2018.
- KHAN, N. et al. Fish as Bioindicator: Ecological Risk Assessment of Insecticide to Aquatic Organism Particularly *Ctenopharyngodon idella*. **Journal of Geoscience and Environment Protection**, v. 9, n. 2, p. 42-54, 2021.
- KUMAR, S. P. Micronucleus assay: a sensitive indicator for aquatic pollution. **International Journal of Research in Bio Sciences**, v. 1, n. 2, p. 32-37, 2012.
- MARCHAND, A. et al. Evaluation of chlorpyrifos effects, alone and combined with lipopolysaccharide stress, on DNA integrity and immune responses of the three-spined stickleback, *Gasterosteus aculeatus*. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 145, n. 25, p. 333-339, 2017.
- MATAQUEIRO, Maria Isabel. **Toxicidade aguda do triclorfom em pacus juvenis *Piaractus mesopotamicus* (Holmberg, 1887)**. 2006. 68f. Tese (Doutorado) - Universidade Estadual Paulista, Centro de Aqüicultura da UNESP - Campus de Jaboticabal, Jaboticabal, 2006.
- MENDONÇA, P.P. et al. Influência do fotoperíodo no desenvolvimento de juvenis de tambaqui (*Colossoma macropomum*). **Archivos de Zootecnia**, v. 58, n. 223, p. 323-331, 2009.
- MITKOVSKA, V.; CHASSOVNIKAROVA, T. Chlorpyrifos levels within permitted limits induce nuclear abnormalities and DNA damage in the erythrocytes of the common carp. **Environmental science and pollution research international**, v. 27, n. 7, p. 7166–7176, 2020.
- PAULA, Fernanda Gomes de. **Desempenho do tambaqui (*Colossoma macropomum*), da pirapitinga (*Piaractus brachypomum*) e do híbrido tambatinga (*C. macropomum* x *P. brachypomum*) mantidos em viveiros fertilizados na fase de engorda**. 2009. 57f. Dissertação (Mestrado em Ciência Animal), Universidade Federal de Goiás, Escola de Veterinária, Goiânia, 2009.

- PELAEZ, V.; TERRA, F. H.; SILVA, L. R. A. A regulamentação dos agrotóxicos no Brasil: entre o poder de mercado e a defesa da saúde e do meio ambiente. **Revista de Economia**, v. 36, n. 1, p. 27-48, 2010.
- PERES, F.; MOREIRA, J. C. Saúde e ambiente em sua relação com o consumo de agrotóxicos em um polo agrícola do Estado do Rio de Janeiro, Brasil. **Cadernos de Saúde Pública**, v. 23, n. 4, p. 612-621, 2007.
- QIU, X. et al. Short-term and persistent impacts on behaviors related to locomotion, anxiety, and startle responses of Japanese medaka (*Oryzias latipes*) induced by acute, sublethal exposure to chlorpyrifos. **Aquat. Toxicol.** v. 192, p. 148-154, 2017.
- RAHMAN, H. U. et al. A comprehensive review on chlorpyrifos toxicity with special reference to endocrine disruption: Evidence of mechanisms, exposures and mitigation strategies. **Science of The Total Environment**, v. 755, p. 2:142649, 2021. Disponível em: 10.1016/j.scitotenv.2020.142649. Acesso em: 25 maio 2024.
- SAHINOZ, E. et al. The Protective Effects of Curcumin on Organophosphate Insecticide Chlorpyrifos-Induced Oxidative Stress and DNA Damage in *Oncorhynchus mykiss*. **Turk. J. Fish. & Aquat. Sci.**, v. 20, n. 3, p. 185-195, 2019.
- SANTOS, Valdeir Teodoro de Farias. **Frequência de micronúcleos em tambaquis de pisciculturas no município de Presidente Médici – RO: influência de agrotóxicos.** 2015. 51 f. Monografia (Bacharelado em Engenharia de Pesca) - Fundação Universidade Federal de Rondônia, Presidente Médici, 2015.
- SHABBIR, M. D.; SINGH, M.; MAITI, S.; SAHA, M. K. Organophosphate pesticide (Chlorpyrifos): Environmental menace; study reveals genotoxicity on plant and animal cells. **Environmental Challenges**, v. 5, 100313, 2021. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.envc.2021.100313>. Acesso em: 25 maio 2024.
- SILVA, J. O uso do ensaio cometa para o ensino de genética toxicológica. **Genética na escola**, v. 2, n. 2, p. 30-33, 2007.
- SMIDA, A. et al. Immunoprotective activity and antioxidant properties of cactus (*Opuntia ficus indica*) extract against chlorpyrifos toxicity in rats. **Biomed. Pharmacother.**, v. 88, p. 844-485, 2017.
- SUD, D., KUMAR, J., KAUR, P., BANSAL, P. Toxicity, natural and induced degradation of chlorpyrifos. **Revista da Sociedade Química Chilena**, v. 65, n. 2, p. 4807–4816, 2020.
- TROLLY, Thais Sena de. **Avaliação de genotoxicidade em peixe de duas áreas portuárias do Rio Tapajós, no Oeste do Pará.** 2019. 43f. Dissertação (Mestrado em Biociências) – Universidade Federal do Oeste do Pará, Santarém-PA, 2019.
- VERA-CANDIOTI, J. et al. Single-cell gel electrophoresis assay in the ten spotted live-bearer fish, *Cnesterodon decemmaculatus* (Jenyns, 1842), as bioassay for agrochemical-induced genotoxicity. **Ecotoxicology and environmental safety**, v. 98, p. 368–373, 2013.

VICARI, T. **Avaliação do efeito mutagênico de duas concentrações (0,075µg/g E 0,75 µg/g) do metilmercúrio em *Hoplias malabaricus* (PISCES) através dos ensaios cometa e micronúcleo.** 2009. 103f. Dissertação (Pós-Graduação em Genética) - Universidade Federal do Paraná, Departamento de Genética, Curitiba, 2009.

WANG, J. et al. The enzyme toxicity and genotoxicity of chlorpyrifos and its toxic metabolite TCP to zebrafish *Danio rerio*. **Ecotoxicology (London, England)**, v. 23, n. 10, p. 1858–1869, 2014.

XU, M. Y. et al. Joint toxicity of chlorpyrifos and cadmium on the oxidative stress and mitochondrial damage in neuronal cells. **Food Chem. Toxicol.**, v. 103, p. 246-252, 2017.