

Efeito da toxicidade aguda da gasolina em alevinos de acará bandeira (*Pterophyllum scalare*)

Natalino da Costa Sousa^{1*}

Ana Claudia Gaspar dos Santos²

Kleverton Félix Silva²

Rita de Cássia Divino Lima²

Robson Andrade Rosa²

Sandra Lima dos Santos²

Wellington Lima da Silva Junior²

Peterson Emmanuel Guimarães Paixão³

Márcia Valéria Silva do Couto¹

1. Doutores em aquicultura, Universidade Federal do Pará, Bragança-PA, Brasil.

2. Engenheiros de Pesca, Universidade Federal de Sergipe, Departamento de Pesca e Aquicultura. Aracaju-SE, Brasil.

3. Doutorando, Universidade Tiradentes, Programa de Pós-Graduação em Saúde e ambiente. Aracaju-SE, Brasil.

*Autor para correspondência: natal.engpesca@gmail.com

RESUMO

Os hidrocarbonetos policíclicos e monocíclicos, constituintes dos compostos derivados de petróleo, são as principais substâncias químicas responsáveis pela toxicidade dos combustíveis fósseis nos organismos aquáticos. Desta forma, o presente estudo objetivou determinar a concentração letal (CL_{50}) da gasolina em alevinos de acará bandeira (*Pterophyllum scalare*), avaliando-se a sobrevivência e as alterações comportamentais dos peixes. Para tanto, foram usados alevinos de *P. scalare* ($1,41 \pm 0,1$ cm e $0,039 \pm 0,001$ g) em ensaio de sensibilidade com substância referência (KCl) e para o teste definitivo. No qual, foi realizado um delineamento inteiramente casualizado com seis diluições de gasolina (0,05; 0,1; 0,15; 0,2; 0,25 e 0,3% v/v) e um controle, todos com três repetições com duração de 96 horas. Para determinar os valores da $CL_{(I)_{50}}$ foi utilizado o método de Trimmed Spearman Karber e classificado segundo a descrição proposta por Cesteb. A sensibilidade determinada para os alevinos de *P. scalare* foi de (CL_{50-96h}) $0,93 \text{ g.L}^{-1}$, já a concentração letal 50% (CL_{50-96h}) estimada para a gasolina foi de 0,14%, ao qual a diluição de 0,3% teve mortalidade de 100% antes de 24 horas de exposição. A gasolina é classificada como um xenobiótico muito tóxico, capaz de alterar o comportamento dos alevinos, no qual foram observadas natação errática, agitação, proximidade a superfície e batimento opercular rápido. Portanto, a gasolina representa um risco ao ambiente aquático decorrente da intoxicação dos organismos, causando alterações comportamentais e a mortalidade.

Palavras-chave: Gasolina, ecotoxicidade, acará bandeira, hidrocarbonetos.

Effect of Acute toxicity of gasoline on fry angelfish (*Pterophyllum scalare*)

ABSTRACT

Polycyclic and monocyclic hydrocarbons, constituents of petroleum compounds, stand out by its toxic action of fossil fuels for aquatic organisms. Thus, this study aimed to determine the lethal concentration (LC_{50}) of gasoline to *Pterophyllum scalare*, evaluating the survival and behavior of fish changes. For this, *P. scalare* fingerlings (1.41 ± 0.1 cm and 0.039 ± 0.001 g) were used in a reference substance sensitivity test (KCl) and for the definitive test. The experiment was carried out in a completely randomized design with six dilutions of gasoline (0.05, 0.1, 0.15, 0.2, 0.25 and 0.3% v/v) and a control, all with three repetitions lasting 96 hours. To determine the values of $CL_{(I)_{50}}$ the Trimmed Spearman Karber method was used and classified according to the description proposed by Cesteb. The sensitivity determined for *P. scalare* fingerlings was (LC_{50-96h}) 0.93 g.L^{-1} , whereas the estimated 50% (LC_{50-96h}) lethal concentration for gasoline was 0.14%, in which the dilution of 0, 3% had 100% mortality before 24 hours of exposure. Gasoline is classified as a very toxic xenobiotic, capable of changing the behavior of fingerlings, in which erratic swimming, agitation, proximity to the surface and rapid opercular beating were observed. Therefore, gasoline represents a risk to the aquatic environment resulting from the intoxication of organisms, causing behavioral changes and mortality.

Keywords: Gasoline; ecotoxicity; angelfish; hydrocarbons.

Introdução

Os derivados de petróleo são amplamente utilizados em veículos automotivos e até mesmo em embarcações. Com o aumento no consumo de derivados de petróleo, houve uma preocupação com o impacto ambiental decorrente dos frequentes vazamentos desses contaminantes no solo e nos corpos hídricos (SIMONATO et al., 2011; MACHADO; CUBAS, 2012).

Dentre os diversos derivados de petróleo, a gasolina é um dos mais utilizados, constituída de hidrocarbonetos poliaromáticos e monoaromáticos (Benzeno, tolueno, etilbenzeno e xileno – BTEX), compostos esses que apresentam alta toxicidade aos organismos aquáticos (SIMONATO et al., 2011; MACHADO; CUBAS, 2012; LEITE et al., 2015; BETTIM et al., 2016).

A toxicidade dos derivados de petróleo, para os organismos

aquáticos, está relacionada com a fração solúvel em água, que é composta por cadeias de hidrocarbonetos de baixo peso molecular que são liberados na água, como os BTEX, enxofre e nitrogênio (SILVA et al., 2009; EGRES et al., 2012; SIMONATO et al., 2013; LEITE et al., 2015). Essa fração solúvel em água da gasolina pode ocasionar efeitos mutagênicos e carcinogênicos nos organismos aquáticos em decorrência do seu poder intoxicante.

Para os peixes, a exposição aos derivados de petróleo pode ocasionar alterações teciduais, fisiológicas, hematológicas, genotxicológicas, comportamentais e até levar à mortalidade, como resposta do tempo de exposição e da sensibilidade (SIMONATO et al., 2013; FREITAS et al., 2013; LEITE et al., 2015).

O escape da gasolina durante o armazenamento e o transporte ou até mesmo em menores quantidades dos barcos motorizados (SIMONATO et al., 2011; ALCÂNTARA et al., 2015) constitui uma preocupação ambiental e um risco para as espécies aquáticas. Assim, os ensaios toxicológicos tornam-se de grande importância como ferramenta para avaliação do potencial tóxico desse xenobiótico sobre os organismos aquáticos (CARRASCHI et al., 2011).

No entanto, escassos são os estudos a respeito do efeito tóxico da gasolina sobre os peixes de água doce. Desta forma, o presente trabalho objetivou determinar a concentração letal (CL_{50}) da gasolina em alevinos de acará bandeira (*Pterophyllum scalare*), avaliando-se a sobrevivência e as alterações comportamentais dos peixes.

Material e Métodos

Os espécimes de *P. scalare* foram adquiridos da reprodução de um casal da variedade marmorato cultivados em laboratório e, após a larvicultura de 30 dias, foram utilizados para a realização dos bioensaios. A alimentação das larvas foi suspensa 24 horas antes do início dos testes, realizados no Laboratório de Aquicultura do Departamento de Pesca e Aquicultura da Universidade Federal de Sergipe.

Anteriormente aos ensaios definitivos, foram realizados testes de sensibilidade dos organismos, teste utilizando o cloreto de potássio (KCl), como substância referência. Para isso, foram testadas cinco concentrações de KCl (0,5; 0,75; 1,0; 1,25 e 1,5 $g.L^{-1}$) e um controle, todos com três repetições, contendo 15 peixes ($1,28 \pm 0,12$ cm e $0,041 \pm 0,002$ g) por tratamento. Após os testes de sensibilidade, foram realizados os testes preliminares para determinar as diluições de gasolina que causariam zero e 100% de mortalidade (IBAMA, 1987), definindo nesse intervalo a faixa utilizada no teste definitivo.

Para a realização do teste definitivo de toxicidade aguda foi utilizado um delineamento inteiramente casualizado com seis diluições de gasolina (0,05; 0,1; 0,15; 0,2; 0,25 e 0,3% v/v) e um controle, todos com três repetições contendo 15 peixes ($1,41 \pm 0,1$ cm e $0,039 \pm 0,001$ g) por tratamento. Os testes foram conduzidos em um sistema estático com duração de 96 horas, sendo avaliadas as alterações comportamentais e a mortalidade a cada hora, para a obtenção do CL_{50} . Diariamente foram monitorados o pH (YSI 60), a temperatura (YSI 60), o oxigênio dissolvido (YSI 550A), condutividade elétrica (YSI 30) e a amônia (Hanna HI 93715).

A determinação da concentração letal média ($CL(I)_{50-96h}$) foi realizada pelo método de Trimmed Spearman Karber (HAMILTON et al., 1977). Após a obtenção do CL_{50} , a gasolina foi classificada quanto a sua toxicidade de acordo com as classes descritas pela Cetesb (1987), a qual classifica os compostos xenobióticos em: muito tóxico (quando a CL_{50} é menor que 25%), tóxico (25 a 50%), moderadamente tóxico (51% a 75%), levemente tóxico (acima de 75%) e praticamente não tóxico (100%).

A avaliação do efeito das concentrações da gasolina na sobrevivência dos peixes foi determinada por meio de regressão linear (5%), utilizando o programa Biostat 5.1.

Resultados

Durante o período experimental os valores médios de oxigênio dissolvido foram de $6,21 \pm 0,34$ $mg.L^{-1}$, temperatura de $28,6 \pm 0,62^{\circ}C$, pH de $6,92 \pm 0,48$ e condutividade de $164 \pm 29,3$ $\mu S.cm^{-1}$ e amônia total de $0,32 \pm 0,02$ $mg.L^{-1}$.

A sensibilidade estimada para os alevinos de *P. scalare* no presente estudo foi de CL_{50-96h} $0,93$ $g.L^{-1}$ com limite inferior de $0,84$ $g.L^{-1}$ e limite superior de $1,04$ $g.L^{-1}$. Em relação à toxicidade aguda da gasolina, estimou-se uma concentração letal a 50% (CL_{50-96h}) de 0,14% com limite inferior de 0,12% e limite superior de 0,17%, sendo classificado como um xenobiótico muito tóxico.

Durante a exposição dos alevinos de *P. scalare* à gasolina, foi observada redução na taxa de sobrevivência com o aumento das diluições (figura 1), não apresentando mortalidades no controle nem na diluição 0,05% durante os ensaios. Entretanto, na diluição de 0,3% houve mortalidade de 100% em até 24 horas de exposição, período no qual as alterações comportamentais foram mais acentuadas (tabela 1).

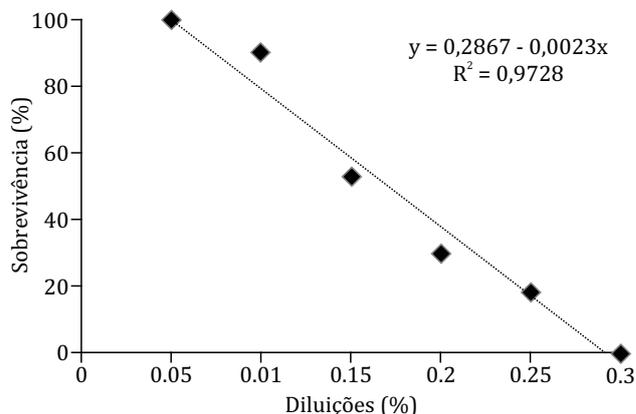


Figura 1. Regressão linear ($p=0,0001$) entre a sobrevivência (%) dos alevinos de *P. scalare* e as diluições (%) de gasolina durante 96 horas de exposição. / **Figure 1:** Linear regression ($p = 0,0001$) between the survival (%) of *P. scalare* fingerlings and the dilutions (%) of gasoline during 96 hours of exposure.

Tabela 1. Alterações comportamentais ocasionadas pela intoxicação das diluições (%) de gasolina em alevinos de *P. scalare*. / **Table 1.** Behavioral changes caused by intoxication of gasoline dilutions (%) in *P. scalare* fingerlings.

Alterações comportamentais	Tempo de Exposição (h)				
	0	24	48	72	96
Agitação	+	+	-	-	-
Batimento opercular rápido	+	+	-	-	-
Natação errática	+	+	+	+	-
Posicionamento na superfície	-	+	+	+	-
Letargia	-	+	+	+	-

(+) sinais de intoxicação (-) ausência dos sinais de intoxicação / (+) intoxication signs; (-) absence of intoxication signs.

Discussão

Os parâmetros de qualidade da água encontraram-se dentro das faixas de manutenção de cultivo para os alevinos de *P. scalare* e aos testes de toxicidade aguda (IBAMA, 1987; ABNT, 2004; PEREIRA et al., 2016), não sendo alterados pela gasolina no presente estudo.

Os testes de sensibilidades são ensaios que indicam a relação dose-resposta dos organismos aos xenobióticos no qual está exposto, sendo um critério para seleção de organismos a serem utilizados nos estudos ecotoxicológicos, entretanto, a sensibilidade é distinta entre as fases de desenvolvimento do organismo, sendo as fases iniciais as que apresentam maior sensibilidade (CRUZ et al., 2008; MAGALHAES; FILHO, 2008; FUJIMOTO et al., 2012).

Em estudos toxicológicos tem se observado que para embriões a dose-resposta é mais rápida, devido a sua maior sensibilidade, causando alterações na coluna vertebral, diminuição dos batimentos cardíacos, aumento do tempo de eclosão das larvas e mortalidade (HUANG et al., 2010; CARLSSON et al., 2013; LE BIHANIC et al., 2014). Já para as larvas, são observadas deformações craniofaciais, na mandíbula, curvaturas na coluna, alterações teciduais e mortalidade ao tempo de exposição ao xenobiótico (HUANG et al., 2010; RODRIGUES et al., 2010; LE BIHANIC et al., 2014).

Contudo, escassos são os estudos de toxicidade aguda dos derivados de petróleo aos peixes dulcícolas, quando comparados aos estudos de espécies marinhas (KATSUMITI et al., 2009; JIANG et al., 2010; RODRIGUES et al., 2010; AGAMY et al., 2012; HEDAYATI; JAHANBAKHSI, 2012; KHABAKHSHE et al., 2014). Porém, tem sido observada a toxicidade dos derivados de petróleo aos peixes de água doce, uma vez que esses organismos estão expostos a essa contaminação por meio de derrama-

mento de embarcações pesqueiras ou até mesmo por meio do descarte irregular desses compostos nos corpos hídricos (SILVA et al., 2014; MELO et al., 2016).

Em estudos realizados com *Rutilus caspicus* expostas a diferentes concentrações de gasolina, foi estimada uma $CL_{(50-96h)}$ $0,06 \pm 0,004\%$, nos quais houve 100% de mortalidade na maior concentração (0,10%) em menos de 24 horas (HEDAYATI et al., 2016). Já Belmejo e Matos (2008) observaram que a toxicidade da gasolina na concentração 0,01 a 0,001%, atingiu 100% de mortalidade na espécie *Xiphophorus helleri* em até 24 horas de exposição, com a concentração de 0,0001% de gasolina a mortalidade foi de 10% em 48 horas de exposição. Evidenciado assim, que os peixes de água doce estão sujeitos aos efeitos tóxicos dos derivados de petróleo.

A mortalidade das espécies de peixes exposta aos derivados de petróleo, como a gasolina, pode estar relacionada com a intoxicação dos hidrocarbonetos policíclicos (HPA) e aos BTEXs (benzeno, tolueno, etilbenzeno e xileno), como é o caso do benzeno que apresenta danos carcinogênicos aos organismos (RODRIGUES et al., 2010; SIMONATO et al., 2011; EDOKPOLO et al., 2015; BETTIM et al., 2016). Além disso, essa intoxicação é um risco aos organismos aquáticos, pois podem causar desequilíbrio homeostático resultando em alterações teciduais como hiperplasia, edema e necrose (RODRIGUES et al., 2010; JAHANBAKHSI; HEDAYATI, 2013; HESNI et al., 2013; LEITE et al., 2015), tornando-se fatores prejudiciais aos organismos aquáticos ocasionando a mortalidade decorrente da exposição aos xenobióticos.

O estresse ocasionado aos peixes em exposição aos xenobióticos pode ser observado pelas alterações comportamentais, sendo estas respostas rápidas e bruscas do organismo à intoxicação do poluente no qual está sendo submetido (CARRASCHI et al., 2011; VIRGENS et al., 2015). No presente estudo os alevinos de *P. scalare* apresentaram alterações comportamentais decorrente da intoxicação ocasionada pela gasolina, observando agitação, natação errática e aumento do batimento opercular logo que adicionado o produto na água.

Essas alterações comportamentais são decorrentes da intoxicação causada pela gasolina, que pode causar alterações bioquímicas, teciduais e fisiológicas ao organismo (RODRIGUES et al., 2010; CARRASCHI et al., 2012; VIRGENS et al., 2015; LEITE et al., 2015). Em estudos de Simonato et al. (2011) com *Prochilodus lineatus* expostos a fração solúvel em água da gasolina foram evidenciadas alterações bioquímicas, com aumento da enzima EROD (7-etóxioreofina-O-desalquilase) no fígado ($28 \pm 3,00$ pmol resorufin.min⁻¹.mg ptn⁻¹) em relação aos peixes do controle ($12 \pm 2,00$ pmol resorufin.min⁻¹.mg ptn⁻¹) durante as 24 horas de exposição. Essas alterações são possíveis adaptações que os animais desenvolvem para sobreviver à intoxicação, que a depender da concentração de produto ou tempo de exposição do animal pode ocasionar a mortalidade dos peixes.

Conclusão

A gasolina representa um risco ao ambiente dulcícola por se tratar de um xenobiótico muito tóxico, capaz de ocasionar alterações comportamentais e a mortalidade dos organismos sensíveis em até 24 horas de exposição. Assim, medidas socioeducativas devem ser adotadas para o descarte deste químico aos corpos hídricos.

Referências Bibliográficas

- ABNT - Associação Brasileira de Normas Técnicas. NBR 15088: **Ecotoxicologia aquática - Toxicidade aguda - Método de ensaio com peixes**. São Paulo, 19p, 2004.
- AGAMY, E. Histopathological liver alterations in juvenile rabbit fish (*Siganus canaliculatus*) exposed to light Arabian crude oil, dispersed oil and dispersant. *Ecotoxicology and environmental safety*, v. 75, p. 171-179, 2012.
- ALCÂNTARA, N. C.; GONÇALVES, G. S.; BRAGA, T. M. P.; DOS SANTOS, S. M.; ARAÚJO, R. L.; PANTOJA-LIMA, J.; DE OLIVEIRA, A.T. Avaliação do desembarque pesqueiro (2009-2010) no município de Juruá, Amazonas, Brasil. *Biota Amazônia (Biote Amazonie, Biota Amazonia, Amazonian Biota)*, v. 5, n. 1, p. 37-42, 2015.
- BELMEJO, L.; MARTOS, H. L. Utilização de *Xiphophorus helleri* como bioindicador de poluição

- hídrica de derivados de petróleo em condições tropicais. *Revista Eletrônica de Biologia (REB)*, v. 1, n. 2, p. 1-17, 2008.
- BETTIM, F. L.; GALVAN, G. L.; CESTARI, M. M.; YAMAMOTO, C. I.; DE ASSIS, H.C.S. Biochemical responses in freshwater fish after exposure to water-soluble fraction of gasoline. *Chemosphere*, v. 144, p. 1467-1474, 2016.
- CARLSSON, G.; PATRING, J.; KREUGER, J.; NORRGREN, L.; OSKARSSON, A. Toxicity of 15 veterinary pharmaceuticals in zebrafish (*Danio rerio*) embryos. *Aquatic toxicology*, v. 126, p. 30-41, 2013.
- CARRASCHI, S. P.; CUBO, P.; SCHIAVETTI, B. L.; SHIOGIRI, N. S.; DA CRUZ, C.; PITELLI, R. A. Efeitos tóxicos de surfactantes fitossanitários para o peixe mato grosso (*Hypphessobrycon eques*). *Acta Scientiarum. Biological Sciences*, v. 33, n. 2, p. 191-196, 2011.
- CARRASCHI, S. P.; LUINA, L. A. V.; NETO, A. N.; GÍRIO, A. C. F.; CRUZ, C.; PITELLI, R. A. Toxicidade aguda e risco ambiental de surfactantes agrícolas para o guará *Phalacrocer caudimaculatus* (Pices: Poecilidae). *Journal of the Brazilian Society Ecotoxicology*, v. 7, n. 1, p. 28-32, 2012.
- CETESB - Companhia Estadual de Tecnologia de Saneamento Básico e Defesa do Meio Ambiente. **Aplicação de microrganismos e culturas celulares na avaliação da toxicidade de efluentes industriais na região da grande São Paulo**. São Paulo: Cetesb, 146p. 1987.
- CRUZ, C.; CUBO, P.; GOMES, G. R.; VENTURINI, F. P.; GUILHERME, P. E.; PITELLI, R. A. Sensibilidade de peixes neotropicais ao dicromato de potássio. *Journal of the Brazilian Society of Ecotoxicology*, v. 3, n. 1, p. 53-55, 2008.
- CUBAS, A. L. V.; MACHADO, M. M. Decomposição de compostos orgânicos voláteis oriundos de postos de gasolina por plasma de descarga corona. *Revista Gestão & Sustentabilidade Ambiental*, v. 1, n. 1, p. 6-18, 2012.
- EDOKPOLO, B.; YU, Q. J.; CONNELL, D. Health risk assessment for exposure to benzene in petroleum refinery environments. *International journal of environmental research and public health*, v. 12, n. 1, p. 595-610, 2015.
- EGRES, A. G.; MARTINS, C. C.; DE OLIVEIRA, V. M.; DA CUNHA LANA, P. Effects of an experimental in situ diesel oil spill on the benthic community of unvegetated tidal flats in a subtropical estuary (Paranaguá Bay, Brazil). *Marine pollution bulletin*, v. 64, n. 12, p. 2681-2691, 2012.
- FREITAS, R. A.; CORREIA, K. D. M.; TAVARES, M. G. D. O.; OLIVEIRA, G. M. C.; CINTRA, A.; RICIOLE, H.; ANTONIOSI FILHO, N. R. Avaliação das brânquias de *Danio rerio* expostos a diferentes concentrações de gasolina e diesel. *Pesticidas: Revista de ecotoxicologia e meio ambiente*, v. 23, p. 59-66, 2013.
- FUJIMOTO, R. Y.; GABBAY, M. I.; ANJOS, E. C. S.; CARRASCHI, S. P.; CRUZ, C. Toxicidade e risco ambiental da oxitetraciclina e efeito em leucócitos de mato grosso (*Hypphessobrycon eques*). *Ecotoxicology and Environmental Contamination*, v. 7, n. 2, p. 11-15, 2012.
- HAMILTON, M. A.; RUSSO, R. C.; THURSTON, R. V. Trimmed spearman-kärber method for estimating median lethal concentrations in toxicity bioassays. *Environmental Science & Technology*, v. 11, n. 7, p. 714-719, 1977.
- HEDAYATI, A.; JAHANBAKHSI, A. Hematotoxic effects of direct infusion of crude diesel oil on juvenile great sturgeon *Huso huso*. *Comparative Clinical Pathology*, v. 22, n. 6, p. 1117-1122, 2013.
- HEDAYATI, A.; JAHANBAKHSI, A. The effect of water-soluble fraction of diesel oil on some hematological indices in the great sturgeon *Huso huso*. *Fish physiology and biochemistry*, v. 38, n. 6, p. 1753-1758, 2012.
- HEDAYATI, A.; DARABITABAR, F.; BAGHERI, T.; MORADZADEH, M.; JAFARI, O. Effect of Lethal Concentration of Commercial Gasoline on Caspian Roach (*Rutilus caspicus*). *Avicenna Journal of Environmental Health Engineering*, v. 3, n. 1, p. 1-5, 2016.
- HESNI, M. A.; SAVARI, A.; DADOLAH, A.; MORTAZAVI, M. S. Gill histopathological alterations of milkfish (*Chanos chanos*) in acute toxicity of diesel oil. *Middle-East Journal of Scientific Research*, v. 13, n. 7, p. 870-875, 2013.
- HUANG, H.; HUANG, C.; WANG, L.; YE, X.; BAI, C.; SIMONICH, M. T.; DONG, Q. Toxicity, uptake kinetics and behavior assessment in zebrafish embryos following exposure to perfluorooctanesulphonic acid (PFOS). *Aquatic Toxicology*, v. 98, n. 2, p. 139-147, 2010.
- IBAMA. **Avaliação da toxicidade aguda para peixes. Parte d.3. Manual de testes para avaliação de ecotoxicidade de agentes químicos**. Brasília-DF, 23p. 1987.
- JIANG, Z.; HUANG, Y.; XU, X.; LIAO, Y.; SHOU, L.; LIU, J.; ZENG, J. Advance in the toxic effects of petroleum water accommodated fraction on marine plankton. *Acta Ecologica Sinica*, v. 30, n. 1, p. 8-15, 2010.
- KATSUMITI, A.; VALDEZ DOMINGOS, F. X.; AZEVEDO, M.; DA SILVA, M. D.; DAMIAN, R. C.; ALMEIDA, M. I. M.; SILVA DE ASSIS, H. C.; CESTARI, M. M.; RANDI, M. A. F.; OLIVEIRA RIBEIRO, C. A.; FREIRE, C. A. An assessment of acute biomarker responses in the demersal catfish *Cathorops spixii* after the vicuña oil spill in a harbour estuarine area in southern Brazil. *Environmental Monitoring and Assessment*, v. 152, n. 1, p. 209-222, 2009.
- Khabaksh, E.; Jamili, S.H.; Motalebi, A. Mashinchian Moradi, A. & Nasrolahzade Saravi, H. (2014). Histopathological effects of water soluble? fraction of crude oil on liver tissue of fingerling beluga, *Huso huso* Linnaeus, 1754. *Caspian Journal of Environmental Sciences*, 12(1): 63-72.
- LE BIHANIC, F.; CLÉRANDÉAU, C.; LE MENACH, K.; MORIN, B.; BUDZINSKI, H.; COUSIN, X.; CACHOT, J. Developmental toxicity of PAH mixtures in fish early life stages. Part II: adverse effects in Japanese medaka. *Environmental Science and Pollution Research*, v. 21, n. 24, p. 13732-13743, 2014.
- LEITE, M. B. N. L.; DA CRUZ, A. L.; RODRIGUES, L. E. A.; YAMASHITA, S. R.; CARQUEIJA, C. R. G.; NASCIMENTO, I. A. Comparing the toxicity of water-soluble fractions of biodiesel, diesel and 5% biodiesel/diesel blend on oreochromis niloticus using histological biomarkers. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*, v. 95, n. 5, p. 574-581, 2015.
- MAGALHAES, D. P.; FILHO, A. F. A ecotoxicologia como ferramenta no biomonitoramento de ecossistemas aquáticos. *Oecologia brasiliensis*, v. 12, n. 3, p. 356-381, 2008.
- MELO, R. A.; CARVALHO, J. B.; DINIZ, S. H. S.; BRITO, E. P. O descarte dos resíduos de óleo lubrificante utilizados por embarcações pesqueiras de Santarém (Pará, Brasil). *Revista Brasileira de Engenharia de Pesca*, v. 9, n. 1, p. 57-64, 2016.
- PEREIRA, S. L.; GONCALVES-JUNIOR, L. P.; AZEVEDO, R. V. D.; MATIELO, M. D.; SELVATICI, P. D. C.; AMORIM, I. R.; MENDONÇA, P. P. Different feeding strategies on larval rearing of angelfish (*Pterophyllum scalare*, Cichlidae). *Acta Amazonica*, v. 46, n. 1, p. 91-98, 2016.
- RODRIGUES, R. V.; MIRANDA-FILHO, K. C.; GUSMÃO, E. P.; MOREIRA, C. B.; ROMANO, L. A. SAMPALHO, L. A. Deleterious effects of water-soluble fraction of petroleum, diesel and gasoline on marine pejerrey *Odontesthes argentinensis* larvae. *Science of the Total Environment*, v. 408, n. 9, p. 2054-2059, 2010.
- SILVA, F. L. D. N.; SANTOS JR, J. R. D.; MOITA NETO, J. M.; SILVA, R. L. G.; FLUMIGNAN, D. L.; OLIVEIRA, J. E. D. Determinação de benzeno, tolueno, etilbenzeno e xileno em gasolina comercializada nos postos do estado do Piauí. *Química Nova*, v. 32, n. 1, p. 56-60, 2009.
- SILVA, M. A.; RIBEIRO, S. N.; CRISPIM, D. L.; DE ANDRADE SOBRINHO, L. G.; DE FARIAS, C. A. S. Avaliação do gerenciamento de resíduos de óleos lubrificantes e suas embalagens em oficinas mecânicas da cidade de pomal-Pb, Brasil. *Revista Verde de Agroecologia e Desenvolvimento Sustentável*, v. 9, n. 4, p. 53-58, 2014.
- SIMONATO, J. D.; FERNANDES, M. N.; MARTINEZ, C. B. Gasoline effects on biotransformation and antioxidant defenses of the freshwater fish *Prochilodus lineatus*. *Ecotoxicology*, v. 20, n. 6, p. 1400-1410, 2011.
- SIMONATO, J. D.; FERNANDES, M. N.; MARTINEZ, C. B. Physiological effects of gasoline on the freshwater fish *Prochilodus lineatus* (characiformes: prochilodontidae). *Neotropical Ichthyology*, v. 11, n. 3, p. 683-691, 2013.
- VIRGENS, A. C.; CASTRO, R. L.; CRUZ, Z. M. A. Alterações histológicas em brânquias de *Oreochromis niloticus* (Tilapia-do-Nilo) expostas o Acefato, Difenoconazol e Sulfuramida. *Natureza on line*, v. 13, n. 1, p. 26-31, 2015.