



ECOTOX - BRASIL

J. Braz. Soc. Ecotoxicol., v. 7, n. 1, 2012,
doi: 10.5132/jbse.2012.01.005

JBSE

Toxicidade aguda e risco ambiental de surfactantes agrícolas para o guaru *Phalloceros caudimaculatus* (Pices: Poeciliidae)

S.P. CARRASCHI^{1,2*}, L.A.V. LUNA², A.N. NETO², A.C.F. GÍRIO², C. CRUZ² & R.A. PITELLI²

¹Centro de Aquicultura da Unesp/Caunesp, Câmpus de Jaboticabal, Brasil

²Núcleo de Estudos e Pesquisas Ambientais em Matologia, Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias da UNESP, Câmpus de Jaboticabal, São Paulo, Brasil.

(Received August 26, 2009; Accept November 04, 2011)

Resumo

Os surfactantes são moléculas anfipáticas que promovem a redução da tensão superficial da água. Os objetivos foram estimar $CL(I)_{50;96h}$; determinar o risco ambiental; avaliar a qualidade da água e os sinais de intoxicação durante os testes com os surfactantes Agral[®], Aterbane[®] BR, Ag-Bem[®], Energic[®], Fixade[®] e Gotafix[®] para o guaru (*Phalloceros caudimaculatus*). Os animais foram expostos aos surfactantes e a um tratamento controle, em delineamento inteiramente casualizado, com três repetições. Para caracterização do risco ambiental foram utilizados os dados da concentração ambiental estimada (CAE) e da $CL(I)_{50;96h}$ de cada surfactante, classificando-os de acordo com o coeficiente de risco. A $CL(I)_{50;96h}$ do Agral[®] foi 4,33 mgL⁻¹; do Aterbane[®] BR 5,81 mgL⁻¹; do Energic[®] 3,93 mgL⁻¹; do Gotafix[®] 3,40 mgL⁻¹; do Fixade[®] 4,06 mgL⁻¹ e do Ag-Bem[®] 22,19 mgL⁻¹. A qualidade da água não foi alterada pela presença dos surfactantes. Os sinais de intoxicação apresentados foram: aumento do batimento opercular; perda da capacidade de arfagem; natação errática e espasmos. O Ag-Bem[®] pode ser considerado como pouco tóxico e os demais, moderadamente tóxicos. O Aterbane[®] BR, o Agral[®], o Ag-Bem[®] e o Gotafix[®] são considerados de risco com possibilidade de efeito adverso e o Energic[®] e o Fixade[®] de risco com probabilidade de efeito adverso para o guaru. Os sinais de intoxicação do guaru podem ser um indicativo de contaminação ambiental por essas moléculas.

Palavras-chave: ecotoxicologia, peixe, qualidade de água, sinais de intoxicação.

Ecotoxicity of agricultural surfactants for guaru *Phalloceros caudimaculatus*

Abstract

The surfactants are amphipathic molecules that promote the reduction of surface tension of water. The objectives were to estimate the $LC(I)_{50;96h}$; to determine the assessment risk; to assess the water quality and the intoxication signs during the tests with the surfactants Agral[®], Aterbane[®]BR, Ag-Bem[®], Energic[®], Fixade[®] and Gotafix[®] for guaru (*Phalloceros caudimaculatus*). The animals were exposed to the surfactants and a control treatment in completely randomized design with three replicates. To characterize the assessment risk were used the data of the estimated environmental concentration and of the $LC(I)_{50;96}$ hours of each surfactant, classifying them according to a coefficient of risk. A $LC(I)_{50;96h}$ of surfactant Agral[®] was 4.33 mgL⁻¹; Aterbane[®]BR 5.81 mgL⁻¹; Energic[®]3.93 mgL⁻¹; GOTAFIX[®]3.40 mgL⁻¹; Fixade[®]4.06 mgL⁻¹ and Ag-Bem[®]22.19 mgL⁻¹. The water quality was not changed by the presence of surfactants. The intoxication signs showed were: increase in opercular beat, loss of ability to pitching, erratic swimming and spasms. Ag-Bem[®] can be considered as slightly toxic and others moderately toxic. Aterbane[®]BR, Agral[®], Ag-Bem[®] and Gotafix[®] are considered at risk with possibility adverse effect and Energic[®] and Fixade[®] risk likely adverse effect to the guaru. The intoxication signs of guaru may be indicative of environmental contamination by these molecules.

Keywords: ecotoxicology, fish, water quality, intoxication signs.

*Corresponding author: Silvia Patricia Carraschi, e-mail: pacarraschi@yahoo.com.br

INTRODUÇÃO

Os surfactantes fazem parte dos componentes inertes das formulações dos herbicidas. Estas substâncias são moléculas anfipáticas que melhoram a aderência dos herbicidas e facilitam a penetração do ingrediente ativo nas plantas (Wagner *et al.*, 2003). Porém esses compostos podem ser mais tóxicos que o próprio ingrediente ativo, para organismos não-alvos (Oakes & Pollak, 2000). Estima-se que cerca de 100 mil desses compostos são produzidos, equivalente a 200 milhões de toneladas por ano, dos quais 20 a 30% podem chegar aos ambientes aquáticos (Colla & Costa, 2003).

Os surfactantes causam danos nos componentes lipídicos das membranas celulares e a diminuição da tensão superficial da água, reduz a hidrofobicidade dos lipídeos da célula, causando uma superidratação. Em altas concentrações pode ocorrer supressão dos processos metabólicos evoluindo a necrose celular (FAO, 1993).

Devido à utilização em diversos setores agroindustrial e doméstico, vários trabalhos foram realizados para avaliar a toxicidade dos surfactantes para os peixes: *Lepomis macrochirus* (Macek & Krzeminski, 1975); *Brachidanio rerio* e *Oncorhynchus mykiss* (Fogels & Sprague, 1977); *L. macrochirus* (Singer *et al.*, 1994 e 1995); *Macquaria novemaculeata* (Gullec & Holdway, 2000); *L. macrochirus* (Buhl & Hamilton, 2000); *Centropomus parallelus* (Rocha *et al.*, 2007) e *Pimephales promelas* (Teneyke & Markee, 2007).

No Brasil, para o desenvolvimento de novos produtos (herbicidas, para a agricultura ou antibióticos e parasiticidas para aquicultura) é necessário o estudo de avaliação do risco e da periculosidade que o produto pode oferecer para o ambiente. Dessa avaliação resulta uma classificação que indica o perfil ecotoxicológico do produto e fornece instruções para o uso correto (IBAMA, 1987).

Os testes de toxicidade são etapas iniciais de avaliação de risco de xenobióticos, proporcionando a caracterização da resposta ecológica a um elemento químico (Cairns *et al.*, 1998).

Para esses testes são utilizados diversas espécies representantes da cadeia trófica. Nesse trabalho foi utilizado o guaru (*Phallogeros caudimaculatus*), uma espécie ovovivípara, com dimorfismo sexual pertencente à ordem Ciprinodontiforme que habita riachos e lagoas (Casatti *et al.*, 2001), e possui as características de um bom organismo-teste, tais como: representatividade de um grupo ecológico; fácil disponibilidade para obtenção; ciclo reprodutivo curto, vivíparo, cosmopolita e é uma espécie nativa do Brasil (Wolff *et al.*, 2007).

Assim, os objetivos deste trabalho foram: estimar a $CL(I)_{50;96h}$ do surfactante Aterbane® BR (mistura de condensado de alcoolfenóis com óxido eteno e sulfonados orgânicos), Agral®, Energic® (nonil fenoxipoli (etilenoxi) etanol), Ag-Bem® (agente tenso-ativo aniônico), Fixade® (nonil fenol etoxilato) e de Gotafix® (nonil fenol polietileno

glicol éter) para o peixe guaru. Avaliar as variáveis de qualidade de água; os sinais de intoxicação e o risco ambiental desses compostos para essa espécie.

MATERIAL E MÉTODOS

Condições ambientais e experimentais dos testes de toxicidade aguda

Os experimentos foram realizados no Laboratório de Impacto Ambiental do Núcleo de Estudos e Pesquisas Ambientais em Matologia (NEPEAM), da Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, UNESP, Campus de Jaboticabal.

Os peixes, machos e fêmeas, foram coletados de viveiros de criação de camarão (*Macrobrachium amazonicum*) do Centro de Aquicultura da Unesp de Jaboticabal. Os organismos ficaram por cerca de 40 dias em tanques de 400 L, em aclimatação no setor de cultivo do laboratório, recebendo ração comercial a vontade uma vez ao dia. Não foi observado mortalidade desse lote de organismo teste.

Os organismos teste com peso entre 0,3 a 0,6 gramas foram transferidos para tanques de 250 L em sala climatizada, com temperatura média de 27 ± 2 °C e fotoperíodo diário de 12h de luz em que foram aclimatados por dez dias. A aclimatação ocorreu em sistema de aeração constante e os animais foram alimentados à vontade com ração comercial (contendo 32% PB, uma ração recomendada para peixes jovens), uma vez ao dia.

Primeiramente, para avaliar a sanidade dos peixes, foram realizados testes de sensibilidade usando como substância-referência o cloreto de potássio (KCl) (ABNT, 2004), sendo a $CL(I)_{50;96h}$ média estimada em $0,55 \pm 0,04$ g L⁻¹.

Inicialmente, para a realização dos testes definitivos, foram realizados testes preliminares de toxicidade aguda determinando o intervalo de concentração que causa zero e 100% de mortalidade.

Os testes foram conduzidos em sistema estático, em delineamento inteiramente casualizado (DIC) nas seguintes condições laboratoriais: pH entre 7,0 e 8,0; oxigênio dissolvido entre 5,0 e 6,0 mgL⁻¹; condutividade elétrica da água entre 170,0 e 180,0 μ Scm⁻¹; temperatura da sala entre 27 e 29°C; e temperatura da unidade experimental entre 25 e 26 °C (ABNT, 2004).

A avaliação da mortalidade foi diária com a retirada dos peixes mortos dos aquários. Os aquários em que os testes foram realizados eram de vidro com capacidade para 5 L.

Testes definitivos e avaliação do comportamento dos peixes

A partir dos dados obtidos nos testes preliminares, foram realizados os testes definitivos, utilizando as seguintes concentrações dos surfactantes: Ag-Bem®: 15,0; 18,0; 21,0; 24,0; 27,0; 30,0 mgL⁻¹; Agral®: 2,0; 3,0; 4,0; 5,0; 6,0; 7,0 mgL⁻¹

¹; Aterbane® BR: 3,0; 4,0; 5,0; 6,0; 7,0; 8,0 mgL⁻¹; Energic®: 3,0; 3,5; 4,0; 4,5; 5,0 mgL⁻¹; Fixade®: 2,0; 4,0; 6,0; 8,0 mgL⁻¹ e Gotafix®: 1,0; 3,0; 5,0; 7,0 mgL⁻¹, mais um controle, sem adição de surfactante, com três réplicas por tratamento.

Durante a realização dos testes foram avaliadas as variáveis de qualidade da água: pH, temperatura, oxigênio dissolvido (mgL⁻¹) e condutividade elétrica (µScm⁻¹) em 0, 24 e 48 horas após a exposição aos surfactantes.

Os sinais de intoxicação também foram avaliados, sendo observados: batimento opercular, busca por oxigênio, capacidade de arfagem, natação errática e posição na coluna de água (Murty, 1988), em 0, 4, 24, 48, 72 e 96 horas após a exposição aos surfactantes.

Em cada réplica de cada tratamento foram utilizados cinco peixes e a avaliação da mortalidade foi diária com a retirada dos peixes mortos.

Ao final de 96 horas, com os dados de mortalidade, foram calculados os valores da CL(I)₅₀;96h pelo software Trimmed Sperman Karber (Hamilton *et al.*, 1977).

Avaliação do Risco Ambiental dos surfactantes

A classificação do risco ambiental dos surfactantes foi realizada por meio do método do quociente (Q) citada por Urban & Cook (1986). O valor do Q foi calculado pela divisão dos valores da concentração ambiental estimada (CAE) pela CL(I)₅₀;96h de cada surfactante.

A concentração ambiental estimada de cada surfactante foi baseada nas recomendações agrônômicas (dosagem de campo) do Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento (MAPA) e descrita na ficha técnica (FISPQ) de cada produto. A partir desta dosagem obteve-se a concentração de ingrediente ativo em cada aplicação do produto, sendo esta considerada a CAE.

As classes de risco ambiental utilizadas foram: risco com nenhum efeito adverso se $Q \leq 0,1$; Risco com possibilidade de efeito adverso se $0,1 \leq Q \leq 10$; e Risco com probabilidade de efeito adverso se $Q > 10$.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os surfactantes não alteraram as variáveis de qualidade de água, permanecendo dentro dos parâmetros iniciais recomendados pela ABNT (2004) para testes de toxicidade, ou seja, pH entre 7,0 e 8,0; oxigênio acima de 4,0 mgL⁻¹ e condutividade entre 130 e 140 µScm⁻¹.

A CL(I)₅₀;96h dos surfactantes variou de 3,40 mgL⁻¹ (Gotafix®) à 22,19 mgL⁻¹ (Ag-Bem®) (Tabela 1).

Os surfactantes Energic®, Agral®, Gotafix®, Aterbane® BR e Fixade® podem ser classificados como moderadamente tóxicos (CL₅₀ entre 1 e 10 mgL⁻¹) e o Ag-Bem® como pouco tóxico (CL₅₀ entre 10 e 100 mgL⁻¹) (Zucker, 1985).

Para o Ag-Bem® nas concentrações 0,0 e 15,0 mgL⁻¹ não ocorreram mortalidades; em 18,0 mgL⁻¹ a mortalidade foi de 33,33%; em 21,0 e 24,0 mgL⁻¹, 46,67%; em 27,0 mgL⁻¹, 60,0%; e em 30,0 mgL⁻¹, 100,0%. Para os demais surfactantes a relação concentração-mortalidade está apresentada na figura 1. Nos controles de todos os testes de toxicidade de todos os surfactantes não foi observado mortalidade dos organismos teste.

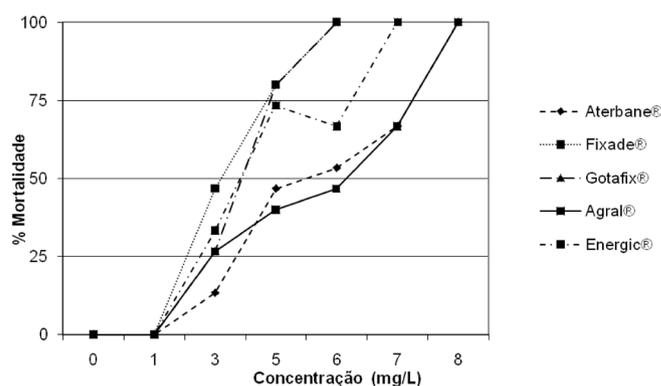


Figura 1 - Relação concentração-mortalidade durante os testes de toxicidade aguda dos cinco surfactantes.

As toxicidades dos surfactantes testados e de outros surfactantes encontrados na literatura estão apresentadas na tabela 2.

A toxicidade de surfactantes não iônicos pode estar relacionada com o comprimento da cadeia carbônica, sendo que estruturas moleculares com mais de 12 carbonos afetam com maior intensidade a permeabilidade da membrana plasmática (Talmage, 1994), ocorrendo assim, uma maior absorção do xenobiótico. Os surfactantes Energic® e o Agral® possuem 35 carbonos na sua estrutura molecular, podendo ser esse um dos motivos para explicar sua toxicidade.

A toxicidade dos surfactantes não-iônicos também poderia ser explicada por impedir a respiração celular, pois causam disfunção endócrina e lise celular das membranas epiteliais branquiais (McWilliams & Payne, 2001).

Tabela 1 - Toxicidade aguda dos surfactantes para o guaru.

	Surfactantes (mgL ⁻¹)					
	Agral®	Aterbane® BR	Gotafix®	Energic®	Fixade®	Ag-Bem®
LI	3,84	5,33	2,77	3,72	3,47	20,69
CL(I) ₅₀ ;96h	4,33	5,81	3,40	3,93	4,06	22,19
LS	4,90	6,36	4,17	4,14	4,76	23,80

LS = limite de superior; CL(I)₅₀;96h = concentração letal 50%; LI = limite inferior

Para os surfactantes iônicos, como o Aterbane® BR, a toxicidade pode ser atribuída a capacidade desses compostos de aumentar a permeabilidade de membrana, alterando as propriedades físicas da bicamada lipídica, permitindo a entrada de uma maior quantidade de íons (Pretti *et al.*, 2006). Além disso, segundo os mesmos autores, os surfactantes iônicos Ammoeng100® e Ammoeng130® causaram descamação epitelial e hipertrofia, hiperplasia; desorganização da lamela secundária e vacuolização citoplasmática, nas brânquias, levando o animal a morte.

Segundo Hofer *et al.* (1995) os surfactantes aniônicos causam hiperplasia epitelial, aumentando a distância interlamelar e dificultando a difusão do oxigênio, o que resulta em estresse respiratório e falha osmoregulatória. Assim, essa alteração pode ser um dos motivos para explicar a toxicidade do Ag-Bem®, Gotafix® e Fixade®.

Durante as avaliações em 0, 4, 24, 48, 72 e 96 horas após o início da exposição, os animais apresentaram agitação, perda da capacidade de arfagem, aumento do batimento opercular, natação errática e comportamento letárgico. Observou-se mortalidade durante todo o período experimental.

Segundo a FAO (1993) os sinais clínicos de intoxicação por surfactantes incluem: desordens respiratórias (aumento

da taxa respiratória e busca por oxigênio na superfície) e posteriormente inatividade.

De acordo com Lewis (1991) a alteração da frequência opercular é um dos efeitos de surfactantes aniônicos, pois esses compostos provocam acúmulo de muco na superfície do epitélio branquial, prejudicando a difusão dos gases.

O aumento do batimento opercular observado no guaru foi semelhante ao comportamento apresentado pela tainha (*Mugil platanus*) exposta à sulfobato alquilbezeno linear (LAS) (Barbieri, 2005).

A natação errática, a perda do equilíbrio e a diminuição de atividade também foi verificada em concentrações de 10 mgL⁻¹ de surfactantes iônicos (Pretti *et al.*, 2006) e o aumento da concentração do LAS-C12 também causou diminuição da capacidade de natação de *Cyprinus carpio* (Barbieri *et al.*, 2005).

Quanto à classificação do risco ambiental dos surfactantes, o Aterbane® BR, o Agral®, o Ag-Bem® e o Gotafix® podem ser considerados de risco com possibilidade efeito adverso (0,01 ≤ Q ≤ 10) e o Energic® e o Fixade® de risco com probabilidade efeito adverso (Q ≤ 10) para o guaru (Tabela 2).

O Agral®, o Aterbane® BR; o Ag-Bem® e o Gotafix® apresentaram o mesmo risco ambiental (0,1 ≤ Q ≤ 10) que

Tabela 2 - Toxicidade de surfactantes para várias espécies de peixes.

Surfactantes	CL ₅₀ ;96h (mgL ⁻¹)	Espécie	Referência
Agral®	4,33		
Aterbane® BR	5,81		
Gotafix®	3,40	<i>P. caudimaculatus</i>	Presente trabalho
Energic®	3,93		
Fixade®	4,06		
Ag-Bem®	22,19		
Corexit 9527	0,08		
LI700	210,0	<i>Lepomis macrochirus</i>	Singer <i>et al.</i> , 1994
LI700	130,0	<i>L. macrochirus</i>	Rubin, 1997
		<i>Oncorhynchus mykiss</i>	Rubin, 1997
		<i>O. mykiss</i> ;	
Agri-Dex®	> 1000		Rubin, 1997
		<i>L. macrochirus</i>	
Corexit 9527	14,30	<i>Macquaria novemaculeata</i>	Gulec & Holdway, 2000
Dodecil sulfato de sódio	24,90	<i>O. mykiss</i>	Buhl & Hamilton, 2000
Dodecil sulfato benzeno de sódio (SDBS)	33,61	<i>Salmo gairdneri</i>	Singh <i>et al.</i> , 2002
SDBS	40,15	<i>Gambusia affinis</i>	Singh <i>et al.</i> , 2002
SDBS	38,04	<i>Carassius auratus</i>	Singh <i>et al.</i> , 2002
Aterbane® BR	10,80	<i>Brachydanio rerio</i>	Dow Agrosience, 2006
Gotafix®	0,190	<i>B. rerio</i>	Dow Agrosience, 2006
Nonilfenol (NP)	0,14	<i>Pimephales promelas</i>	Teneyke & Markee, 2007

Tabela 3 - Avaliação de risco ambiental dos surfactantes baseada na concentração ambiental estimada (CAE).

Surfactantes	Dosagens utilizadas em campo	CAE (g/mL)	Q = CAE/CL ₅₀	Risco Ambiental
Agral®	30 mL 100L ⁻¹	6,0	1,34	Possibilidade de efeito adverso
Aterbane® BR	5 mL 100L ⁻¹	2,3	0,40	Possibilidade de efeito adverso
Ag-Bem®	50 mL 100L ⁻¹	6,5	0,30	Possibilidade de efeito adverso
Energic®	200 mL 100L ⁻¹	45,2	11,50	Probabilidade efeito adverso
Fixade®	200 mL 100L ⁻¹	180,0	44,33	Probabilidade efeito adverso
Gotafix®	60 mL 100L ⁻¹	7,5	2,21	Possibilidade de efeito adverso

o sabão e o LAS para vários organismos aquáticos (bactéria, crustáceo, inseto, peixe e anfíbios) (Van de Plassche *et al.*, 1997; Mungray & Kumar, 2008). Porém apresentaram menor risco ambiental que o álcool etoxilato (AE) e o álcool etoxilato sulfatado (AES) ($Q \leq 0,1$) para organismos aquáticos (Van de Plassche *et al.*, 1997).

No entanto, o Energic® e o Fixade® apresentaram maior risco ambiental ($Q > 10$) que o sabão, o LAS, o AE e o AES (Van de Plassche *et al.*, 1997; Mungray & Kumar, 2008).

Os surfactantes não causam alteração nas variáveis de qualidade de água. O Energic® e o Fixade® apresentam um maior risco ambiental que os demais surfactantes e o Ag-Bem foi o menos tóxico para *P. caudimaculatus*.

Agradecimentos: À Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP), Bolsa de Iniciação Científica do primeiro autor, proc nº: 2006/58459-5.

REFERÊNCIAS

- ABNT. Associação Brasileira de Normas Técnicas, 2004, NBR 15088: *Ecotoxicologia aquática – Toxicidade aguda – Método de ensaio com peixes*. São Paulo, 19p.
- BARBIERI, E., 2005, Efeito do LAS-C12 (dodecil benzeno sulfonato de sódio) sobre alguns parâmetros do comportamento da tainha (*Mugil platamus*), *Atlânt.*, Rio Grande, 27(1): 49-57.
- BUHL, K., HAMILTON, S., 2000, Acute toxicity to fire-control chemicals, nitrogenous chemicals, and surfactants to rainbow trout. *Trans. Amer. Fish. Soci.*, 129: 408-418. doi: 10.1577/1548-8659(2000)129<0408:ATOFCC>2.0.CO;2.
- CAIRNS, J. J., NIEDERLEHNER, B. R., BIDWELL, J. R., 1998, Ecological toxicity testing. IN: MEYERS, R. A. Encyclopedia of Environmental Analysis and Remediation, John Wiley e Sons, Inc., New York, 1560p.
- CASATTI, L., LANGEANI, F., CASTRO, R. M. C., 2001, Peixes de riacho do parque estadual Morro do Diabo, Bacia do Alto Rio Paraná, SP., *Biot. Neot.*, 1: 1-15.
- COLLA, L. M., COSTA, J. A. V., 2003, Obtenção e aplicação de biossurfactantes. *Vetor*, 13: 85-103.
- DOW AGROSCIENCE, 2006, *Ficha de Informação de Segurança de Produto Químico – FISPQ – ATERBANE® BR*, São Paulo, 1-8p.
- FAO, *Food and Agriculture Organization of the United Nations*, 1993. Svobodová, Z.; Lloyd, R.; Máchová, J.; Vykusová, B. Water quality and fish health. EIFAC Technical Paper, nº 54, Rome, p59.
- FOGELS, A. I., SPRAGUE, J. B., 1977, Comparative Short-Term Tolerance of Zebrafish, Flagfish, and Rainbow Trout to Five Poisons Including Potential Reference Toxicants. *Wat. Res.*, 11: 811-817. doi:10.1016/0043-1354(77)90052-5.
- GULLEC, I., HOLDWAY, D. A., 2000, Toxicity of crude oil and dispersed crude oil to ghost shrimp *Palaemon serenus* and larvae of Australian bass *Macquaria novemaculeata*., *Environ. Toxic.*, 15(2): 91-98.
- HAMILTON, M. A., RUSSO, R. C., THURSTON, V., 1997, Trimed Sperman-Karber method for estimating medial lethal concentrations in toxicology bioassays. *Environ. Scien. Technol.*, Iowa, 7: 714-719.
- HOFER, R., JENEY, Z., BUCHER, F., 1995, Chronic effects of linear alkylbenzene sulfonate (LAS) and ammonia on rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) fry at water criteria limits. *Water Res.*, New York, 29: 2725-9. doi: 10.1016/0043-1354(95)00143-9.
- IBAMA, 1987, *Avaliação da toxicidade aguda para peixes. Parte D. 3. Manual de testes para avaliação de ecotoxicidade de agentes químicos*, p. D.3.2., 01/09.
- LEWIS, M. A., 1991, Chronic and sublethal toxicities of surfactants to aquatic animals: a review and risk assessment. *Wat. Res.*, 25: 101-113. doi:10.1016/0043-1354(91)90105-Y.
- MACEK, J. K., KRZEMINSKI, S. F., 1975, Susceptibility of bluegill sunfish (*Lepomis macrochirus*) to nonionic surfactants. *Bullet. Environ. Contamin. & Toxic.*, 13(3): 377-384. doi: 10.1007/BF01685354.
- McWILLIAMS, P., PAYNE, G., 2001, Bioaccumulation potential of surfactants: a review. *Roy. Soci. Chem. & EOSCA*, Manchester, 2: 13.
- MUNGRAY, A. K., KUMAR, P., 2008, Occurrence of anionic surfactants in treated sewage: Risk assessment to aquatic environment. *J. Hazar. Mater.*, 160. doi:10.1016/j.jhazmat.2008.03.025.
- MURTY, A. S., 1988, *Toxicology of pesticide to fish*. Boca Raton, Editora: CRC Press., v.1, 129p.
- OAKES, D. J., POLLAK, J. K., 2000, The *in vitro* evaluation of toxicities of there realated herbicide formulation containing ester derivatives 2(4,5): 2,4 using sub mitochondrial particles. *Toxicol.*, Limerick, 151: 1-9. doi:10.1016/S0300-483X(00)00244-4.
- PRETTI, C., CHIAPPE, C., PIERACCINI, D., GREGORI, M., ABRAMO, F., MONNI, G., INTORRE, L., 2006, Acute toxicity of ionic liquids to the zebrafish (*Danio rerio*). *Green Chem.*, 8: 238-240. doi: 10.1039/B511554J.
- ROBERTS, D. W., MARSHALL, S. J., 1995, Application of hydrophobicity parameters to prediction of the acute aquatic toxicity of commercial surfactant mixtures. *SAR QSAR Environ. Res.*, 4: 167-176. doi: 10.1080/10629369508029914.
- ROCHA, A. J. S., GOMES, V., NGAN, P. V., PASSOS, M. J. A. C. R., FURIA, R. R., 2007, Effects of anionic surfactant and salinity on the bioenergetics of juveniles of *Centropomus parallelus* (Poey). *Ecotox. Envir. Saf.*, New York, 68: 397-404. doi:10.1016/j.ecoenv.2006.10.007.
- RUBIN, L., 1997, *Effects of surfactants on the toxicity of glyphosate, wit. spec. Refer. Rod.*, 28p.
- SINGER, M. M., GEORGE, S., JACOBSON, S., LEE, I., TJEERDEMA, R. S., SOWBY, M. L., 1994, Comparative Toxicity of Corexit® 7664 to the early life stages of four marine species. *Arch. Envir. Contam. Toxic.*, New York, 27: 130-136. doi: 10.1007/BF00203899.
- SINGER, M. M., GEORGE, S., JACOBSON, S., LEE, I., WEETMAN, L. L., TJEERDEMA, R. S.; SOWBY, M. L., 1995, Acute toxicity of the oil dispersant Corexit 9554 to marine organisms., *Ecotox. Envir. Saf.*, New York, 32: 81-86. doi:0147-6513/95.
- SINGH, R. P., GUPTA, N., SINGH, S., SINGH, A., SUMAN, R., ANNIE, K., 2002, Toxicity of ionic and non-ionic surfactants to six microbes found in Agra, India. *Bull. Envir. Contam. Toxicol.*, 69: 265-270. doi: 10.1007/s00128-002-0056-z.
- TALMAGE, S. S., 1994, Environmental and human safety of major surfactants: alcohol ethoxylates and alkylphenol ethoxylates. Lewis publishers, Boca Raton, FL, USA, 374p.
- TENEYKE, M. C., MARKEE, T. P., 2007, Toxicity of Nonylphenol, Nonylphenol Monoethoxylate, and Nonylphenol Diethoxylate and Mixtures of these Compounds to *Pimephales promelas* (Fathead Minnow) and *Ceriodaphnia dubia*. *Arch. Environ. Contam. Toxic.*, New York, 53: 599-606. doi: 10.1007/s00244-

- 006-0249-2.
- URBAN, D. J., COOK, N. J. 1986, *Hazard evaluation division – Standard evaluation procedure ecological risk assessment*, Washington, *USEPA Public.* 540/9: 86-001.
- VAN de PLASSCHE, E., BRUIJIN, J., BILTHOVEN, FEIJTEL, T., BEVER, S, 1997, Risk assessment of four major surfactants groups in the Netherlands. *Tenside Surfac. Deterg.*, 34: 40. doi: 35400006892955.0050.
- WAGNER E. D., MARENGO, M. S., PLEWA, M. J, 2003, Modulation of the mutagenicity of heterocyclic amines by organophosphate insecticides and their metabolites. *Mutation Res.*, 536: 103-115. doi:10.1016/S1383-5718(03)00037-8.
- WOLFF, L. L.; HRECIUK, E. R.; VIANA, D.; ZALESKI, T.; DONATTI, L. 2007, Population structure of *Phalloceros caudimaculatus* (Hensel, 1868) (Cyprinodontiformes, Poeciliidae) collected in a brook in Guarapuava, PR. *Braz. Arch. Biol. Tech.*, 50 (3): 417-423 doi: 10.1590/S1516-89132007000300008.
- ZUCKER, E, 1985, *Hazard Evaluation Division - Standard Evaluation Procedure - Acute Toxicity Test for Freshwater Fish.* *USEPA Publication*, 540/9- 85-006, Washington, 17p.