

O sulfato de cobre como agente tóxico

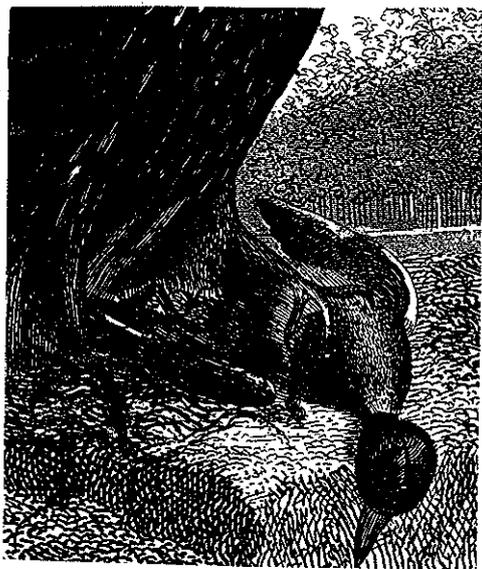
Murilo Damato *
Zuleika Beyruth **
José Luiz Negrão Mucci **
Cláudia Dornelles de Alvarenga **
Aristides Almeida Rocha ***

RESUMO Através de bioensaios conduzidos nos laboratórios do Departamento de Saúde Ambiental da Faculdade de Saúde Pública da Universidade de São Paulo, verificou-se a toxicidade aguda do sulfato de cobre sobre *Poecilia reticulata* em teste estático, em água com temperatura, dureza e alcalinidade semelhantes às encontradas nos corpos d'água do Estado de São Paulo. Os valores encontrados foram: CL 50,24h — 0,134 mg/L de CuSO_4 ; CL 50,48h — 0,096 mg/L de CuSO_4 ; CL 50,72h — 0,087 mg/L de CuSO_4 ; CL 50,96h — 0,080 mg/L de CuSO_4 . **Palavras-chave:** sulfato de cobre, teste de toxicidade, *Poecilia reticulata*, bioensaios.

ABSTRACT The acute toxicity of copper sulphide to *Poecilia reticulata* was studied through static toxicity tests carried out in the laboratories of the Department of Environmental Health, of the Public Health Faculty, University of São Paulo.

The temperature, hardness and alkalinity of the water used in the tests were similar to those of natural waters of the State of São Paulo. The results were: 24h-LC50 — 0,134 mg/L de CuSO_4 ; 48h-LC50 — 0,096 mg/L de CuSO_4 ; 72h-LC50 — 0,087 mg/L de CuSO_4 ; 96-LC50 — 0,080 mg/L de CuSO_4 . **Key words:** copper sulphide, toxicity test. *Poecilia reticulata*, bioassay.

A presença de substâncias tóxicas, ou potencialmente tóxicas na água, impede ou dificulta seus múltiplos usos. Entre as substâncias mais nocivas aos seres vivos estão os metais pesados. O cobre é um destes metais, e apresenta importância por ser amplamente utilizado na agricultura e no controle de pragas, podendo, desta forma, interferir nos ecossistemas aquáticos.



O óxido e o sulfato de cobre têm ação inseticida, algicida, fungicida e herbicida, sendo também usados no controle e combate ao verme *Schistosoma* sp e respectivo hospedeiro, em lagos recreacionais e em reservatórios destinados ao abastecimento. É também comum seu uso para a destruição de fungos e larvas de insetos em plantações, podendo ser carregados pelas chuvas ou introduzidos diretamente em lagos e rios durante a lavagem dos aparelhos de sulfatação (Doudoroff & Katz, 1953).

Como algicida, é empregado em concentração de 0,3mg/l de sulfato de cobre em águas com alcalinidade inferior a 50mg/l de carbonato de cálcio, e quando a alcalinidade é superior a 50mg/l de carbonato de cálcio, aplica-se 2,0mg/l de sulfato de cobre. Esta concentração é calculada em função de uma faixa de 30cm a partir da superfície, o que corresponde a aproximadamente 0,6g/m², segundo Branco (1986). Hobbs & Hall (In: Hart & Fuller, 1974) citam referências que recomendam doses de 0,3mg/l em água mole e de 1,0mg/l em água dura, quando utilizado como algicida.

(*) Professor do Dep. de Eng. Sanitária da Escola Mauá. (**) Biólogo do Dep. de Saúde Ambiental da FSP/USP. (***) Professor Associado do Dep. de Saúde Ambiental da FSP/USP.

No controle de *Schistosoma* sp utilizam-se aplicações repetidas de sulfato de cobre, pois ele não é efetivo no controle de ovos nas concentrações utilizadas para o controle dos adultos.

Apesar de o cobre ter toxicidade relativamente baixa para o homem, são necessárias doses acima de 20 a 100mg/l de cobre para causar intoxicação no homem ou em animais domésticos — Branco (1986) — sua toxicidade potencial para peixes, bem como para outros organismos aquáticos, é alta, como ressalta Jones (1964) Entre os metais pesados, Doudoroff & Katz (1953) apresentam a seguinte ordem decrescente de toxicidade: Hg, Cu, Zn, Cd, Sn, Al, Ni, Fe + + +, Ba, Mn, K, Ca, Mg e Na, em relação à sensibilidade apresentada pelos peixes. Segundo Batalha & Parlato, 1977 (apud SEMA, 1980), a toxicidade do cobre sobre a vida aquática estende-se desde as bactérias até os peixes.

A água pode tornar-se impalatável quando a concentração de cobre for superior a 5mg/l (Branco, 1986).

Os efeitos da adição de sulfato de cobre ao meio, observados através de bioensaios com organismos aquáticos, mostram que os sintomas apresentados e as doses necessárias à manifestação desses sintomas diferem de táxon para táxon.

Pereira (1978) usando concentrações de 0,1 e de 0,2mg/l de CuSO_4 , em culturas mistas de algas, encontrou redução no número de organismos por litro, para *Microcystis flos-aquae*, *Nitzschia* sp, *Synedra* sp e *chlamydomonas* sp. A propósito, Branco (1986) afirma que *Synura* sp e algas azuis do gênero *Microcystis* sp são muito mais sensíveis do que inúmeros flagelados ou que certas diatomáceas, como *Achnanthes* sp.

Shiff & Garnett (1961) trabalhando com sulfato de cobre e seus efeitos sobre a microflora e microfauna de tanques biologicamente estáveis, utilizando concentração de 20mg/l, relatam que anfíbios e *Potamon* sp — um crustáceo decápodo — não foram mortos. Entretanto, esse composto causou severa redução na densidade de camalotes de *Chara* sp. Em cladóceros e em larvas aquáticas de insetos, o mesmo composto causou 100% de mortalidade no décimo primeiro dia do experimento. Copépodos e seus náplios apresentam redução drástica após o décimo primeiro dia e ostrácodos tiveram seu desenvolvimento retardado durante o tratamento.

Furmanska (1979) notou que crustáceos são mais sensíveis que moluscos e peixes à ação do sulfato de cobre. Brinkhurst & Cook (in Hart & Fuller, 1974) afirmam que oligoquetos são pouco tolerantes a fons de metais pesados.

Kenk (in Hart & Fuller, 1974) relata que Kawakatsu & Itu (1963) não encontraram planárias em locais poluídos pela descarga de uma mina de cobre, abandonada, no Japão, apesar delas ocorrerem regularmente em corpos d'água não poluídos das proximidades. Sawyer (in Hart & Fuller, 1974) afirma que em laboratório a CL 100 de sulfato de cobre variou de 1 a 20mg/l conforme a espécie de hirudíneo analisada, porém, no campo, esse composto foi ineficaz no controle de hirudíneos; mesmo em concentrações de até 200mg/l, Hobbs & Hall (in Hart & Fuller, 1974) encontraram para 'crayfish' (decápodo) adulto, CL 50,96h de 30mg/l de CuSO_4 e para recém eclodidos, CL50 de 1,0mg/l em menos de duas horas. Já Harman (in Hart & Fuller, 1974), em teste de toxicidade de 96h com *Physa heterostrophia* (molusco), encontrou uma CL 50 de 0,069mg/l de cobre em água com dureza de 100mg/l de CaCO_3 .

Doudoroff & Katz (1953) concluem que na maioria

das águas doces naturais dos EUA, concentrações de sulfato de cobre de 0,25mg/l, em Cu, não são rapidamente fatais para a maioria das espécies comuns de peixes, e Jones (1964) afirma que as concentrações limitantes para vários peixes dadas por muitos autores cobrem a faixa surpreendente de 0,02 a 200,00mg/l.

A amplitude desses limites provavelmente deve-se às variações na composição química e às condições do corpo d'água (Branco, 1986). Assim, não é possível estabelecer valores muito positivos e constantes para esses limites, uma vez que a intoxicação dos peixes pelo cobre varia em função de muitos fatores, tais como a dureza das águas, sua alcalinidade, pH, composição química, temperatura, presença de outros metais pesados, turbulência e presença de argila e de ácidos húmicos.

Doudoroff & Katz (1953) observaram que em águas moles, com pH 6,0 concentrações de 0,1 a 0,8mg/l de $\text{CuSO}_4 \cdot 5 \text{H}_2\text{O}$, têm sido registradas como sendo desde toleráveis até danosas para as várias espécies de peixes nessas condições.

O sulfato de cobre é altamente solúvel, porém em certas condições de maior dureza e alcalinidade da água, é rapidamente precipitado sob a forma de compostos insolúveis que se depositam no sedimento do corpo d'água. Por estas razões, a dosagem efetiva na natureza pode atingir a valores tão mais altos que os obtidos em testes de laboratório.

Em águas naturais, a quantidade de matéria orgânica presente no sedimento e a natureza dos minerais argilosos presentes na fração coloidal vão determinar a quantidade de $\text{CuSO}_4 \cdot 5 \text{H}_2\text{O}$ removida da solução pelo material do fundo (Riemer & Toth, 1970). Esses autores relatam que os altos teores de calcário podem afetar a concentração de cobre na solução. Os ácidos húmicos diminuem a toxicidade aguda e a crônica do cobre, pela formação de precipitados, sendo que a ação do precipitado pode causar algum efeito deletério sobre os organismos bentônicos. Mas não há indícios que esclareçam a ação desses precipitados nesses organismos.

Soluções-teste feitas com água mole foram tóxicas para *Salmo gairdneri* a 0,06 ppm de Cu, enquanto que em água muito dura houve acentuada redução de toxicidade, para 0,6 ppm (Jones, 1964). A turbulência da água é outro fator que exerce efeito significativo sobre a toxicidade de substâncias que agem por meio de processos físico-químicos, como os metais pesados, os quais, pela coagulação do muco das brânquias dos peixes, provocam asfixia (Branco, 1960). Em gastrópodes testou-se a variação da toxicidade do sulfato de cobre, demonstrando-se que o efeito é altamente acentuado com o aumento da temperatura da água (Muirhead-Thompson, 1971).

A espécie utilizada no presente trabalho foi *Poecilia reticulata*, escolhida por se tratar de um organismo amplamente utilizado em âmbito internacional, satisfazendo a todos os requisitos necessários aos testes de toxicidade.

Apesar de não ser nativa do território brasileiro, *Poecilia reticulata*, foi introduzida há muito, sendo encontrada em águas com baixo teor de carbonatos e bicarbonatos. Segundo Rosen & Bailey (1963), esses animais são nativos das Antilhas Holandesas, Barbados, Venezuela e Guiana Inglesa, mas sua distribuição mundial ocorreu pela ação do aquarismo, havendo grandes estoques adaptados no Brasil, especialmente em São Paulo, bem como na Costa Rica, Itália, Madagascar, México e África Ocidental.

Objetivo

Tendo em vista os vários usos de compostos químicos nos quais a presença do cobre é uma constante, este trabalho tem como objetivo determinar as concentrações de toxicidade aguda de sulfato de cobre em 24, 48, 72 e 96 horas de exposição de *Poecilia reticulata* a sulfato de cobre penta-hidratado.

Materiais e Métodos

Os animais utilizados foram capturados no lago da Reserva Ecológica da Cidade Universitária Armando de Salles Oliveira e o experimento foi realizado no Laboratório de Hidrobiologia Sanitária do Departamento de Saúde Ambiental da Faculdade de Saúde Pública da Universidade de São Paulo. Levou-se em conta, na realização deste teste, as condições mais comumente encontradas nos corpos d'água do Estado de São Paulo, quanto à dureza, alcalinidade e temperatura da água, conforme Capocchi (1964) e Cetesb (1984).

Foram testados um total de 160 espécimes na fase adulta, sendo 80 no teste preliminar e 80 no teste definitivo. O tamanho médio dos animais no teste preliminar foi de $18,26 \pm 2,08$ mm e, no teste definitivo, de $17,48 \pm 3,59$ mm. O peso médio foi de $0,11 \pm 0,01$ g para as duas fases.

Os peixes foram aclimatados durante 10 dias e alimentados com ração para peixes tropicais, suprimida 48 horas antes do início dos testes, conforme recomendação da APHA (1980).

O agente tóxico utilizado foi o sulfato de cobre penta-hidratado pré-análise da Merck, um algicida. Para a diluição das concentrações dos testes foi preparada uma solução-estoque de 1 mg/L do referido agente tóxico, no teste preliminar, e de 0,1 mg/L no teste definitivo (APHA, 1980).

A mortalidade, bem como os parâmetros físico-químicos: pH, temperatura e oxigênio dissolvido foram registrados a 0, 2, 4, 6, 8, 12 e 24 horas nos testes preliminares, e nos mesmos períodos acrescidos de 48, 72 e 96 horas nos testes definitivos.

No teste preliminar a temperatura foi de $28,0 \pm 1,0^\circ$ C, o pH de $6,8 \pm 0,3$, o teor de oxigênio dissolvido foi de $6,1 \pm 0,2$ mg/L de O_2 .

No teste definitivo a temperatura foi de $27,0 \pm 2,0^\circ$ C, o pH foi de $6,7 \pm 0,2$ e o teor de oxigênio dissolvido foi de $6,3 \pm 0,1$ mg/L de O_2 .

A alcalinidade e a dureza foram registradas no início e no fim do experimento, variando a primeira entre 10 e 12 mg/L $CaCO_3$ e a última entre 10 e 11 mg/L de $CaCO_3$. Estes valores foram os mesmos tanto no teste preliminar quanto no definitivo.

Para se evitar uma diminuição brusca do agente tóxico no meio, devido à absorção do mesmo pelos peixes, utilizou-se a relação entre a biomassa de peixes e volume de solução-teste. Para *Poecilia reticulata*, a APHA (1980) sugere a relação 0,1 g de peixe por litro de solução-teste, utilizada neste teste.

Cada série foi dividida em sete concentrações diferentes, além de um controle. Para a avaliação biométrica, os animais foram imediatamente fixados em formalina 10%.

A análise dos dados foi feita utilizando-se o método nomográfico de Litchfield & Wilcoxon (1949).

Resultados e Discussão

Os testes de toxicidade aguda do sulfato de cobre em *Poecilia reticulata* foram realizados em duas fases, a preliminar e a definitiva. Na fase preliminar as concentrações situaram-se entre 0,32 e 2,40 mg/L. Durante 24h os animais foram expostos ao sulfato de cobre e a mortalidade observada em todas as concentrações foi de 100%. Os peixes submetidos às maiores concentrações frequentemente vinham à tona respirar no filme de tensão superficial da água, apesar do teor de oxigênio dissolvido ter-se mantido superior ou igual a 60% da saturação. Segundo Delavechia (1981), o sulfato de cobre é responsável pelo colapso branquial dos peixes. A mortalidade no controle foi nula e nenhum dos espécimes apresentou comportamento irregular.

O teste definitivo foi realizado com concentrações variando entre 0,056 e 0,320 mg/L (Tabela 1).

Utilizando-se o método de Litchfield & Wilcoxon (1949) calculou-se os valores da CL50 para *Poecilia reticulata* em teste definitivo. Estes valores para períodos de exposição de 24, 48, 72 e 96 horas foram respectivamente 0,134, 0,096, 0,087 e 0,080 mg/L (Tabela 2).

Sprague (1969), cita Rothschein (1964) que assume a relação linear como típica para intervalos intermediários de toxicidade com peixes. Dos resultados obtidos, nota-se que houve uma pequena variação na CL50 dos períodos mais altos de exposição, isto é, de 72 para 96h, o que sugere que se o tempo de exposição fosse aumentado, poderia ter ocorrido uma letalidade adicional. Porém, como esta variação foi pequena, pode-se esperar que num período de exposição um pouco mais longo, já se obtivesse a CL50 assintótica, na qual a toxicidade aguda cessaria, iniciando-se a toxicidade crônica. Segundo o Relatório Cetesb n. 3, na determinação da toxicidade aguda do sulfato de cobre ($CuSO_4 \cdot 5H_2O$) para *Poecilia reticulata* em teste de fluxo contínuo, realizado a temperatura de $23,5 \pm 1,0^\circ$ C, a CL50,96h encontrada foi de 0,31 mg/L. No mesmo trabalho, recomenda-se que os testes deveriam ter maior duração, a fim de que fosse determinada, através da CL50, a toxicidade aguda do sulfato de cobre, no tempo de exposição realmente necessário.

A variação do comprimento dos organismos foi compatível com a recomendação da APHA (1980), sendo esta variação menor que 50%.

O teor de oxigênio dissolvido manteve-se sempre acima de 60% da saturação e a temperatura variou 2° C.

Para comparar os resultados obtidos, utilizou-se bibliografia que relaciona trabalhos com testes estáticos realizados conforme a metodologia seguida neste teste.

Pode-se observar que os resultados ora obtidos, não diferiram muito da maioria dos resultados obtidos por outros autores para água mole. Pickering & Henderson (1966) expuseram *Lepomis macrochirus*, *Carassius auratus*, *Poecilia reticulata* e *Pimephales promelas* a sulfato de cobre a períodos de exposição de 24, 48 e 96 h a uma temperatura de $25,0^\circ$ C. Pode-se observar que, para um período de 24h, *Pimephales promelas* e *Carassius auratus* mostraram-se ligeiramente mais sensíveis que a espécie aqui estudada. Para *Poecilia reticulata*, os resultados obtidos pelos mesmos autores, quanto à sensibilidade ao agente tóxico, foram semelhantes aos obtidos neste teste. *Lepomis macrochirus* revelou-se mais resistente (Tabela 3). Para testes de 48 e 96h os espécimes de *Poecilia reticulata* ora testados, mostraram-se li-

geiramente mais resistentes que *Carassius auratus*, *Poecilia reticulata* e *Pimephales promelas* testados por Pickering & Henderson, no trabalho citado (Tabela 3). A espécie utilizada neste teste mostra-se mais sensível que *Lepomis macrochirus* (Tabela 3).

Comparada com as outras espécies da família Cyprinodontidae, *Poecilia reticulata* mostrou-se mais sensível a sulfato de cobre do que *Poecilia mexicana* (Berg & Just, apud McKim *et al.*, 1971) *Gambusia affinis* (Joshi & Rege apud Speha *et al.*, 1981).

Tabela 1 — Mortalidade acumulada segundo a concentração do agente tóxico e o tempo de exposição.
Número de mortos acumulados

Concentração*	24 h	48 h	72 h	96 h
0,056	—	01	01	01
0,075	—	02	04	04
0,100	02	07	07	08
0,130	04	07	08	10
0,180	09	10	10	10
0,240	09	10	10	10
0,320	10	10	10	10
Controle	—	—	—	—

Tabela 2 — CL50 segundo o tempo de exposição ao agente tóxico.

Período de Exposição (h) CL50 (mg/L de $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$)

24 h	0,134 (0,111 — 0,162)*
48 h	0,096 (0,077 — 0,119)*
72 h	0,087 (0,071 — 0,106)*
96 h	0,080 (0,068 — 0,100)*

(*) Intervalos de confiança.

Tabela 3 — Resultados compilados da Bibliografia Internacional sobre a CL50 de diversas espécies de peixes expostos a sulfato de cobre em testes estáticos.

Espécie	Período de exposição (h)	Dureza (mg/L de CaCO_3)	pH	Temperatura (°C)	CL50 (mg/L de CaCO_3)	Referência
<i>Lepomis macrochirus</i>	24	20	7,5	25	0,86	Pickering & Henderson (1966)
<i>Lepomis macrochirus</i>	48	20	7,5	25	0,74	Pickering & Henderson (1966)
<i>Lepomis macrochirus</i>	96	20	7,5	25	0,66	Pickering & Henderson (1966)
<i>Carassius auratus</i>	24	20	7,5	25	0,094	Pickering & Henderson (1966)
<i>Carassius auratus</i>	48	20	7,5	25	0,043	Pickering & Henderson (1966)
<i>Carassius auratus</i>	96	20	7,5	25	0,036	Pickering & Henderson (1966)
<i>Poecilia reticulata</i>	24	20	7,5	25	0,130	Pickering & Henderson (1966)
<i>Poecilia reticulata</i>	48	20	7,5	25	0,073	Pickering & Henderson (1966)
<i>Poecilia reticulata</i>	96	20	7,5	25	0,036	Pickering & Henderson (1966)
<i>Pimephales promelas</i>	24	20	7,5	25	0,038	Pickering & Henderson (1966)
<i>Pimephales promelas</i>	48	20	7,5	25	0,028	Pickering & Henderson (1966)
<i>Pimephales promelas</i>	96	20	7,5	25	0,023	Pickering & Henderson (1966)
<i>Lepomis macrochirus</i>	24	360	7,5	25	10,7	Pickering & Henderson (1966)
<i>Lepomis macrochirus</i>	48	360	7,5	25	10,2	Pickering & Henderson (1966)
<i>Lepomis macrochirus</i>	96	360	7,5	25	10,2	Pickering & Henderson (1966)
<i>Pimephales promelas</i>	24	360	7,5	25	2,15	Pickering & Henderson (1966)
<i>Pimephales promelas</i>	48	360	7,5	25	1,50	Pickering & Henderson (1966)
<i>Pimephales promelas</i>	96	360	7,5	25	1,45	Pickering & Henderson (1966)
<i>Poecilia mexicana</i>	24	32	6,8	24	1,42	Berg & Just apud McKim <i>et al.</i> (1975)
<i>Gambusia affinis</i>	96	32	7,5	27	0,20	Joshi & Rege apud Spehar <i>et al.</i> (1981)

O fato destas duas espécies apresentarem CL50 superior à obtida neste teste pode estar associado à dureza da água em que os organismos foram expostos. Este fenômeno foi evidenciado por Pickring & Henderson (1966). Os autores expuseram *Lepomis macrochirus* e *Pimephales promelas* a ensaios com soluções-teste com dureza de 20 a 360 mg/L de CaCO₃. Para ambas as espécies a CL50 obtida nos testes realizados com dureza de 20 mg/L de CaCO₃ foi muito inferior.

Em vista desses resultados, a diferença da toxicidade do sulfato de cobre entre *Poecilia reticulata* e as demais espécies da família Cyprinodontidae pode estar parcialmente relacionada com a dureza da água.

As águas da região de São Paulo, pelos padrões de dureza e alcalinidade, são caracterizadas como muito moles ou moles (Capocchi, 1964). Nestas condições pode então ocorrer um aumento da toxicidade do sulfato de cobre, para a espécie estudada.

Segundo publicações da Cetesb (1984), as águas do Estado de São Paulo atingem freqüentemente 27,0°C. Cairns et al. (1975) afirmam que a toxicidade do sulfato de cobre aumenta com a temperatura, de forma direta ou indireta, porém, citam Rehwooldt et al (1972), que trabalharam com várias espécies de peixes de água doce, concluindo que a TLM para 24, 48 e 96 h para o cobre não é influenciado pela temperatura, cujo intervalo, testado pelos autores, se situou entre 15 e 28°C.

Deve-se considerar que *Poecilia reticulata* é muitas vezes encontrada na água superficial. Jones (1964), observou que os peixes não têm capacidade para detectar a presença de cobre e, portanto, não fogem quando da presença deste na água. O sulfato de cobre é aplicado na superfície da água, onde a variação da temperatura é maior, e onde são atingidas temperaturas mais altas. Entretanto, Cairns et al, no trabalho citado, afirmam que do aumento de temperatura decorrem outros fatores interessantes, como o aumento de atividade metabólica, redução no teor de oxigênio dissolvido e aumento de motilidade em peixes, por exemplo, que podem indiretamente intensificar os efeitos deste metal sobre os organismos aquáticos, especialmente em peixes.

Conclusão

Pelos resultados obtidos, concluiu-se que *Poecilia reticulata*, em água com dureza e alcalinidade baixas e sob temperatura elevada, apresenta sensibilidade moderada ao sulfato de cobre, em relação a outras espécies testadas em condições semelhantes.

Pode-se concluir ainda, que as condições comumente encontradas nos corpos d'água do Estado de São Paulo — baixa dureza, baixa alcalinidade e altas temperaturas — concorrem para magnificar a sensibilidade de *Poecilia reticulata* ao sulfato de cobre.

Referências Bibliográficas

- AMERICAN PUBLIC HEALTH ASSOCIATION. *Standard methods for examination of water and wastewater*. 15 ed. New York, APHA p.615-753, 1980.
- BRANCO, S.M. *Observações sobre o comportamento de peixes em presença de certos compostos dissolvidos na água*. *Revta. DAE*. 21(37):37-41, 1960.
- BRANCO, S.M. *Hidrobiologia aplicada à engenharia sanitária*. São Paulo, CETESB/ASCETESB, 616 pp., 1986.
- BRINKHURST, R.O. & COOK, D.G. Aquatic earthworms (Annelida: Oligochaeta) in: Hart & Fuller (ed.). *Pollution ecology of freshwater invertebrates*. New York, Academic Press p.143-156, 1974.
- BURKE, W.D. & FERGUNSON, D.E. Toxicity of four insecticides to resistant and susceptible mosquito fish in state and flow solutions. *Mosquito News*, New York 29(1):96-101, 1969.
- CAIRNS, Jr. J., HEALTH, A.G. & PARKER, B.C. The effects of temperature upon the toxicity of chemicals to aquatic organism. *Hydrobiologia* 47(1):135-171, 1975.
- CAPOCCHI, J. *Levantamento da dureza de águas municipais consumidas no Estado de São Paulo — Brasil*. (Tese de Livre-Docência — Faculdade de Higiene e Saúde Pública da Universidade de São Paulo). 36pp., 1964.
- CETESB — Companhia de Tecnologia de Saneamento Ambiental. *Qualidade das águas interiores do Estado de São Paulo*. São Paulo Cetesb, 134pp., 1984.
- CETESB — Companhia de Tecnologia de Saneamento Ambiental. *Programa bioensaios. Relatório Parcial n. 3, Atividade de 340049 — setembro a dezembro*. São Paulo Cetesb, 125pp., 1977.
- DELAVECCHIA, M.L. *Tolerância a íons cúpricos em Acará, Geophagus brasiliensis (Quoy & Gaimard, 1824) Pisces Cichlidae*. (Dissertação de Mestrado apresentada ao Departamento de Ecologia e Recursos Naturais da Universidade Federal de São Carlos), 1981.
- DOUDOROFF, P. & KATZ, M. Critical review of literature on the toxicity of industrial wastes and their components to fish. II — The metals as salts. *Sewage and Industrial Wastes*. 25(7):802-839, 1953.
- FURMANSKA, M. *Studies of the effect of copper, zinc and iron on the biotic components of aquatic ecosystems*. *Pol. Arch. Hydrobiol.*, 26(1/2):213-220, 1979.
- HARMAN, W.N. Snails (Mollusca: Gastropoda) In: Hart & Fuller (eds.). *Pollution ecology of freshwater invertebrates*. New York, Academic Press. p.275-314, 1974.
- HOBBS, Jr. H.H. & HALL, J.R.E.T. Crayfishes (Decapoda: Astacidae). In: Hart & Fuller (eds.). *Pollution ecology of freshwater invertebrates*. New York, Academic Press. p.194-214, 1974.
- JONES, J.R.E. *Fish and river pollution*. London, Butterworth, 223pp., 1964.
- KATZ, M. & CHADWICK, G.G. Toxicity of endrin to some Pacific Northwest fishes. *Trans. Am. Fish. Soc.* New York, 90(4):394-397, 1961.
- KENK, R. Flatworms (Platyhelminthes: Tricladida) In: Hart & Fuller (eds.). *Pollution ecology of freshwater invertebrates*. New York, Academic Press. p.67-81, 1974.
- LITCHFIELD, Jr., J.T. & WILCOXON, F. A simplified method of evaluation dose-effect experiments. *J. Pharm. Exp. Theor.* 96:99-113, 1949.
- McKIM, J.M., EATON, J.G. & HOLCOMBE, G.W. Metal toxicity to embryos and larvae of eight species of freshwater fish. II: Copper. *Bull. Environ. Contam. Toxicol.* 19:608-616, 1978.
- MUIRHEAD-THOMPSON, R.C. *Pesticides and freshwater fauna*. London, Academic Press. 230pp., 1971.
- PEREIRA, H.A.S.L. *Contribuição ao conhecimento da ação algicida do sulfato de cobre, em especial sobre as cianofíceas *Microcystis flos-aquae* (Wittroch) Kirchner, São Paulo, 1978*. (Tese de doutorado — Faculdade de Saúde Pública da Universidade de São Paulo).

- PETERSEN, R.C. et al. Health aspect of humic compounds in acid environments. *Wat. Qual. Bull.* 11(1):44-49, 1986.
- PICKERING, Q.H. & HENDERSON, C. The acute toxicity of some heavy metals to different species of warm water fishes. *Int. Jour. Air and Wat. Poll.* 10:453-463, 1966.
- RIEMER, D.N. & TOTH, S.J. Absorption of copper by clay minerals, humic and bottom muds. *J. Am. Wat. Works Ass.*, 62(3):195-197, 1970.
- ROSEN, D.E. & BAILEY, R.M. The poeciliid fishes (Cyprinodontiformes), their structure, zoogeography and systematics. *Bull. Amer. Museum Nat. Hist.* 26:1-176, 1963.
- SAWIER, R.T. Leeches (Annelida: Hirudinea) In: Hart & Fuller (eds.). *Pollution ecology of freshwater invertebrates*. New York, Academic Press. p.82-142, 1974.
- SEMA — Secretaria Especial de Meio Ambiente. *I Seminário sobre poluição por metais pesados*. — Cobre. p.113-115, Brasília, DF, 1980.
- SHIFF, C.J. & GARNET, B. The short-term effects of three molluscicides on the microflora and microfauna of small, biologically stable ponds in Southern Rhodesia. *Bull. Wildl. Health. Org.* 25:543-547, 1961.
- SPEHAR, R.L. LEMKE, A.E., PICKERING, Q.H. ROUSH, T.H., RUSSO, R.C. & YOUNT, J.D. Effects of pollution on freshwater fish. *J. Wat. Poll. Contr. Fed.* 53(6):1028-1075, 1981.
- SPEHAR, R.L. CHRISTENSEN, G.M. CURTIS, C. LEMKE, A. E., NORBERG, T.J. & PICKERING, Q.H. Effects of pollution on freshwater fish. *J. Wat. Poll. Contr. Fed.* 54(6):877-921, 1982.
- SPRAGUE, J.B. Measurement of pollutant toxicity to fish I. Bioassay methods for acute toxicity. *Wat. Res.* vol. 3:793-821, 1969.
- WINNER, R.W. Bioaccumulation and toxicity of copper as affected by interactions between humic acid and water hardness. *Wat. Res.* 19(4):449-455, 1985.

