

EFFECTO SUBLETAL DEL FIPRONIL EN EL DESENVOLVIMIENTO DE EMBRIONES DE *Oncorhynchus mykiss* "TRUCHA ARCO IRIS"

José Iannacone^{1,2}
Christian Paredes²
Lorena Alvariano²

RESUMEN

El fipronil es un insecticida que actúa por contacto e ingesta usado en el control integrado de plagas en la agricultura, veterinaria y en salud pública. En la piscicultura de aguas frías, *Oncorhynchus mykiss* "trucha arco iris" es la especie más cultivada e importante en el Perú. Este recurso hidrobiológico fue introducido al Perú en 1928 con fines de pesca deportiva. La trucha también es empleada como organismo acuático de referencia en ensayos ecotoxicológicos para evaluar plaguicidas y muestras ambientales. El objetivo del presente trabajo fue determinar el efecto subletal del fipronil en el desenvolvimiento de los embriones de *O. mykiss* a cinco diferentes concentraciones (0,32 ug·L⁻¹; 1,6 ug·L⁻¹; 8 ug·L⁻¹; 40 ug·L⁻¹ y 200 ug·L⁻¹) durante 11 días de exposición. Se realizaron bioensayos empleando embriones de *O. mykiss* del estadio II (embriones con presencia de notocorda). Se empleó agua de cloro y filtrada, oxigenada a > 8 mg·L⁻¹ y a una temperatura de 16°C y 40 embriones por concentración que procedieron de la Piscigranja de Ingenio, Huancayo, Perú. Se observaron efectos significativos en el desenvolvimiento de los embriones desde la concentración más baja (LOEC = 0,32 ug·L⁻¹) y desde los 4 días de exposición. La CE₅₀ a las 264 h de exposición fue de 0,97 ug·L⁻¹. A los 11 días de exposición se encontró a las tres concentraciones más altas (8 ug·L⁻¹; 40 ug·L⁻¹ y 200 ug·L⁻¹) del fipronil un retraso en el número de embriones que pasaban del estadio II a los siguientes estadios de desarrollo.

Palabras claves: Ecotoxicología, Fipronil, *Oncorhynchus mykiss*.

SUMMARY

Fipronil is an insecticide that acts by contact and ingestion used in the Integrated Pest Management in Agriculture, Veterinary and Public Health. In cold-water fishery, rainbow trout *Oncorhynchus mykiss* is the most important specie cultivated in Peru. This hydrobiological resource was introduced to Peru in 1928 for sport fishing. Trout is also used as reference aquatic organism in ecotoxicological tests for assessing pesticide and environmental samples. The aim of this study was to determine the sublethal effects of fipronil in the development of the embryos of *O. mykiss* to five different concentrations (0.32 ug·L⁻¹, 1.6 ug·L⁻¹, 8 ug·L⁻¹, 40 ug·L⁻¹ and 200 ug·L⁻¹) for 11 days of exposure. Bioassays were conducted using embryos of *O. mykiss* stage II (embryos with presence of notochord). Dechlorinated water, filtered, oxygenated at > 8 mg·L⁻¹ was used and a temperature of 16°C and 40 embryos per concentration that came from the fish farm of Ingenio, Huancayo, Peru. Significant effects on embryos development from the lowest concentration (LOEC = 0.32 ug·L⁻¹) since 4 days of exposure was observed. EC₅₀ at 264 h exposure was 0.97 ug·L⁻¹. At 11 days of exposure at three higher concentrations (8 ug·L⁻¹, 40 ug·L⁻¹ and 200 ug·L⁻¹) of fipronil a delay in the number of embryos that passed stage II to next stages was found.

Key words: Ecotoxicology, Fipronil, *Oncorhynchus mykiss*.

INTRODUCCIÓN

El fipronil es un insecticida que actúa por contacto e ingestión en insectos picadores-chupadores y masticadores. Este producto químico desarrollado en la década

de los 90, exhibe una alta selectividad en términos de toxicidad y un alto poder disruptor del sistema nervioso central en los insectos al inhibir la acetilcolinesterasa en comparación a los mamíferos (Medina et al., 2004; Bedient et al., 2005). El fipronil produce pérdida de la

¹ Laboratorio de Cordados. Facultad de Ciencias Biológicas. Universidad Ricardo Palma. Santiago de Surco, Lima, Perú. E-mail: joseiannacone@yahoo.es.

² Laboratorio de Ecofisiología Animal. Facultad de Ciencias Naturales y Matemática. Universidad Nacional Federico Villarreal. El Agustino, Lima, Perú, e-mail: mesorpre@hotmail.com

señalización neuronal, hiperexcitación, y muerte en insectos. Es un compuesto quirálico conformado por una mezcla racémica de dos enantiómeros (R, -) y (S, +), y antagonista que bloquea los receptores del ácido amino butírico (GABA) de los insectos, los cuales son muy diferentes en estructura molecular y en perfil farmacológico que en los vertebrados (Jones et al., 2007; Overmyer et al., 2007). También el fipronil inhibe el sistema nervioso central al bloquear el glutamato que activa los canales de cloro (Narahashi et al., 2007). Desde que fue prohibido el furadan® (carbofurano) en muchos países, el fipronil se considera como el reemplazo de este plaguicida (Bedient et al., 2005).

El fipronil es un insecticida de amplio espectro que pertenece a los fenil pirazólicos o fiprólicos (Fig. 1), de alta selectividad usado para plagas en la agricultura en el cultivo de arroz contra *Oryzophagus oryzae* (Costa Lima, 1936) (Coleoptera: Curculionidae) (Schlenk et al., 2001; Grützmacher et al., 2008), en nabos contra *Phyllotreta* spp. (Coleoptera: Chrysomelidae) (Tansey et al., 2009), en el cultivo de papa contra la polilla de la papa *Phthorimaea operculella* Zeller 1873 (Lepidoptera: Gelechiidae) (Dođramaci & Tingey, 2008), en la langosta migratoria *Schistocerca gregaria* (Forskål, 1775) (Orthoptera: Acrididae) (Al-Ajlan, 2007), y en cultivos de tabaco y algodón contra *Spodoptera litura* (Fabricius, 1775) (Lepidoptera: Noctuidae) (Huang et al., 2006).

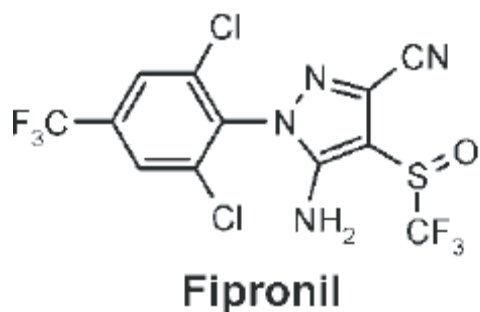


Figura 1. Fipronil: fórmula química.

El fipronil ha sido ampliamente usado en veterinaria y salud pública (Schlenk et al., 2001; Tingle et al., 2003). De igual forma el empleo del fipronil se ha incrementado en los ambientes urbanos para el control de plagas y vectores (Maul et al., 2008). Se le ha empleado para el control de la avispa chaqueta amarilla *Vespa germanica* (Fabricius, 1793) (Hymenoptera: Vespidae) (Ulloa et al., 2006; Sackman & Corley, 2007), de la garrapata del perro *Ixodes ricinus* (Linnaeus, 1758) (Ixodidae) (Bonneau et al., 2010), de la pulga del gato *Ctenocephalides felis felis* (Bouche 1835) (Siphonaptera: Pulicidae) (Jacobs et al., 2001), de la cucaracha *Blattella germanica* (Linnaeus, 1767) (Dictyoptera: Blattellidae) (Durier & Rivault, 2000), y del piojo humano *Pediculus*

capitis (De Geer, 1778) (Phthiraptera: Pediculidae) (Downs et al., 2000).

Al realizarse una evaluación de riesgos se ha encontrado que algunas formulaciones del fipronil presentan riesgo para aves, anfibios como *Xenopus laevis* (Daudin, 1802) (Anura: Pipidae) (Overmyer et al., 2007) peces como Pimephales promelas Rafinesque, 1820 (Beggel et al., 2010), crustáceos como *Daphnia magna* Straus, 1820, *Ceriodaphnia dubia* (Richard 1894), *Palaemonetes pugio* Holthuis, 1949, *Procambarus clarkii* (Girard, 1852) y *Procambarus zonangulus* Hobbs and Hobbs, 1990 (Schlenk et al., 2001; Konwick et al., 2005; Overmyer et al., 2007), invertebrados acuáticos que conforman las comunidades bénticas como *Chironomus tentans* Fabricius 1805 (Tingle et al., 2003; Maul et al., 2008), larvas de *Simulium vittatum* (Zetterstedt, 1838) (Diptera: Simuliidae) (Overmyer et al., 2007), larvas gloquidias de cuatro pelecípodos (Unionidae) como *Villosa constricta* (Conrad 1838), *Elliptio complanata* (Lightfoot, 1786), *Lampsilis fascista* y *Lampsilis siliquoidea* (Branes, 1823), en otros bivalvos como *Mercenaria mercenaria* (Linnaeus, 1758) (Bringolf et al., 2007) y finalmente en componentes del fitoplancton como *Dunaliella tertiolecta* Butcher (Overmyer et al., 2007).

De igual forma se han observado efectos del fipronil en insectos que forman parte del control biológico de plagas agrícolas como en el depredador *Chrysoperla carnea* (Stephens, 1836) (Neuroptera: Chrysopidae) (Medina et al., 2004), en los parasitoides *Anagrus* sp. (Girault, 1913) y *Coccidoxenoides perminutus* (Timberlake, 1919) (Hymenoptera: Encyrtidae) (Mgocheki & Addison, 2009). Se ha encontrado efecto del fipronil en *Apis mellifera* Linnaeus, 1758 (Iannacone & Alvariano, 2009; Li et al., 2010).

En la piscicultura de aguas frías, *Oncorhynchus mykiss* (Walbaum, 1792) “Trucha arco iris” (Osteichthyes: Salmonidae) es la especie más cultivada e importante en el Perú (Mariano & Mayta, 2008). Este recurso hidrobiológico fue introducido a nuestro país en 1928 con fines de Pesca Deportiva en Cerro de Pasco (CARES, 2010).

Los peces son extremadamente sensibles a la perturbación ambiental (Iannacone et al., 2007a). Numerosas especies han sido propuestas como modelos biológicos para evaluar la ecotoxicidad de sustancias químicas contaminantes (Iannacone et al., 2007a,b). Los alevines de truchas *O. mykiss* han sido un modelo bastante utilizado, debido a su elevada sensibilidad a tóxicos contaminantes, así como su importancia como recurso acuícola (Iannacone et al., 2007b).

De hecho, *O. mykiss* constituye uno de los principales recursos hidrobiológicos de la actividad de acuicultura continental en el Perú, siendo una especie muy sensible

a las contaminaciones orgánicas. Esta es una de las especies más usadas en bioensayos para evaluar el impacto de diversas sustancias químicas en los ecosistemas dulceacuícolas. La trucha es empleada como organismo acuático de referencia en ensayos ecotoxicológicos para evaluar plaguicidas y muestras ambientales.

El objetivo del presente trabajo fue determinar el efecto subletal del fipronil en el desenvolvimiento de los embriones de *O. mykiss* a cinco diferentes concentraciones (0,32 $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$; 1,6 $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$; 8 $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$; 40 $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ y 200 $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$) durante 11 días de exposición.

MATERIALES Y MÉTODOS

Fipronil

Es un producto químico que presenta un CAS N° 120068-37-3. Un peso molecular de 437,2 $\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$. La solubilidad en el agua es de 0,0019 $\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ a pH de 5. El tiempo de vida medio en el agua es de 4 a 12 h. El tiempo de vida medio en suelo aeróbicos es de 122-128 días. El valor de toxicidad oral aguda DL_{50} del fipronil es de 0,13 y 41 $\text{mg}\cdot\text{Kg}^{-1}$ para las mosca domestica y el ratón, respectivamente (Narahashi et al., 2007). Para los ensayos, el formulado de fipronil al 95% de pureza se disolvió al 1% en agua de clorinada y filtrada (pH = 7,2; conductividad específica = 70 $\text{mhos}\cdot\text{cm}^{-1}$). En los ensayos se aplicaron concentraciones de ingrediente activo (i.a.) de fipronil en $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ y con un factor de dilución mayormente de 0,2 a cinco diferentes concentraciones (0,32 $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$; 1,6 $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$; 8 $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$; 40 $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ y 200 $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$) durante 11 días de exposición. Las dosis se seleccionaron en base a la dosis de aplicación en la agricultura de 0,6 a 200 g de ia·ha⁻¹.

Oncorhynchus mykiss

Los embriones se obtuvieron de las instalaciones del Laboratorio de Sanidad del Centro Piscícola, El Ingenio (75°15'W; 11°52'S). Dicho centro está localizado en la provincia de Concepción, Departamento de Junín, Perú a 3510 msnm (Iannacone et al., 2007b). Los embriones y las larvas fueron caracterizadas en seis categorías: II: embriones con presencia de notocorda; III: embriones con notocorda visible, a veces muy marcada y un ojo; IV: embriones con notocorda mayormente marcada y un ojo; V: embriones con presencia de una pequeña protuberancia, consecuencia del proceso de eclosión; VI: larvas con eclosión de cabeza, total o parcial; VII: larva eclosionada totalmente y con presencia de saco vitelino. Estos embriones fueron acondicionados y aclimatados por 48 h en acuarios de vidrio de 90 cm de largo x 30 cm de ancho x 20 cm de largo. Las condiciones cultivo parcial de temperatura fueron de 14°C.

Bioensayos

Se siguieron las normas estandarizadas de la USEPA (1996), de toxicidad crónica subletal de ciclo de vida en peces. Se iniciaron los ensayos con embriones del esta-

dio II (ovas con presencia de notocorda), los cuales presentaron una apariencia saludable externa para su uso en los ensayos ecotoxicológicos. Los ensayos de carácter subagudo semiestáticos tuvieron una duración de 11 días, con recambio de agua cada dos días y a una temperatura de 14°C. El fotoperiodo empleado fue de 12h de luz y 12 h de oscuridad. Cada recipiente de plástico empleado contuvo 500 mL de la solución prueba. Las pruebas para los bioensayos estuvieron compuestas de un control y cinco concentraciones nominales de fipronil. En cada unidad se colocaron 10 ovas con embriones de peces de II estadio que se distribuyeron al azar a los distintos tratamientos de fipronil. Los ensayos fueron realizados por duplicado. Los bioensayos ecotoxicológicos con el fipronil se realizaron durante el 2008.

ANÁLISIS DE DATOS

Las pruebas de toxicidad subletal se evaluaron en cinco concentraciones más el control, con cuatro repeticiones, en un diseño en bloque completamente randomizado (DBCR). Se usó un análisis de varianza (ANDEVA) de dos vías, previa transformación de los datos a raíz cuadrada del arcoseno. En el caso de existir diferencias entre los tratamientos y las repeticiones se empleó la prueba de Tukey. Los valores de LOEC (Concentración más baja de efectos observables), TE_{50} (Tiempo efectivo medio) y las CE_{50} (Concentración efectiva media) se calcularon usando el programa computarizado Probit versión 1,5. Para la determinación de los estadísticos descriptivos e inferenciales se usó el paquete estadístico SPSS, versión 16,00 para Windows 98.

RESULTADOS

La Tabla 1 nos muestra el efecto del fipronil en la destrucción de las ovas y eliminación del vitelo de *O. mykiss* a cuatro diferentes periodos de exposición. A las 48 h de exposición no se observaron efectos del fipronil a ninguna de las cinco concentraciones en comparación al control. A 96 h, 168 h y 264 h de exposición se observó a la concentración más baja de 0,32 $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ del fipronil efectos significativos en comparación con el control. Desde las 96 h hasta las 264 h de exposición el valor de LOEC para el fipronil fue la concentración más baja. Las CE_{50} s y sus límites inferior y superior fueron aumentando su toxicidad desde las 96 h hasta las 264 h de exposición (Tabla 1). De igual la TE_{50} fue disminuyendo a medida que incrementó la concentración del fipronil en el agua (Tabla 1). En el control se observó un desenvolvimiento de las ovas del II estadio de *O. mykiss* en 11 días de exposición hasta inclusive los estadios de desarrollo del V al VII. Se puede observar a medida que aumenta la concentración del fipronil una disminución y retraso en el porcentaje de ovas que pasaron a los estadios III y IV (Tabla 2). Desde la concentración más baja de 0,32 $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ de fipronil ninguna ova de *O. mykiss* pasó al estadio V de desarrollo a los 11 días de exposición.

Tabla 1. Efecto del fipronil ($\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$) en el porcentaje de destrucción de las ovas y eliminación del vitelo de *O. mykiss* a 4 diferentes periodos de exposición.

$\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$	48 h	96 h	168 h	264 h	TE ₅₀ h
Control	0a	0a	0a	0a	ND
0,32	0a	20b	20,3b	44b	388
1,6	0a	26,6b	26,9b	52bc	294
8	0a	33,3bc	46,8c	60c	184
40	0a	46,6c	53,5c	84d	118
200	0a	53,3c	60,1c	84d	97
CE ₅₀ ($\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$)	ND	105,6	29,8	0,97	
Límite inferior ($\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$)	ND	41,8	7,1	0,38	
Límite superior ($\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$)	ND	511	123	1,88	
LOEC ($\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$)	ND	0,32	0,32	0,32	

ND = no determinado.

Tabla 2. Efecto del fipronil ($\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$) sobre el desenvolvimiento de las ovas y embriones de *O. mykiss* a los 11 días de exposición. Se muestran los datos con ajuste en el control y en valores porcentuales.

$\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$	destruidos	III	IV	V	VII	VII
Control	0	27,5	17,5	5	2,5	10
0,32	44	32	24	0	0	0
1,6	52	32	16	0	0	0
8	60	0	40	0	0	0
40	84	16	0	0	0	0
200	84	16	0	0	0	0

III al VII = estadios de desarrollo del desenvolvimiento de los embriones de *O. mykiss*.

Finalmente a partir de la concentración de $40 \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ de fipronil ninguna ova pasó al IV estadio de desarrollo (Tabla 2).

DISCUSIÓN

En el presente trabajo desde $0,32 \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ de fipronil se observó efectos sobre el desenvolvimiento de los embriones al no pasar del estadio III al estadio V en *O. mykiss*. La toxicidad del fipronil a peces y otros vertebrados no está bien caracterizada, y especialmente en los estadios tempranos de desarrollo no está bien entendida (Stehr et al., 2006).

De igual forma se han encontrado efectos del fipronil en la respuesta motora, en la degeneración de la notocorda, en el acortamiento de la longitud corporal y en la morfo-

logía anormal de las fibras musculares en los embriones del pez zebra [*Danio rerio* (Hamilton, 1822)] a concentraciones de 333 y $500 \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$. Estas concentraciones son más de 1000 veces más altas que la concentración encontrada de LOEC de $0,32 \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ del presente estudio (Stehr et al., 2006). En *Lepomis macrochirus* Rafinesque, 1819, *Cyprinodon variegatus* Lacepède, 1803 y *Oryzias latipes* (Temminck & Schlegel, 1846) se han obtenido valores de CL₅₀s de 83, 130 y $94,2 \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ de fipronil, respectivamente (Konwick et al., 2005; Nillos et al., 2010). Connelly (2001) señala que *O. mykiss* presenta un valor crónico de NOEC y LOEC de 6,6 y $15 \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$, dentro del rango de los resultados obtenidos en el presente estudio (Tabla 1). Se han observado efectos de 100% y 78% de mortalidad larvaria de *O. mykiss* a 60 días de eclosionados de los huevos a concentraciones de $60 \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ y $26 \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ de fipronil (HSE, 1999). A $26 \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$

se encontró pérdidas de equilibrio a 60 días de post-eclosión.

Otros estudios en invertebrados han mostrado efectos del fipronil en la reproducción del copépodo estuarino *Amphiascus tenuiremis* (Brady & Robertson, 1875) en un 94% a $0,42 \text{ ug}\cdot\text{L}^{-1}$ con un incremento en las infertilidad del macho y en la toxicidad subletal de *Daphnia pulex* De Geer 1877 (Crustacea: Cladocera) de $16 \text{ ug}\cdot\text{L}^{-1}$ (Walse et al., 2004; Stark & Vargas, 2005).

Los resultados muestran que el fipronil desde la concentración mas baja de $0,32 \text{ ug}\cdot\text{L}^{-1}$ produce un el retraso en el desenvolvimiento de los embriones de *O. mykiss* a las 11 días de exposición. De igual forma a las 96 h de exposición ya se observan diferencias estadísticamente significativas entre el control y la concentración mas baja del fipronil. A los 11 días de exposición el valor de CE_{50} resulto ser sumamente tóxico en comparación a otras especies acuáticas ensayadas (Konwick et al., 2005; Bringolf et al., 2007).

Aunque en el Perú no se tienen registros de concentraciones de fipronil en el ambiente. USEPA para los Estados Unidos señala valores del fipronil en agua de $1,7 \text{ ug}\cdot\text{L}^{-1}$ cuando se emplea para el control de hormigas (Konwick et al., 2005). Teniendo en consideración esta concentración determinada, los valores de CE_{50} y de LOEC del fipronil a 11 días de exposición señalan un riesgo para el desenvolvimiento de los embriones de la trucha, pues los valores de toxicidad subletales obtenidos en este trabajo fueron menores que las concentraciones ambientales registrados en la literatura. Se requiere investigación adicional para determinar el riesgo en el ambiente acuático de otras formulaciones de fipronil y la evaluación ecotoxicológica en peces nativos del Perú.

CONCLUSIONES

Al Sr. Isaac Turcke y a Srta. Thalia Bocanegra por su colaboración en el mantenimiento de *O. mykiss* bajo condiciones de laboratorio.

LITERATURA CITADA

AL-AJLAN, A.M. 2007. Relationship between desert locust, *Schistocerca gregaria* (Forskål), infestation, environmental factors and control measures in Gazan and Makkan Regions, Saudi arabia. Pakistan Journal of Biological Sciences, 10: 3507-3515.

BEDIENT, P.B.; Horsak, R.D.; Schlenk, D.; Hovinga, R.M. & Pierson, J.D. 2005. Environmental impact of fipronil to the Louisiana crawfish industry. Environmental Forensics, 6: 289-299.

BEGGEL, S.; Werner, I.; Connon, R.E. & Geist, J.P. 2010. Sublethal toxicity of commercial insecticide

formulations and their active ingredients to larval fathead minnow (*Pimephales promelas*). Science Total Environment, 408: 3169-3175.

BONNEAU, S.; Gupta, S. & Cadiergues, M.C. 2010. Comparative efficacy of two fipronil spot-on formulations against experimental ticks infestation (*Ixodes ricinus*) in dogs. Parasitology Research, DOI 10.1007/s00436-010-1930-y.

BRINGOLF, R.B.; Cope, W.G.; Eads, C.B.; Lazaro, P.R.; Barnhart, M.C. & Shea, D. 2007. Acute and chronic toxicity of technical-grade pesticide to gloquidia and juveniles of freshwater mussels (Unionidae). Environmental Toxicology and Chemistry, 26: 2086-2093.

CARES (2010). Alcances para la producción de la trucha en jaulas artesanales. Huancañé-Puno. REDESA, Puno. 40 pp.

CONNELLY, P. 2001. Environmental fate of fipronil. Environmental Monitoring Branch. Department of Pesticide Regulation. California Environmental Protection Agency. 17 pp.

DODRAMACI, M. & Tingey, W. M. 2008. Comparison of insecticide resistance in a North american field population and a laboratory colony of potato tuberworm (Lepidoptera: Gelechiidae). Journal of Pesticide Science, 81: 17-22.

DOWNS, A.MR., Staffords, K.A. & Coles, G.C. 2000. Susceptibility of British head lice, *Pediculus capitis*, to imidacloprid. Medical and Veterinary Entomology, 14: 105-107.

DURIER, V. & Rivault, C. 2000. Comparisons of toxic baits for controlling the cockroach, *Blattella germanica*: attractiveness and feeding stimulation. Medical and Veterinary Entomology, 14: 410-418.

GRÜTZMACHER, A.D.; Martins, S.J.F.; da Cunha, S. C. U.; Giolo, F. P.; Neves, M.B.; Härter, W.de R.; Franco, D.F. & Mattos, M.L.T. 2008. Viabilidade da antecipação do tratamento de sementes de arroz com inseticidas em relação à data de semeadura no control de *Oryzophagus oryzae* (Coleoptera: Curculionidae). Ciência Rural, Santa María, 38: 1830-1835.

HSE. (The Health and Safety Executive). 1999. Evaluation on fipronil use as a public hygiene insecticide. Advisory Committee on pesticides. Food and Environment Protection Act 1985, Part III. Control of Pesticide Regulations. York. 116 p.

HUANG, S.; Xu, J. & Han, Z. 2006. Baseline toxicity data of insecticide against the common cutworm *Spodoptera litura* (Fabricius) and a comparison of resistance monitoring methods. International Journal of Pest Management, 52: 209-213.

IANNACONE, J. & Alvariano, L. 2009. Impacto del fipronil y del cartap en abejas. Scientia, 11: 173-182.

IANNACONE, J.; Onofre, R. & Huanqui, O. 2007a. Efectos ecotoxicológicos del cartap sobre *Poecilia reticulata* "guppy" (Poeciliidae) y *Paracheirodon*

- innesi* "Neon Tetra" (Characidae). Gayana, 71: 170-177.
- IANNACONE, J.; Roxana Onofre C.R.; Huanqui S. O.; Jorge Giraldo A. J.; Mamani P.N.; Miglio, T.M.C. & Alvarino F.L. 2007b. Evaluación del riesgo ambiental del insecticida metamidofos en bioensayos con cuatro organismos acuáticos no destinatarios. Agricultura Técnica, 67: 126-138
- JACOBS, D.E.; Hutchinson, M.J. & Ryan, W.G. 2001. Control of flea populations in a simulated home environment model using lufenuron, imidacloprid or fipronil. Medical and Veterinary Entomology, 25: 73-77.
- JONES, W.J.; Mazur, C.S.; Kenneke, J.F. & Garrison, A.W. 2007. Enantioselective microbial transformation of the phenylpyrazole insecticide fipronil in anoxic sediments. Environmental Science and Technology, 41: 8301-8307.
- KONWICK, B.J.; Fisk, A.T.; Garrison, A.W.; Avants, J.K. & Black, M.C. 2005. Acute enantioselective toxicity of fipronil and its desulfinyl photoproduct to *Ceriodaphnia dubia*. Environmental Toxicology and Chemistry, 24: 2350-2355.
- LI, X.; Bao, Ch.; Yang, D.; Zheng, M.; Li, X. & Tao, S. 2010. Toxicities of fipronil enantiomers to the honeybee *Apis mellifera* L. and enantiomeric compositions of fipronil honey plant flowers. Environmental Toxicology and Chemistry, 29: 127-132.
- MARIANO, A.M. & Mayta, H. E. 2008. Manejo sustentable del cultivo de truchas en jaulas: Junín. Cepredim Ed. 77 p.
- MAUL, J.D.; Brennan, A.A.; Harwood, A.D. & Lydy, M.J. 2008. Effect of sediment associated pyrethroids, fipronil, and metabolites on *Chironomus tentans* growth rate, body mass, condition index, immobilization, and survival. Environmental Toxicology and Chemistry, 27: 2582-2590.
- MEDINA, P.; Budia, F.; Del Estal., P.; Adán, A. & Viñuela, E. 2004. Toxicity of fipronil to the predatory lacewing *Chrysoperla carnea* (Neuroptera: Chrysopidae). Biocontrol Science and Technology, 14: 261-268.
- MGOCHEKI, N. & Addison, P. 2009. Effect of contact pesticide on vine mealybug parasitoids, *Anagyrus* sp. near *pseudococci* (Girault) and *Coccidoxenoides perminutus* (Timberlake) (Hymenoptera: Encyrtidae). South African Journal of Enology and Viticulture, 30: 110-116.
- NARAHASHI, T.; Zhao, X.; Ikeda, T.; Nagata, K. & Yeh, J.Z. 2007. Differential actions of insecticides on target sites: basis for selective toxicity. Human Experimental Toxicology, 26: 361-366.
- NILLOS, M.G.; Lin, K.; Gan, J.; Bondarenko, S. & Schlenk, D. 2010. Enantioselectivity in fipronil aquatic toxicity and degradation. Environmental Toxicology and Chemistry, 28: 1825-1833.
- OVERMYER, J.P.; Rouse, D.R.; Avants, J.K.; Garrison, A.W.; Delorenzo, M.E.; Chung, K.W.; Key, P.B.; Wilson, W.A. & Black, M.C. 2007. Toxicity of fipronil and its enantiomers to marine and freshwater non-targets. Journal of Environmental Science and Health Part B, 42: 471-480.
- SACKMANN, P. & Corley, J.C. 2007. Control of *Vespa germanica* (Hym. Vespidae) populations using toxic baits: bait attractiveness and pesticide efficacy. Journal of Applied Entomology, 13: 630-636.
- SCHLENK, D.; Huggett, D.B.; Allgood, J.; Bennett, E.; Rimoldi, J.; Beeler, A.B.; Block, D.; Holder, A.W.; Hovinga, R. & Bedient, P. 2001. Toxicity of fipronil and its degradation products to *Procambarus* sp.: field and laboratory studies. Archives of Environmental Contamination and Toxicology, 41: 325-332.
- STARK, J.D. and R.I. Vargas. 2005. Toxicity and hazard assessment of fipronil to *Daphnia pulex*. Ecotoxicology and Environmental Safety, 62: 11-16.
- STEHR, C.M.; Linbo, T.L.; Incardona, J.P. & Scholz, N.L. 2006. The developmental neurotoxicity of fipronil: notochord degeneration and locomotor defects in zebrafish embryos and larvae. Toxicological Sciences, 92: 270-278.
- TANSEY, J.A.; Dossdall, L.M. & Keddie, B.A. 2009. Phyllotreta cruciferae and *Phyllotreta striolata* responses to insecticidal seed treatments with different modes of action. Journal of Applied Entomology, 133: 201-209.
- TINGLE, C.C.; Rother, J.A.; Dewhurst, C.F.; Lauer, D. & King, W.J. 2003. Fipronil: environmental fate, ecotoxicology, and human health concerns. Review of Environmental Contamination and Toxicology, 176: 1-66.
- ULLOA, A.K.; Curkovic, S.T. & Araya, C.J. 2006. Toxicidad oral de seis insecticidas en larvas de *Vespa germanica* (F.) en laboratorio. Agricultura Técnica (Chile), 66: 133-140.
- USEPA. 1996. Ecological effect test guidelines. OPPTS 850. 1400. Fish early-life stage toxicity test. EPA 712-C-96-121. Prevention, Pesticides and Toxic Substances (7101). 15 pp.
- WALSE, S.S.; Pennington, P.L.; Scott, G.I. & Ferry, J.L. 2004. The fate of fipronil in modular estuarine mesocosms. Journal of Environmental Monitoring, 6: 58-64.