

**ENSAIO DE TOXICIDADE COM O PRODUTO FONGRABAC THPS
UTILIZANDO *Lytechinus variegatus* (ECHINODERMATA-ECHINOIDEA)**

SOLICITANTE:

Petróleo Brasileiro S.A. - PETROBRAS
UN-BC/SMS
Av. Elias Agostinho, 665 – Imbetiba
Macaé, RJ, CEP 27913-350
Tel: (22) 2761-5574

Técnico solicitante: Aldo de Brito Magalhães
E-mail: abm@petrobras.com.br

EXECUTADO POR:

LABTOX – Laboratório de Análise Ambiental Ltda
Av. 24, s/nº - Pólo Bio-Rio - Laboratório 4
Cidade Universitária – Ilha do Fundão CEP: 21941-590
Tel: (21) 3867-5651 / 3867-5501 ramal 220
e-mail: labtox@labtox.com.br

Laudos 2665 LVC

Rio de Janeiro

LAUDO DE TOXICIDADE

DADOS DO ENSAIO

Avaliação solicitada: Ensaio Embriolarval

Organismo-teste: *Lytechinus variegatus*

Tipo de ensaio: Crônico de curta duração

Tempo de exposição: 24 a 28 horas

Resposta do ensaio: Efeito no desenvolvimento embriolarval (retardamento e/ou ocorrência de anomalias)

VALIDADE DO ENSAIO

Desenvolvimento embriolarval no controle: $\geq 80\%$

Sensibilidade do lote de organismos utilizados, à substância de referência, dentro da faixa estabelecida pelo Labtox

Substância de referência: DSS (Dodecil sulfato de sódio)

Faixa de sensibilidade dos organismos: $CI_{50}(I): 1,46 - 1,94 \text{ mg.L}^{-1}$ (21/02/2006)

DADOS DA AMOSTRA

Identificação da amostra pelo solicitante: Produto Fongrabac THPS

Código de entrada no Labtox: L266506

Data de entrada no Labtox: 24/07/2006

Data de início do ensaio: 27/07/2006

Data de término do ensaio: 28/07/2006

| RESULTADOS | |
|--|---------------------|
| CENO 0,03 ppm | CEO 0,06 ppm |
| VC 0,04 ppm | |
| Controle: 84,5% de pluteus | |
| Ensaio com DSS (27/07/2006): $2,12 \text{ mg.L}^{-1}$ (IC: $2,05 - 2,21 \text{ mg.L}^{-1}$) | |

IC: Intervalo de confiança

1 – OBJETIVO

Este ensaio, realizado em 27 de julho de 2006, teve como objetivo determinar a toxicidade crônica de curta duração do produto Fongrabac THPS, sobre os embriões do ouriço-do-mar *Lytechinus variegatus*.

2 – METODOLOGIA

A determinação da toxicidade crônica em relação à *L. variegatus* seguiu a metodologia descrita em NBR 15.350 (ABNT, 2006), com adaptações. O ensaio consiste na exposição dos ovos a diferentes diluições do produto, avaliando-se a solução-teste que causa retardamento no desenvolvimento embrionário e/ou anomalias nos organismos expostos, nas condições de ensaio.

ANÁLISE ESTATÍSTICA

O valor de CENO (maior concentração utilizada que não causa efeito significativamente diferente do controle) e CEO (menor concentração utilizada que causa efeito significativamente diferente do controle) foi obtido através do teste de Williams utilizando-se o programa estatístico TOXSTAT versão 3.3 (Gulley *et al.*, 1991).

Após a obtenção destes valores, foi calculado o VC (valor crônico), que representa a média geométrica de CENO e CEO.

PREPARO DA AMOSTRA

Foi preparada uma solução-estoque de 1.000 ppm (solução 1), avolumando-se 0,1 mL do produto para 100 mL com água do mar. A partir desta solução foi preparada uma solução-estoque de 10 ppm (solução 2), avolumando-se 2,5 mL da solução 1 para 250 mL com água do mar. A partir da solução 2 foram preparadas as seguintes soluções-teste: 0,008; 0,016; 0,03; 0,06; 0,12; 0,25; 0,5 e 1,0 ppm.

RESUMO DAS CONDIÇÕES DE ENSAIO

| | |
|--|---|
| Tipode ensaio..... | crônico |
| Temperatura de incubação..... | 25 ± 1° C |
| Fotoperíodo..... | 12:12h luz e escuro |
| Frasco-teste..... | tubos de ensaio |
| Volume de solução-teste..... | 10 mL |
| Origem dos organismos..... | gametas obtidos de organismos coletados no campo |
| Nº de organismos / frasco..... | 300 ovos |
| Nº de réplicas / solução-teste..... | 04 |
| Nº de soluções-teste..... | 8 + 1 controle* |
| Água de diluição..... | água do mar natural filtrada |
| Salinidade das soluções-teste..... | 36 ‰ |
| pH das soluções-teste:..... | 8,21 a 8,30 |
| Oxigênio dissolvido das soluções-teste:..... | 5,24 a 5,99 |
| Duração do ensaio..... | 25 horas |
| Resposta..... | retardamento no desenvolvimento embrionarval ou anomalias |
| Expressão do resultado..... | CENO, CEO e VC |
| Método de cálculo..... | Toxstat (Gulley <i>et al.</i> , 1991) |

*Controle: exposição do organismo à água de diluição (água do mar natural) nas mesmas condições da amostra.

3 – RESULTADOS

Os dados brutos da contagem do número de pluteus normais e mal formados e/ou com atraso no desenvolvimento são apresentados na tabela I.

Os valores máximos e mínimos de oxigênio dissolvido, pH e salinidade medidos no início e ao final do ensaio, encontram-se na lista de resumo das condições de ensaio.

Tabela I: Número de pluteus normais e mal formados de *L. variegatus* obtidos nas diferentes soluções-teste no ensaio conduzido com o produto Fongrabac THPS.

| Soluções-teste (ppm) | Número de pluteus | | Soluções-teste (ppm) | Número de pluteus | |
|----------------------|-------------------|--------------|----------------------|-------------------|--------------|
| | Normais | Mal formados | | Normais | Mal formados |
| Controle | 82 | 18 | 0,12* | 0 | 100 |
| | 84 | 16 | | 0 | 100 |
| | 87 | 13 | | 0 | 100 |
| | 85 | 15 | | 0 | 100 |
| 0,008 | 90 | 10 | 0,25* | 0 | 100 |
| | 85 | 15 | | 0 | 100 |
| | 90 | 10 | | 0 | 100 |
| | 88 | 12 | | 0 | 100 |
| 0,016 | 86 | 14 | 0,5* | 0 | 100 |
| | 83 | 17 | | 0 | 100 |
| | 87 | 13 | | 0 | 100 |
| | 91 | 09 | | 0 | 100 |
| 0,03 | 91 | 09 | 1,0* | 0 | 100 |
| | 89 | 11 | | 0 | 100 |
| | 90 | 11 | | 0 | 100 |
| | 87 | 13 | | 0 | 100 |
| 0,06* | 33 | 67 | | | |
| | 37 | 63 | | | |
| | 42 | 58 | | | |
| | 40 | 60 | | | |

* Significativamente diferente do controle.

ANÁLISE ESTATÍSTICA

Transform: NO TRANSFORMATION

WILLIAMS TEST (Isotonic regression model) TABLE 2 OF 2

| IDENTIFICATION | ISOTONIZED MEAN | CALC. WILLIAMS | SIG P=.05 | TABLE WILLIAMS | DEGREES OF FREEDOM |
|----------------|-----------------|----------------|-----------|----------------|--------------------|
| Controle | 0.129 | | | | |
| 0.008 | 0.129 | 1.329 | | 1.75 | k= 1, v=15 |
| 0.016 | 0.129 | 1.329 | | 1.84 | k= 2, v=15 |
| 0.03 | 0.129 | 1.329 | | 1.87 | k= 3, v=15 |
| 0.06 | 0.620 | 23.546 | * | 1.88 | k= 4, v=15 |

s = 0.028

Note: df used for table values are approximate when v > 20.

GARANTIA DOS RESULTADOS

Os dados apresentados nesse laudo são confidenciais e referem-se unicamente aos resultados obtidos no ensaio com a amostra acima citada. Os dados brutos encontram-se à disposição da Empresa solicitante no Labtox.

Este laudo só pode ser reproduzido por completo. A reprodução de partes deste, só pode ser realizada com autorização escrita do Labtox.

4 - REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABNT - Associação Brasileira de Normas Técnicas. 2006. Ecotoxicologia Aquática – Toxicidade crônica de curta duração – Método de Ensaio com ouriço-do-mar (Echinodermata:Echinoidea). NBR 15350, 17p.

Gulley,D.D.; Boelter,A.M.; Bergman,H.L. 1991. “*TOXSTAT Realease 3.3*”, Laramie, WY University of Wyoming, 19 p.

5- EQUIPE TÉCNICA

DIRETORAS:

MSc Leila Aparecida da Silva Kraus - CRBio-2 - 12156/02

Dra. Marcia Vieira Reynier - CRBio-2 - 07135/02

Dra. Maria Cristina da Silva Maurat - CRBio-2 - 12671/02

BIÓLOGAS:

Carina C. Gomes Machado - CRBio-2 – 32963/02

Desideria Lima Calleja - CRBio-2 – 38219/02 P

Gabriele A. Correa da Rocha – CRBio-2 – 42496/02 P

Viviane Euzébio Luiz – CRBio-2 – 42.535/02

ELABORADO POR:

Dra. Marcia Vieira Reynier



REVISADO POR:

MSc Leila Aparecida da Silva Kraus



Rio de Janeiro, 08 de agosto de 2006.