

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA JÚLIO DE MESQUITA FILHO
CAMPUS EXPERIMENTAL DE SÃO VICENTE



NÚCLEO DE ESTUDOS EM POLUIÇÃO E ECOTOXICOLOGIA MARINHA - NEPEA

Laudu Técnico

**Teste de Toxicidade de Sedimento Integral Utilizando Anfípodo Escavador
Tiburonella viscana: amostras do Porto de Santos**

CLIENTE: Consultoria Paulista de Estudos Ambientais - Projeto 466/06

Executor Responsável:
Prof Dr Denis Moledo de Souza Abessa
Coordenador – NEPEA

São Vicente
Novembro - 2006

Teste de Toxicidade de Sedimento Integral

Organismo-teste

Como organismo-teste, foi utilizado o anfípodo escavador *Tiburonella viscana*, pertencente à família *Platyischnopidae*. Segundo Melo (1993), essa espécie é adequada ao uso em testes de toxicidade, pois: 1- apresenta alta sensibilidade a diversas classes de contaminantes; 2- é abundante no ambiente, sendo facilmente coletável; 3- é um organismo autóctone e representativo; 4- apresenta ampla distribuição geográfica; 5- apresenta sobrevivência elevada durante o período de aclimação, mostrando-se tolerante ao “stress” de coleta e manuseio; 6- é relativamente tolerante a mudanças em vários fatores abióticos; 7- pelo seu hábito escavador, assegura uma exposição máxima aos contaminantes retidos no sedimento, entrando em contato com a água intersticial e com as partículas do sedimento.

Tiburonella viscana vem sendo utilizada com sucesso em estudos sobre toxicidade de sedimentos (Abessa, 2002; Abessa *et al.*, 1998; 2001a; 2001b; 2005; César *et al.*, 2006).

Coleta dos Organismos-teste

Os exemplares de *T. viscana* foram coletados no nível superior do infralitoral da Praia do Engenho D'Água, em Ilhabela, com auxílio de uma draga especial para coleta de anfípodos, no dia 11/10/2006¹. Após a coleta, os animais foram transferidos para frascos de polietileno contendo sedimento e água do mar do local, e transportados para o laboratório, em caixas de isopor.

Após triagem e identificação dos indivíduos de *T. viscana* em estereomicroscópio, os animais foram aclimatados por 2 dias em tanques contendo água do mar filtrada e uma camada de 1 cm de sedimento controle, a $25 \pm 2^\circ\text{C}$, e com iluminação e aeração constantes.

Sedimento proveniente do local de coleta dos anfípodos (Praia do Engenho D'Água – Ilhabela, São Paulo) também foi coletado, para utilização como controle interno e na aclimação dos anfípodos. Em laboratório, esta amostra foi mantida refrigerada a $4 \pm 2^\circ\text{C}$ até sua utilização.

¹ Uma nova coleta, para repetição dos testes com as amostras 6 e 8, foi feita no dia 25/10/2006.

Água de Diluição

A água de diluição utilizada na aclimação dos anfípodos quanto e também nas câmaras-teste foi coletada na Praia da Juréia, costa sul de São Sebastião, e filtrada em sistema CUNO de 100 micras. As características dessa água estão descritas na Tabela 1.

Tabela 1. Características da água de diluição utilizada no teste de toxicidade de sedimento integral (medida realizada em 11/10/2006).

Água de Diluição	
Origem	Praia da Juréia, São Sebastião
Tratamento	CUNO (100 µm)
pH	8,06
Salinidade (‰)	35,0
OD (mg/L)	6,73
Temperatura (°C)	22,5
NH ₃ /NH ₄ ⁺ (mg/L)	< LD

Procedimento Experimental

O método utilizado na execução do teste de toxicidade com sedimentos foi basicamente o mesmo descrito por Swartz *et al.* (1985) para *Rhepoxynius abronius*, e adequado por Melo & Abessa (2002) para *Tiburonella viscana*.

O teste foi conduzido em frascos de polietileno de alta densidade com volume de 1 litro. Cerca de 24 horas antes do início de cada experimento (12/10/2006), as amostras de sedimento foram homogeneizadas e as réplicas preparadas. Em cada uma, foi introduzida uma camada de 2 cm (\cong 175 ml) de sedimento não peneirado e 750 ml de água de diluição.

No dia seguinte (13/10/2006), foi iniciado o teste. Cada réplica recebeu 10 indivíduos sadios e de mesmo tamanho. Não foram utilizadas fêmeas ovadas. Durante o experimento os animais não foram alimentados e permaneceram sob aeração e iluminação constantes, e temperatura de $25 \pm 2^\circ\text{C}$. Para cada amostra de sedimento, foram utilizadas três réplicas.

Diariamente, foram observados o número de organismos mortos e o número de animais vivos desenterrados (emergentes) em cada frasco. Os parâmetros físico-químicos (pH, oxigênio dissolvido, nitrogênio amoniacal, salinidade e temperatura) da água nos frascos-teste foram analisados no início e ao final do experimento. O pH foi medido por um aparelho INOLAB, com precisão de 0,01; a salinidade foi medida com auxílio de um refratômetro ATAGO, com precisão de 0,5 ‰; a temperatura foi medida por meio de termômetros de mercúrio, com precisão de 0,5 °C; o teor de oxigênio dissolvido foi medido

utilizando-se um oxímetro DIGIMED, com precisão de 0,01 mgO₂/L; e o teor de nitrogênio amoniacal foi estimado pelo método colorimétrico de Koroleff, com limite de quantificação de 0,05 mg/L.

Após 10 dias, o teste foi encerrado (23/10/2006). O sedimento de cada réplica foi peneirado em malha 0,5 mm. Os exemplares de *T. viscana* retidos foram então transferidos para placas de Petri, com auxílio de um conta gotas, e examinados em estereomicroscópio. O número de animais mortos e vivos foi contado. Quando a soma final de vivos e mortos numa réplica não atingiu 10, os organismos não encontrados foram considerados mortos.

Para tratamento estatístico dos dados, primeiramente foi feita a verificação da normalidade dos dados e da homocedasticidade, pelos testes de Chi-Quadrado e Bartlett, respectivamente. Em seguida, a sobrevivência em cada amostra foi comparada com a observada no controle por meio de teste t'-student para amostras independentes (para variâncias homogêneas ou heterogêneas, de acordo com as verificações anteriores), conforme recomendação da USEPA (1991). Foi utilizado o programa Statistica.

Teste com Substância de Referência

Foi realizado um teste com substância de referência, sem a presença de sedimento, para avaliar a sensibilidade dos organismos utilizados no teste com sedimentos. A substância de referência testada foi o dicromato de potássio (K₂Cr₂O₇). As concentrações de K₂Cr₂O₇ foram preparadas a partir de uma solução estoque de 200 mg/l, obtida pela dissolução de sais puros em água do mar filtrada. Foram utilizadas as seguintes concentrações: 25,00; 12,50; 6,25 e 3,13 mg/l. No grupo controle, os animais foram expostos somente a água do mar filtrada. Os testes seguiram o procedimento descrito abaixo.

Para cada concentração, foram preparadas 3 réplicas com 5 animais cada, em béqueres de vidro contendo 350 ml de solução. Foram utilizados apenas exemplares adultos, excluindo-se as fêmeas ovadas. Os anfípodos não foram alimentados durante o teste, que teve duração de 48 horas. A iluminação e aeração foram mantidas constantes, e a temperatura foi mantida em 25 ± 2 °C, pois os experimentos foram montados em sala climatizada. Após 48 horas, o número de mortos em cada réplica foi registrado, e calculada a CL50-48h para o dicromato de potássio.

O resultado obtido no teste com substância de referência foi analisado pelo método estatístico Trimmed Spearman-Kärber com correção de Abbott (Hamilton *et al.*, 1977),

para calcular a concentração letal a 50% dos organismos após 48 horas (CL50-48h) e seu intervalo de confiança.

RESULTADOS

As condições da água nos frascos teste foram consideradas adequadas, segundo os critérios propostos por Melo & Abessa (2002). A salinidade variou entre 35,0 e 37,0; enquanto o pH esteve entre 7,79 e 8,46. A temperatura foi mantida a 25 ± 2 °C. Os níveis de oxigênio dissolvido variaram entre 4,78 e 6,23 mg/L; os dados de OD ao final do teste não puderam ser medidos devido a problemas no aparelho. Os níveis de nitrogênio amoniacal total variaram de não detectáveis (<0,10 mg/L) a 1,50 mg/L. Os valores estão indicados na Tabela 2.

Tabela 2. Condições físico-químicas da água nos frascos-teste, durante ensaio com sedimento integral e anfípodo *T. viscana*.

Identificação	pH		Salinidade		OD (mg/L)		Temperatura (°C)		NH ₃ /NH ₄ ⁺ (mg/L)	
	Inicial	Final	Inicial	Final	Inicial	Final	Inicial	Final	Inicial	Final
P1	8,12	8,21	35,0	37,0	6,23	nm	25,0	25,5	0,25	0,25
P2	8,22	8,20	35,0	37,0	4,78	nm	25,0	25,5	0,25	0,25
P3	7,98	8,23	35,0	37,0	4,97	nm	25,0	25,5	0,75	0,25
P4	7,81	8,12	35,0	37,0	6,11	nm	25,0	25,5	0,25	0,25
P5	8,00	8,33	36,0	37,0	5,45	nm	25,0	25,5	0,25	0,25
P6	8,25	8,02	36,0	36,0	6,01	nm	25,0	25,5	0,25	0,75
P7	8,21	8,46	35,0	37,0	5,39	nm	25,0	25,5	0,25	0,75
P8	7,92	8,03	36,0	37,0	5,67	nm	25,0	25,5	0,75	0,25
P9	7,79	7,86	36,0	37,0	6,17	nm	25,0	25,5	0,25	0,25
P10	8,03	7,87	36,0	37,0	5,32	nm	25,0	25,5	0,25	0,25
P11	7,87	8,11	35,0	37,0	4,88	nm	25,0	25,5	0,25	0,25
P12	8,26	8,13	36,0	37,0	5,33	nm	25,0	25,5	0,25	0,25
P13	8,35	8,26	36,0	37,0	4,99	nm	25,0	25,5	1,50	0,25
P14	7,98	7,82	36,0	37,0	5,68	nm	25,0	25,5	0,25	0,25
P15	8,15	8,38	36,0	37,0	4,87	nm	25,0	25,5	1,50	0,25
Controle Ilhabela	8,03	8,05	35,0	36,0	5,82	nm	25,0	25,5	0,25	0,75

LD = Limite de Detecção; nm = não medido.

A sensibilidade do lote de anfípodos utilizados no teste de toxicidade foi estimada por meio de teste com substância de referência, cujo resultado está representado na Tabela 3. A CL50-48h foi estimada em 8,34 (5,56 – 12,52) mg/L K₂Cr₂O₇, estando na faixa recomendada para a espécie (Abessa & Sousa, 2003)². De acordo com atualização dessa carta-control (em construção – ver anexo), os níveis de sensibilidade estão entre 5,43 e 14,79 mg/L mg/L K₂Cr₂O₇. Portanto, os dados obtidos indicam que a sensibilidade dos organismos teste era adequada.

² (faixa de sensibilidade estimada por Abessa & Sousa: 3,68 - 18,75 mg/L)

Tabela 3. Resultado do teste de toxicidade com substância de referência ($K_2Cr_2O_7$) e anfípodo *T. viscana*.

Conc. (mg/l)	Número de organismos vivos				
	Réplica 1	Réplica 2	Réplica 3	Média	Total
Controle	5	4	4	4,3	13
3,13	3	3	4	3,3	10
6,25	3	3	2	2,7	8
12,50	1	2	2	1,7	5
25,00	0	0	0	0,0	0

CL50-48h = 8,34 (5,56 - 12,52) mg/l

O resultado do teste de toxicidade de sedimento integral utilizando *T. viscana* está na Tabela 4 e na Figura 1. Nesse experimento, o sedimento controle proveniente de Ilhabela (controle interno) foi utilizado como referência.

Foram consideradas significativamente tóxicas a *T. viscana* as amostras identificadas como P4, P9, P13 e P15. Além dessas, a amostra identificada como P11 apresentou baixa sobrevivência entre os anfípodos (60,0%), porém devido ao grande desvio padrão observado o teste estatístico não foi capaz de detectar diferenças. As amostras identificadas como P6 e P8 apresentaram resultados inconclusivos; nesse caso os testes foram refeitos e os resultados estão apresentados como anexo. Já as amostras identificadas como P1, P2, P3, P5, P7, P10, P11, P12 e P14 não foram consideradas tóxicas aos anfípodos.

Tabela 4. Resultado do teste de toxicidade de sedimento integral utilizando anfípodos.

ID. da amostra	Sobrevivência (%)					Classificação	p
	R1	R2	R3	Média	Desvio		
P1	70	60	100	76,7	20,8	Não tóxica	0,374
P2	90	80	80	83,3	5,8	Não tóxica	0,374
P3	80	90	60	76,7	15,3	Não tóxica	0,274
P4	50	40	20	36,7	15,3	Tóxica	0,007
P5	0	60	80	70,0	14,1	Não tóxica	0,154
P6	70	20	0	30,0	36,1	Inconclusivo	-
P7	10	80	80	80,0	0,0	Não tóxica	0,272
P8	0	70	50	40,0	36,1	Inconclusivo	-
P9	0	10	30	13,3	15,3	Tóxica	0,002
P10	100	80	90	90,0	10,0	Não tóxica	1
P11	40	60	80	60,0	20,0	Não tóxica	0,81
P12	100	70	60	76,7	20,8	Não tóxica	0,374
P13	60	70	50	60,0	10,0	Tóxica	0,021
P14	80	80	100	86,7	11,5	Não tóxica	0,725
P15	0	40	50	30,0	26,5	Tóxica	0,021
Controle	100	90	80	90,0	10,0	-	-

Obs: “outlier” indicado em amarelo e não considerado nos cálculos.

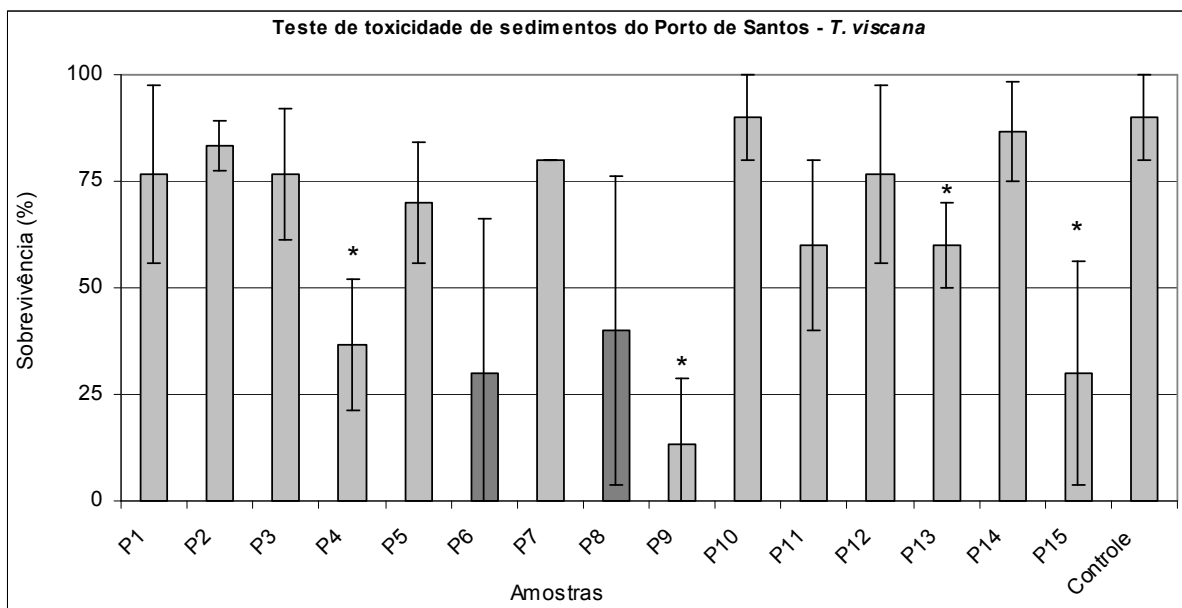


Figura 1. Sobrevivência de *T. viscana* exposto a sedimentos provenientes do Porto de Santos.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- D.M.S. ABESSA. "Avaliação da qualidade de sedimentos do Sistema Estuarino de Santos", Tese de Doutorado, Universidade de São Paulo, Instituto Oceanográfico, 290p. 2002.
- D.M.S. ABESSA & E.C.P.M. SOUSA, "Preliminary studies on the acute toxicity of marine sediments collected close to the sewage outfalls from Baixada Santista, SP, Brazil", in *Anais do 1º Congresso Brasileiro de Pesquisas Ambientais*, Santos, SP, CD-Rom, pp.59-61.2001.
- D.M.S. ABESSA & E.C.P.M. SOUSA. Sensitivity of the amphipod *Tiburonella viscana* to K2Cr2O7. *Brazilian Archives of Biology e Technology*. 46(1): 53-55. 2003.
- D.M.S. ABESSA, E.C.P.M. SOUSA, B.R.F. RACHID & R.R. MASTROTI, "Use of the burrowing amphipod *Tiburonella viscana* as tool in marine sediments contaminant assessment", *Brazilian Archives of Biology and Technology*, 41(2): 225-230. 1998.
- D.M.S. ABESSA, E.C.P.M. SOUSA, B. R. F. RACHID AND R. R. MASTROTI, "Sediment toxicity in Santos estuary, SP-Brazil: preliminary results", *Ecotoxicology and Environmental Restoration*. 4(1): 6-9. 2001.
- M.A. HAMILTON, R.C. RUSSO & R.V. THURSTON. Trimmed Spearman-Kärber method for estimating median lethal concentrations in toxicity bioassays. *Environmental Science and Technology*, 11(7):714-719. 1977. *Correction* 12(4):417. 1978.
- S.L.R. MELO. Testes de Toxicidade com sedimentos marinhos: adequação de metodologia para o anfípodo escavador *Tiburonella viscana*. Master of Science Dissertation. Universidade de São Paulo, São Carlos, SP, 172 pp. 1993.
- S.L.R. MELO & D.M.S. ABESSA. Testes de toxicidade com sedimentos marinhos utilizando anfípodos como organismo-teste. In: Nascimento, I.; Sousa, E. C. P. M. & Nipper, M. G. (eds.). *Ecotoxicologia Marinha: Aplicações no Brasil*, Artes Gráficas e Indústria Ltda, São Paulo, pp. 163-178. 2002.
- R.C. SWARTZ, W.A. DEBEN, J.K.P. JONES, J.O. LAMBERSON AND F.A. COLE, "Phoxocephalid amphipod bioassay for marine sediment toxicity", in: *7th Symposium on Aquatic Toxicology and Hazard Assessment*, Philadelphia, ASTM, pp.284-307, 1985
- USEPA. 1991. Short-term methods for estimating the chronic toxicity of effluents and receiving waters to marine and estuarine organisms. (Eds.) Klemm, D.; Morrison, G.E.; Norberg-King, T.J.; Peltier, W.H. & Heber, M.A. U.S. Environmental Protection Agency Report EPA/600/4-91/003. Ohio, Cincinnati, 579p.

Ficha Técnica de Teste de Toxicidade

Tipo de Amostra: Sedimentos – Porto de Santos

Contratante: Consultoria Paulista

Data de início do teste: 13/10/2006 Data de encerramento: 23/10/2006

Responsável: Prof Dr Denis M. S. Abessa

Organismo teste: *Tiburonella viscana* (AMPHIPODA - PLATYISCHNOPIDAE)

Origem: Engenho D'Água, Ilhabela, SP Data de coleta: 11/10/2006

Tipo de Teste: agudo

Local: UNESP - Campus do Litoral Paulista

Duração: 10 dias

Identificação da amostra

P1

Estação	pH		Salinidade		OD (mg/L)		Temperatura (°C)		NH3/NH4+ (mg/L)	
	Inicial	Final	Inicial	Final	Inicial	Final	Inicial	Final	Inicial	Final
P1	8,12	8,21	35,0	37,0	6,23	nm	25,0	25,5	0,25	0,25
Controle Interno - Ilhabela	8,03	8,05	35,0	36,0	5,82	nm	25,0	25,5	0,25	0,75

nm = não medido

Amostra	Sobrevivência (%)					Classificação da amostra
	R1	R2	R3	Média	Desvio	
P1	70	60	100	76,7	20,8	Não tóxica
Controle Interno – Ilhabela	100	90	80	90,0	10,0	-

Classificação: **Não tóxica**

Ficha Técnica de Teste de Toxicidade

Tipo de Amostra: Sedimentos – Porto de Santos

Contratante: Consultoria Paulista

Data de início do teste: 13/10/2006 Data de encerramento: 23/10/2006

Responsável: Prof Dr Denis M. S. Abessa

Organismo teste: *Tiburonella viscana* (AMPHIPODA - PLATYISCHNOPIDAE)

Origem: Engenho D'Água, Ilhabela, SP Data de coleta: 11/10/2006

Tipo de Teste: agudo

Local: UNESP - Campus do Litoral Paulista

Duração: 10 dias

Identificação da amostra

P2

Estação	pH		Salinidade		OD (mg/L)		Temperatura (°C)		NH3/NH4+ (mg/L)	
	Inicial	Final	Inicial	Final	Inicial	Final	Inicial	Final	Inicial	Final
P2	8,22	8,20	35,0	37,0	4,78	nm	25,0	25,5	0,25	0,25
Controle Interno - Ilhabela	8,03	8,05	35,0	36,0	5,82	nm	25,0	25,5	0,25	0,75

nm = não medido

Amostra	Sobrevivência (%)					Classificação da amostra
	R1	R2	R3	Média	Desvio	
P2	90	80	80	83,3	5,8	Não tóxica
Controle Interno – Ilhabela	100	90	80	90,0	10,0	-

Classificação: **Não tóxica**

Ficha Técnica de Teste de Toxicidade

Tipo de Amostra: Sedimentos – Porto de Santos

Contratante: Consultoria Paulista

Data de início do teste: 13/10/2006 Data de encerramento: 23/10/2006

Responsável: Prof Dr Denis M. S. Abessa

Organismo teste: *Tiburonella viscana* (AMPHIPODA - PLATYISCHNOPIDAE)

Origem: Engenho D'Água, Ilhabela, SP Data de coleta: 11/10/2006

Tipo de Teste: agudo

Local: UNESP - Campus do Litoral Paulista

Duração: 10 dias

Identificação da amostra

P3

Estação	pH		Salinidade		OD (mg/L)		Temperatura (°C)		NH3/NH4+ (mg/L)	
	Inicial	Final	Inicial	Final	Inicial	Final	Inicial	Final	Inicial	Final
P3	7,98	8,23	35,0	37,0	4,97	nm	25,0	25,5	0,75	0,25
Controle Interno - Ilhabela	8,03	8,05	35,0	36,0	5,82	nm	25,0	25,5	0,25	0,75

nm = não medido

Amostra	Sobrevivência (%)					Classificação da amostra
	R1	R2	R3	Média	Desvio	
P3	80	90	60	76,7	15,3	Não tóxica
Controle Interno – Ilhabela	100	90	80	90,0	10,0	-

Classificação: **Não tóxica**

Ficha Técnica de Teste de Toxicidade

Tipo de Amostra: Sedimentos – Porto de Santos

Contratante: Consultoria Paulista

Data de início do teste: 13/10/2006 Data de encerramento: 23/10/2006

Responsável: Prof Dr Denis M. S. Abessa

Organismo teste: *Tiburonella viscana* (AMPHIPODA - PLATYISCHNOPIDAE)

Origem: Engenho D'Água, Ilhabela, SP Data de coleta: 11/10/2006

Tipo de Teste: agudo

Local: UNESP - Campus do Litoral Paulista

Duração: 10 dias

Identificação da amostra

P4

Estação	pH		Salinidade		OD (mg/L)		Temperatura (°C)		NH3/NH4+ (mg/L)	
	Inicial	Final	Inicial	Final	Inicial	Final	Inicial	Final	Inicial	Final
P4	7,81	8,12	35,0	37,0	6,11	nm	25,0	25,5	0,25	0,25
Controle Interno - Ilhabela	8,03	8,05	35,0	36,0	5,82	nm	25,0	25,5	0,25	0,75

nm = não medido

Amostra	Sobrevivência (%)					Classificação da amostra
	R1	R2	R3	Média	Desvio	
P4	50	40	20	36,7	15,3	Tóxica
Controle Interno – Ilhabela	100	90	80	90,0	10,0	-

Classificação: **Significativamente Tóxica**

Ficha Técnica de Teste de Toxicidade

Tipo de Amostra: Sedimentos – Porto de Santos

Contratante: Consultoria Paulista

Data de início do teste: 13/10/2006 Data de encerramento: 23/10/2006

Responsável: Prof Dr Denis M. S. Abessa

Organismo teste: *Tiburonella viscana* (AMPHIPODA - PLATYISCHNOPIDAE)

Origem: Engenho D'Água, Ilhabela, SP Data de coleta: 11/10/2006

Tipo de Teste: agudo

Local: UNESP - Campus do Litoral Paulista

Duração: 10 dias

Identificação da amostra

P5

Estação	pH		Salinidade		OD (mg/L)		Temperatura (°C)		NH3/NH4+ (mg/L)	
	Inicial	Final	Inicial	Final	Inicial	Final	Inicial	Final	Inicial	Final
P5	8,00	8,33	36,0	37,0	5,45	nm	25,0	25,5	0,25	0,25
Controle Interno - Ilhabela	8,03	8,05	35,0	36,0	5,82	nm	25,0	25,5	0,25	0,75

nm = não medido

Amostra	Sobrevivência (%)					Classificação da amostra
	R1	R2	R3	Média	Desvio	
P5	0*	60	80	70,0	14,1	Não tóxica
Controle Interno – Ilhabela	100	90	80	90,0	10,0	-

* Célula marcada em amarelo: outlier não considerado nos cálculos

Classificação: **Não tóxica**

Ficha Técnica de Teste de Toxicidade

Tipo de Amostra: Sedimentos – Porto de Santos

Contratante: Consultoria Paulista

Data de início do teste: 13/10/2006 Data de encerramento: 23/10/2006

Responsável: Prof Dr Denis M. S. Abessa

Organismo teste: *Tiburonella viscana* (AMPHIPODA - PLATYISCHNOPIDAE)

Origem: Engenho D'Água, Ilhabela, SP Data de coleta: 11/10/2006

Tipo de Teste: agudo

Local: UNESP - Campus do Litoral Paulista

Duração: 10 dias

Identificação da amostra

P6

Estação	pH		Salinidade		OD (mg/L)		Temperatura (°C)		NH3/NH4+ (mg/L)	
	Inicial	Final	Inicial	Final	Inicial	Final	Inicial	Final	Inicial	Final
P6	8,25	8,02	36,0	36,0	6,01	nm	25,0	25,5	0,25	0,75
Controle Interno - Ilhabela	8,03	8,05	35,0	36,0	5,82	nm	25,0	25,5	0,25	0,75

nm = não medido

Amostra	Sobrevivência (%)					Classificação da amostra
	R1	R2	R3	Média	Desvio	
P6	70	20	0	30,0	36,1	Inconclusivo
Controle Interno – Ilhabela	100	90	80	90,0	10,0	-

Classificação: **Resultado inconclusivo**

Ficha Técnica de Teste de Toxicidade

Tipo de Amostra: Sedimentos – Porto de Santos

Contratante: Consultoria Paulista

Data de início do teste: 13/10/2006 Data de encerramento: 23/10/2006

Responsável: Prof Dr Denis M. S. Abessa

Organismo teste: *Tiburonella viscana* (AMPHIPODA - PLATYISCHNOPIDAE)

Origem: Engenho D'Água, Ilhabela, SP Data de coleta: 11/10/2006

Tipo de Teste: agudo

Local: UNESP - Campus do Litoral Paulista

Duração: 10 dias

Identificação da amostra

P7

Estação	pH		Salinidade		OD (mg/L)		Temperatura (°C)		NH3/NH4+ (mg/L)	
	Inicial	Final	Inicial	Final	Inicial	Final	Inicial	Final	Inicial	Final
P7	8,21	8,46	35,0	37,0	5,39	nm	25,0	25,5	0,25	0,75
Controle Interno - Ilhabela	8,03	8,05	35,0	36,0	5,82	nm	25,0	25,5	0,25	0,75

nm = não medido

Amostra	Sobrevivência (%)					Classificação da amostra
	R1	R2	R3	Média	Desvio	
P7	10*	80	80	80,0	0,0	Não tóxica
Controle Interno – Ilhabela	100	90	80	90,0	10,0	-

* Célula marcada em amarelo: outlier não considerado nos cálculos

Classificação: **Não tóxica**

Ficha Técnica de Teste de Toxicidade

Tipo de Amostra: Sedimentos – Porto de Santos

Contratante: Consultoria Paulista

Data de início do teste: 13/10/2006 Data de encerramento: 23/10/2006

Responsável: Prof Dr Denis M. S. Abessa

Organismo teste: *Tiburonella viscana* (AMPHIPODA - PLATYISCHNOPIAE)

Origem: Engenho D'Água, Ilhabela, SP Data de coleta: 11/10/2006

Tipo de Teste: agudo

Local: UNESP - Campus do Litoral Paulista

Duração: 10 dias

Identificação da amostra

P8

Estação	pH		Salinidade		OD (mg/L)		Temperatura (°C)		NH3/NH4+ (mg/L)	
	Inicial	Final	Inicial	Final	Inicial	Final	Inicial	Final	Inicial	Final
P8	7,92	8,03	36,0	37,0	5,67	nm	25,0	25,5	0,75	0,25
Controle Interno - Ilhabela	8,03	8,05	35,0	36,0	5,82	nm	25,0	25,5	0,25	0,75

nm = não medido

Amostra	Sobrevivência (%)					Classificação da amostra
	R1	R2	R3	Média	Desvio	
P8	0	70	50	40,0	36,1	Inconclusivo
Controle Interno – Ilhabela	100	90	80	90,0	10,0	-

Classificação: **Resultado Inconclusivo**

Ficha Técnica de Teste de Toxicidade

Tipo de Amostra: Sedimentos – Porto de Santos

Contratante: Consultoria Paulista

Data de início do teste: 13/10/2006 Data de encerramento: 23/10/2006

Responsável: Prof Dr Denis M. S. Abessa

Organismo teste: *Tiburonella viscana* (AMPHIPODA - PLATYISCHNOPIDAE)

Origem: Engenho D'Água, Ilhabela, SP Data de coleta: 11/10/2006

Tipo de Teste: agudo

Local: UNESP - Campus do Litoral Paulista

Duração: 10 dias

Identificação da amostra

P9

Estação	pH		Salinidade		OD (mg/L)		Temperatura (°C)		NH3/NH4+ (mg/L)	
	Inicial	Final	Inicial	Final	Inicial	Final	Inicial	Final	Inicial	Final
P9	7,79	7,86	36,0	37,0	6,17	nm	25,0	25,5	0,25	0,25
Controle Interno - Ilhabela	8,03	8,05	35,0	36,0	5,82	nm	25,0	25,5	0,25	0,75

nm = não medido

Amostra	Sobrevivência (%)					Classificação da amostra
	R1	R2	R3	Média	Desvio	
P9	0	10	30	13,3	15,3	Tóxica
Controle Interno – Ilhabela	100	90	80	90,0	10,0	-

Classificação: **Significativamente tóxica**

Ficha Técnica de Teste de Toxicidade

Tipo de Amostra: Sedimentos – Porto de Santos

Contratante: Consultoria Paulista

Data de início do teste: 13/10/2006 Data de encerramento: 23/10/2006

Responsável: Prof Dr Denis M. S. Abessa

Organismo teste: *Tiburonella viscana* (AMPHIPODA - PLATYISCHNOPIDAE)

Origem: Engenho D'Água, Ilhabela, SP Data de coleta: 11/10/2006

Tipo de Teste: agudo

Local: UNESP - Campus do Litoral Paulista

Duração: 10 dias

Identificação da amostra

P10

Estação	pH		Salinidade		OD (mg/L)		Temperatura (°C)		NH3/NH4+ (mg/L)	
	Inicial	Final	Inicial	Final	Inicial	Final	Inicial	Final	Inicial	Final
P10	8,03	7,87	36,0	37,0	5,32	nm	25,0	25,5	0,25	0,25
Controle Interno - Ilhabela	8,03	8,05	35,0	36,0	5,82	nm	25,0	25,5	0,25	0,75

nm = não medido

Amostra	Sobrevivência (%)					Classificação da amostra
	R1	R2	R3	Média	Desvio	
P10	100	80	90	90,0	10,0	Não tóxica
Controle Interno – Ilhabela	100	90	80	90,0	10,0	-

Classificação: **Não tóxica**

Ficha Técnica de Teste de Toxicidade

Tipo de Amostra: Sedimentos – Porto de Santos

Contratante: Consultoria Paulista

Data de início do teste: 13/10/2006 Data de encerramento: 23/10/2006

Responsável: Prof Dr Denis M. S. Abessa

Organismo teste: *Tiburonella viscana* (AMPHIPODA - PLATYISCHNOPIDAE)

Origem: Engenho D'Água, Ilhabela, SP Data de coleta: 11/10/2006

Tipo de Teste: agudo

Local: UNESP - Campus do Litoral Paulista

Duração: 10 dias

Identificação da amostra

P11

Estação	pH		Salinidade		OD (mg/L)		Temperatura (°C)		NH3/NH4+ (mg/L)	
	Inicial	Final	Inicial	Final	Inicial	Final	Inicial	Final	Inicial	Final
P11	7,87	8,11	35,0	37,0	4,88	nm	25,0	25,5	0,25	0,25
Controle Interno - Ilhabela	8,03	8,05	35,0	36,0	5,82	nm	25,0	25,5	0,25	0,75

nm = não medido

Amostra	Sobrevivência (%)					Classificação da amostra
	R1	R2	R3	Média	Desvio	
P11	40	60	80	60,0	20,0	Não tóxica
Controle Interno – Ilhabela	100	90	80	90,0	10,0	-

Classificação: **Não tóxica**

Ficha Técnica de Teste de Toxicidade

Tipo de Amostra: Sedimentos – Porto de Santos

Contratante: Consultoria Paulista

Data de início do teste: 13/10/2006 Data de encerramento: 23/10/2006

Responsável: Prof Dr Denis M. S. Abessa

Organismo teste: *Tiburonella viscana* (AMPHIPODA - PLATYISCHNOPIDAE)

Origem: Engenho D'Água, Ilhabela, SP Data de coleta: 11/10/2006

Tipo de Teste: agudo

Local: UNESP - Campus do Litoral Paulista

Duração: 10 dias

Identificação da amostra

P12

Estação	pH		Salinidade		OD (mg/L)		Temperatura (°C)		NH3/NH4+ (mg/L)	
	Inicial	Final	Inicial	Final	Inicial	Final	Inicial	Final	Inicial	Final
P12	8,26	8,13	36,0	37,0	5,33	nm	25,0	25,5	0,25	0,25
Controle Interno - Ilhabela	8,03	8,05	35,0	36,0	5,82	nm	25,0	25,5	0,25	0,75

nm = não medido

Amostra	Sobrevivência (%)					Classificação da amostra
	R1	R2	R3	Média	Desvio	
P12	100	70	60	76,7	20,8	Não tóxica
Controle Interno – Ilhabela	100	90	80	90,0	10,0	-

Classificação: **Não tóxica**

Ficha Técnica de Teste de Toxicidade

Tipo de Amostra: Sedimentos – Porto de Santos

Contratante: Consultoria Paulista

Data de início do teste: 13/10/2006 Data de encerramento: 23/10/2006

Responsável: Prof Dr Denis M. S. Abessa

Organismo teste: *Tiburonella viscana* (AMPHIPODA - PLATYISCHNOPIAE)

Origem: Engenho D'Água, Ilhabela, SP Data de coleta: 11/10/2006

Tipo de Teste: agudo

Local: UNESP - Campus do Litoral Paulista

Duração: 10 dias

Identificação da amostra

P13

Estação	pH		Salinidade		OD (mg/L)		Temperatura (°C)		NH3/NH4+ (mg/L)	
	Inicial	Final	Inicial	Final	Inicial	Final	Inicial	Final	Inicial	Final
P13	8,35	8,26	36,0	37,0	4,99	nm	25,0	25,5	1,50	0,25
Controle Interno - Ilhabela	8,03	8,05	35,0	36,0	5,82	nm	25,0	25,5	0,25	0,75

nm = não medido

Amostra	Sobrevivência (%)					Classificação da amostra
	R1	R2	R3	Média	Desvio	
P13	60	70	50	60,0	10,0	Tóxica
Controle Interno – Ilhabela	100	90	80	90,0	10,0	-

Classificação: **Significativamente tóxica**

Ficha Técnica de Teste de Toxicidade

Tipo de Amostra: Sedimentos – Porto de Santos

Contratante: Consultoria Paulista

Data de início do teste: 13/10/2006 Data de encerramento: 23/10/2006

Responsável: Prof Dr Denis M. S. Abessa

Organismo teste: *Tiburonella viscana* (AMPHIPODA - PLATYISCHNOPIDAE)

Origem: Engenho D'Água, Ilhabela, SP Data de coleta: 11/10/2006

Tipo de Teste: agudo

Local: UNESP - Campus do Litoral Paulista

Duração: 10 dias

Identificação da amostra

P14

Estação	pH		Salinidade		OD (mg/L)		Temperatura (°C)		NH3/NH4+ (mg/L)	
	Inicial	Final	Inicial	Final	Inicial	Final	Inicial	Final	Inicial	Final
P14	7,98	7,82	36,0	37,0	5,68	nm	25,0	25,5	0,25	0,25
Controle Interno - Ilhabela	8,03	8,05	35,0	36,0	5,82	nm	25,0	25,5	0,25	0,75

nm = não medido

Amostra	Sobrevivência (%)					Classificação da amostra
	R1	R2	R3	Média	Desvio	
P14	80	80	100	86,7	11,5	Não tóxica
Controle Interno – Ilhabela	100	90	80	90,0	10,0	-

Classificação: **Não tóxica**

Ficha Técnica de Teste de Toxicidade

Tipo de Amostra: Sedimentos – Porto de Santos

Contratante: Consultoria Paulista

Data de início do teste: 13/10/2006 Data de encerramento: 23/10/2006

Responsável: Prof Dr Denis M. S. Abessa

Organismo teste: *Tiburonella viscana* (AMPHIPODA - PLATYISCHNOPIDAE)

Origem: Engenho D'Água, Ilhabela, SP Data de coleta: 11/10/2006

Tipo de Teste: agudo

Local: UNESP - Campus do Litoral Paulista

Duração: 10 dias

Identificação da amostra

P15

Estação	pH		Salinidade		OD (mg/L)		Temperatura (°C)		NH3/NH4+ (mg/L)	
	Inicial	Final	Inicial	Final	Inicial	Final	Inicial	Final	Inicial	Final
P15	8,15	8,38	36,0	37,0	4,87	nm	25,0	25,5	1,50	0,25
Controle Interno - Ilhabela	8,03	8,05	35,0	36,0	5,82	nm	25,0	25,5	0,25	0,75

nm = não medido

Amostra	Sobrevivência (%)					Classificação da amostra
	R1	R2	R3	Média	Desvio	
P15	0	40	50	30,0	26,5	Tóxica
Controle Interno – Ilhabela	100	90	80	90,0	10,0	-

Classificação: **Significativamente tóxica**

REPETIÇÃO DO EXPERIMENTO COM AS AMOSTRAS P6 E P8

Devido aos resultados inconclusivos para as amostras P6 e P8, essas amostras foram testadas novamente, seguindo os mesmos procedimentos descritos anteriormente.

Os resultados do teste com essas amostras estão nas tabelas 5 e 6.

O pH nos frascos testes variou de 7,85 a 8,27, enquanto as salinidades variaram entre 34 e 35. Os níveis de oxigênio dissolvido não puderam ser medidos no início do experimento, mas ao final do teste os teores de OD nas câmaras-teste estiveram entre 5,23 e 5,98. As concentrações de nitrogênio amoniacal variaram de 0,10 a 0,75 mg/L.

De acordo com os resultados, a amostra P6 foi considerada não tóxica para *T. viscana*, enquanto P8 foi considerada significativamente tóxica.

Tabela 5. Parâmetros físico-químicos nas câmaras-teste no experimento refeito com as amostras P6 e P8.

Identificação	pH		Salinidade		OD (mg/L)		Temperatura (°C)		NH3/NH4+ (mg/L)	
	Inicial	Final	Inicial	Final	Inicial	Final	Inicial	Final	Inicial	Final
Controle	7,96	8,27	35,0	35,0	NM	5,55	24,2	25,0	0,25	0,10
P6	7,85	8,01	34,0	35,0	NM	5,98	24,1	25,0	0,50	0,25
P8	7,92	8,00	34,0	35,0	NM	5,23	24,3	25,0	0,75	0,25

NM = Não medido.

Tabela 6. Resultado do teste de toxicidade refeito com as amostras P6 e P8.

ID. da amostra	Sobrevivência (%)						Classificação	<i>p</i>
	R1	R2	R3	R4	Média	Desvio		
Controle	90	90	90	100	92,5	5,0	-	-
P6	60	80	60	100	75,0	19,1	Não tóxica	0,127
P8	60	70	50	70	62,5	9,6	Tóxica	0,001

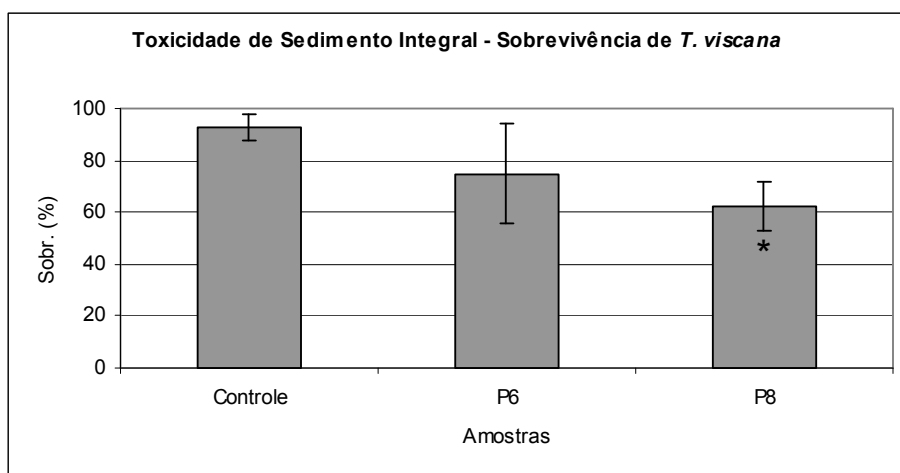


Figura 2. Sobrevivência de *T. viscana* exposto a sedimentos provenientes do Porto de Santos – amostras P6 e P8.

Ficha Técnica de Teste de Toxicidade

Tipo de Amostra: Sedimentos – Porto de Santos

Contratante: Consultoria Paulista

Data de início do teste: 27/10/2006 Data de encerramento: 06/11/2006

Responsável: Prof Dr Denis M. S. Abessa

Organismo teste: *Tiburonella viscana* (AMPHIPODA - PLATYISCHNOPIDAE)

Origem: Engenho D'Água, Ilhabela, SP Data de coleta: 25/10/2006

Tipo de Teste: agudo

Local: UNESP - Campus do Litoral Paulista

Duração: 10 dias

Identificação da amostra

P6

Estação	pH		Salinidade		OD (mg/L)		Temperatura (°C)		NH3/NH4+ (mg/L)	
	Inicial	Final	Inicial	Final	Inicial	Final	Inicial	Final	Inicial	Final
P6	7,85	8,01	34,0	35,0	NM	5,98	24,1	25,0	0,50	0,25
Controle Interno - Ilhabela	7,96	8,27	35,0	35,0	NM	5,55	24,2	25,0	0,25	0,10

NM = não medido

ID. da amostra	Sobrevivência (%)						Classificação	<i>p</i>
	R1	R2	R3	R4	Média	Desvio		
Controle	90	90	90	100	92,5	5,0	-	-
P6	60	80	60	100	75,0	19,1	Não tóxica	0,127

Classificação: **Não tóxica**

Ficha Técnica de Teste de Toxicidade

Tipo de Amostra: Sedimentos – Porto de Santos

Contratante: Consultoria Paulista

Data de início do teste: 27/10/2006 Data de encerramento: 06/11/2006

Responsável: Prof Dr Denis M. S. Abessa

Organismo teste: *Tiburonella viscana* (AMPHIPODA - PLATYISCHNOPIDAE)

Origem: Engenho D'Água, Ilhabela, SP Data de coleta: 25/10/2006

Tipo de Teste: agudo

Local: UNESP - Campus do Litoral Paulista

Duração: 10 dias

Identificação da amostra

P8

Estação	pH		Salinidade		OD (mg/L)		Temperatura (°C)		NH ₃ /NH ₄ ⁺ (mg/L)	
	Inicial	Final	Inicial	Final	Inicial	Final	Inicial	Final	Inicial	Final
P8	7,92	8,00	34,0	35,0	NM	5,23	24,3	25,0	0,75	0,25
Controle Interno - Ilhabela	7,96	8,27	35,0	35,0	NM	5,55	24,2	25,0	0,25	0,10

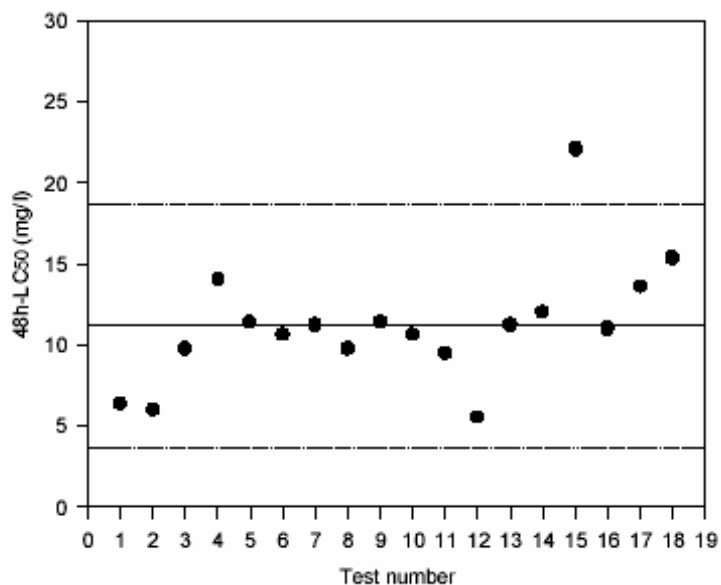
NM = não medido

ID. da amostra	Sobrevivência (%)						Classificação	p
	R1	R2	R3	R4	Média	Desvio		
Controle	90	90	90	100	92,5	5,0	-	-
P8	60	70	50	70	62,5	9,6	Tóxica	0,001

Classificação: **Significativamente Tóxica**

Anexo: Cartas-Controle obtidas para *T. viscana* e dicromato de potássio.

1) Carta- controle obtida por Abessa & Sousa (2003), cuja CL50-48h média foi de $11,217 \pm 3,768$ mg/L $K_2Cr_2O_7$ e a faixa de sensibilidade estimada para a espécie foi de 3,68 a 18,75 mg/L.



2) Carta-controle parcial para *T. viscana* e $K_2Cr_2O_7$, atualmente em construção, cuja CL50-48h média é de $10,11 \pm 2,34$ mg/L, e a faixa de sensibilidade estimada está entre 5,43 e 14,79 mg/L.

