



UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO DE JANEIRO

INSTITUTO DE BIOLOGIA  
DEPARTAMENTO DE ZOOLOGIA

TESTE DE TOXICIDADE COM A AMOSTRA DE CÓDIGO LET 2343  
(MÉTODO TARZWELL) COM *Mysidopsis juniae* (CRUSTACEA-MYSIDACEA)

Solicitante:

SEAMB/CENPES/PETROBRAS  
Centro de Pesquisa Leopoldo Miguez de Mello  
Ilha do Fundão - Cidade Universitária - Q7  
Tel: (21) 3865-6100

Executado por:

Laboratório de Ecotoxicologia  
Departamento de Zoologia - Instituto de Biologia  
Universidade Federal do Rio de Janeiro/Fundação Universitária José Bonifácio

Teste nº 469

Projeto: FUJB nº 4096-7 (avulsos)

Tel: (21) 2562 - 6365

Rio de Janeiro



UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO DE JANEIRO

INSTITUTO DE BIOLOGIA  
DEPARTAMENTO DE ZOOLOGIA

LAUDO DE TOXICIDADE

Órgão requisitante: Petróleo Brasileiro S.A. - PETROBRAS

Técnico requisitante: Ana Paula Falcão

Endereço: Centro de Pesquisa Leopoldo Miguez de Mello Ilha do Fundão Cidade  
Universitária Q7

Telefone: (21) 3865 6100

Avaliação solicitada: Teste de toxicidade aguda com microcrustáceo misidáceo

Organismo teste: *Mysidopsis juniae*

Tipo de teste: Agudo

Resposta do teste: Efeitos sobre a SOBREVIVÊNCIA

Responsável pelo preparo da amostra: CENPES / Seamb

Identificação da amostra pelo solicitante: Amostra Cód. Let. 2343 (Método Tarzwell)  
Data: 14/12/2001

Composição da amostra: Bulab 9602 200 ppm

Código de entrada no Laboratório de Ecotoxicologia: 141201 UFRJ

RESULTADO DEFINITIVO
CL50; 96 horas > 93,65%
(não foi observado efeito agudo em <i>M. juniae</i> )
Sobrevivência no controle: 90%
Padrão (Zinco): 0,34 mg/L (IC = 0,30 – 0,38 mg/L)



UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO DE JANEIRO

INSTITUTO DE BIOLOGIA  
DEPARTAMENTO DE ZOOLOGIA

## 1 - OBJETIVO

O objetivo deste teste, realizado em 07 de janeiro de 2002, foi de verificar a toxicidade aguda do produto referente ao Código do Let 2343 (Método Tarzwell) sobre o microcrustáceo *Mysidopsis juniae*.

## 2 - METODOLOGIA

A determinação da toxicidade aguda em relação à *M. juniae* seguiu a metodologia descrita em Reynier (1996), modificada.

Jovens de *M. juniae* com 1 a 4 dias de idade, foram expostos a diferentes concentrações do produto, num sistema estático por um período de 96 horas.

A toxicidade foi medida em termos de efeitos sobre a sobrevivência, em leituras do teste a cada 24 horas.

São consideradas não tóxicas amostras que apresentam o máximo de 20% de mortalidade na concentração de 100%.

A cada série de amostra testada é realizado um teste de toxicidade com o padrão, zinco (Zn), na forma de sulfato de zinco heptahidratado, com o objetivo de verificar se os organismos estão respondendo dentro da faixa de toxicidade previamente estabelecida.

*msl*



UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO DE JANEIRO

INSTITUTO DE BIOLOGIA  
DEPARTAMENTO DE ZOOLOGIA

### RESUMO DAS CONDIÇÕES DE TESTE

Tipo de teste: -----	estático sem renovação, com aeração
Temperatura de incubação: -----	25 ± 0,5 °C
Luminosidade: -----	12 horas claro/12 horas escuro
Frasco teste: -----	béquer de 400 mL
Volume de solução teste: -----	300 mL
Origem dos organismos: -----	Cultivo Lab. Ecotoxicologia UFRJ
Idade dos organismos: -----	1 a 4 dias
Nº de organismos / frasco: -----	10
Nº de réplicas / concentração: -----	3
Nº de diluições: -----	8 + 1 controle *
Alimentação: -----	30 náuplios de <i>Artemia</i> sp. recém eclodidos/ misidáceo/dia
Água de diluição: -----	água do mar natural filtrada
Salinidade da água: -----	35 ± 1‰
Duração do teste: -----	96 horas
Resposta: -----	mortalidade
Valor medido: -----	CL50; 96h (concentração letal a 50% dos Organismos em teste em um período de 96h)
Método de cálculo: -----	Trimmed Spearman-Kärber (Hamilton <i>et al.</i> , 1977)

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

MSD



# UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO DE JANEIRO

INSTITUTO DE BIOLOGIA  
DEPARTAMENTO DE ZOOLOGIA

## PREPARO DA AMOSTRA

O preparo da amostra (solução estoque) foi realizado pelo Laboratório de Ecotoxicologia do Cenpes/Seamb. A solução estoque (100%) teve sua salinidade ajustada de 31‰ para 35‰, passando a uma solução de 93,65%. A partir desta solução, foram retiradas alíquotas para as soluções-teste, sendo testadas as seguintes concentrações: 0,01; 0,1; 1; 10; 30; 50; 70 e 93,65% (fichas em anexo).

## VALIDADE DO TESTE

O teste é considerado válido quando o percentual de mortalidade no controle é menor ou igual a 10% e, a resposta (CL50) ao zinco estiver dentro da faixa de sensibilidade prevista. A faixa de toxicidade com o padrão zinco (0,20 – 0,36 mg/L) foi estabelecida para esta espécie pelo Laboratório de Ecotoxicologia da Companhia de Tecnologia de Saneamento Ambiental - CETESB.

## 3 - RESULTADOS

A tabela 1 apresenta o percentual de misidáceos mortos e o número de misidáceos vivos durante a leitura realizada a cada 24 horas nas diferentes concentrações testadas. A amostra de código do LET 2343 (Método Tarzwell) não apresentou efeito agudo para *Mysidopsis juniae* ocorrendo ao final de 96 horas, em todas as concentrações testadas, sobrevivência superior a 80%. A sobrevivência no controle foi de 90%.

Os resultados de salinidade, pH e oxigênio dissolvido, medidos no início e no final do teste nas diferentes concentrações, encontram-se listados na ficha em anexo.

O resultado da CL50; 96h obtido com o zinco foi 0,34 mg/L (IC = 0,30 – 0,38 mg/L).


**UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO DE JANEIRO**

 INSTITUTO DE BIOLOGIA  
 DEPARTAMENTO DE ZOOLOGIA

Tabela 1 - Resultados de sobrevivência e do percentual de mortalidade de misidáceos durante a leitura realizada a cada 24 horas, no teste conduzido com a amostra Cód. Let 2343 (Método Tarzwell).

Concentração da amostra (%)	Número de misidáceos vivos					Mortalidade após 96h (%)
	0 h	24h	48h	72h	96h	
Controle	10	9	9	9	9	10
	10	9	8	8	8	
	10	10	10	10	10	
0.01	10	10	10	10	10	0
	10	10	10	10	10	
	10	10	10	10	10	
0.1	10	10	10	10	10	0
	10	10	10	10	10	
	10	10	10	10	10	
1.0	10	10	10	10	10	0
	10	10	10	10	10	
	10	10	10	10	10	
10.0	10	8	8	8	8	6,6
	10	10	10	10	10	
	10	10	10	10	10	
30.0	10	10	10	9	9	3,3
	10	10	10	10	10	
	10	10	10	10	10	
50.0	10	10	10	10	10	0
	10	10	10	10	10	
	10	10	10	10	10	
70.0	10	10	10	10	10	0
	10	10	10	10	10	
	10	10	10	10	10	
93.65	10	10	10	10	10	0
	10	10	10	10	10	
	10	10	10	10	10	



UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO DE JANEIRO

INSTITUTO DE BIOLOGIA  
DEPARTAMENTO DE ZOOLOGIA

#### 4 - CONCLUSÃO

O resultado obtido com o padrão encontra-se dentro da faixa estabelecida para a espécie.

A sobrevivência no controle (90%) e os resultados obtidos nas análises químicas validam o teste realizado. A amostra de Código do Let 2343 (Método Tarzwell) não apresentou efeito agudo para *Mysidopsis juniae*, nas condições de teste.

#### 5 - REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS:

- Hamilton, M.; Russo, R.C. & Thurston, R.V. Trimmed Spearman-Kärber Method for estimating median lethal concentrations in toxicity bioassays. *Environmental Science & Technology*, 1977, vol. 11, nº 7.
- Reynier, M.V. 1996. Aspectos do ciclo de vida de *Mysidopsis juniae* (Dana, 1852) (Crustacea – Mysidacea) e um estudo sobre a sua adequação para testes de toxicidade com hidrocarbonetos. Dissertação de Mestrado. Escola de Engenharia de São Carlos, USP, São Paulo, 95p.

Rio de Janeiro, 13 de janeiro de 2002.

  
 \_\_\_\_\_  
 Marcia Vieira Reynier  
 CRB-2 - 07135/02



UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO DE JANEIRO

INSTITUTO DE BIOLOGIA  
DEPARTAMENTO DE ZOOLOGIA

EQUIPE TÉCNICA:

Biólogas:

MSc Marcia Vieira Reynier CRB-2 - 07135/02

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

MSc Maria Cristina da Silva Maurat CRB-2 - 12671/02

Dra. Ana Cristina Teixeira Bonecker CRB-2 07.237/02-D

Técnicas:

Priscila Reis da Silva  
Viviane Euzébio Luiz



ANEXOS



UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO DE JANEIRO  
INSTITUTO DE BIOLOGIA - DEPARTAMENTO DE ZOOLOGIA  
LABORATÓRIO DE ECOTOXICOLOGIA

TESTE Nº 469 Operador(es): Viviane, Isabela

Espécie: H. JUNIAE

ORIGEM DOS ORGANISMOS			
Cultivo <input checked="" type="checkbox"/>	Fonte:	<u>laboratório de Ecotoxicologia - UFRJ</u>	
Campo ( )	Local de coleta:	Temperatura:	°C
/	Data:	Salinidade:	‰
/	/	/	/

MANUTENÇÃO DOS ORGANISMOS:	
Alimento: náuplios de <i>Artemia</i> sp. <i>ad libitum</i>	Temperatura: <u>25 ± 1</u> °C
Tempo de cultivo: <u>4</u> dias	Salinidade: <u>35 ± 1</u> ‰
Idade dos organismos: <u>1 a 4</u> dias	Fotoperíodo: 12:12h

TESTE		
INÍCIO	Data: <u>07/10/10</u>	Hora: <u>10 h 00 min</u>
TÉRMINO	Data: <u>11/01/2007</u>	Hora: <u>10 h 30 min.</u>
Preliminar ( )	Estático: <input checked="" type="checkbox"/>	Com aeração: <input checked="" type="checkbox"/>
Definitivo <input checked="" type="checkbox"/>	Semi-estático ( ) Renovação: _____ h.	Sem aeração: ( )



UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO DE JANEIRO  
INSTITUTO DE BIOLOGIA - DEPARTAMENTO DE ZOOLOGIA  
LABORATÓRIO DE ECOTOXICOLOGIA

AMOSTRA				
Descrição: COD. DO LET: 2343 - TARZ WELL - BULAB 9602 (200 ppm)				
Código de entrada no laboratório: 141201		Data de entrada: 14/12/01		Salinidade: sem ajuste: ( ) com ajuste (X) <u>31</u> ‰
Ajuste da salinidade				
Volume de água destilada: — mL	Volume salmoura <u>57,14</u> mL	Volume de amostra: <u>842,86</u> mL	Salinidade final da amostra <u>35</u> ‰	Concentração final da amostra: <u>93,65</u> ‰
pH: da amostra (X) sem ajuste ( ) com ajuste — μL de —			pH final <u>8,08</u>	
Salmoura: Método <u>congelamento</u> Salinidade: <u>94</u> ‰ pH <u>8,31</u>				

ÁGUA DE DILUIÇÃO		
Fonte: Angra dos Reis	Data da coleta ou preparo: <u>29 / 11 / 01</u>	
Salinidade: <u>34</u> ‰	Oxigênio dissolvido: — mg/L	pH: <u>8,73</u>

Volume da solução-teste por béquer: 300 mL

Nº de organismos por béquer: 10

Nº de réplicas por concentração: 03





# UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO DE JANEIRO

INSTITUTO DE BIOLOGIA - DEPARTAMENTO DE ZOOLOGIA  
LABORATÓRIO DE ECOTOXICOLOGIA

## ACOMPANHAMENTO DO TESTE

TESTE Nº 469

bêquer nº	Nº de org. mortos				bêquer nº	Nº de org. mortos			
	24h	48h	72h	96h		24h	48h	72h	96h
130	1	∅	∅	∅	181	∅	∅	∅	∅
131	1	1	∅	∅	182	∅	∅	∅	∅
132	∅	∅	∅	∅	183	∅	∅	∅	∅
165	∅	∅	∅	∅	184	∅	∅	∅	∅
166	∅	∅	∅	∅	185	∅	∅	∅	∅
167	∅	∅	∅	∅	186	∅	∅	∅	∅
168	∅	∅	∅	∅	187	∅	∅	∅	∅
169	∅	∅	∅	∅	188	∅	∅	∅	∅
170	∅	∅	∅	∅					
171	∅	∅	∅	∅					
172	∅	∅	∅	∅					
173	∅	∅	∅	∅					
174	2	∅	∅	∅					
175	∅	∅	∅	∅					
176	∅	∅	∅	∅					
177	∅	∅	1	∅					
178	∅	∅	∅	∅					
179	∅	∅	∅	∅					
180	∅	∅	∅	∅					

Concentração de alimento: 30 náuplios de *Artêmia* sp. por misidáceo/dia.

Volume da solução de *Artêmia* sp.: 0h 39 µL 24h 34 µL  
48h 27 µL 72h 76 µL



UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO DE JANEIRO  
 INSTITUTO DE BIOLOGIA - DEPARTAMENTO DE ZOOLOGIA  
 LABORATÓRIO DE ECOTOXICOLOGIA

REGISTRO DE DADOS

TESTE Nº 469

Conc. nominal (ppm, % ou mg/L)	réplica 1		réplica 2		réplica 3		réplica 4		Total de mortos	Mortalidade %
	M	V	M	V	M	V	M	V		
0,0	1	9	2	8	0	10			3	10
0,01	0	10	0	10	0	10			0	0
0,1	0	10	0	10	0	10			0	0
1,0	0	10	0	10	0	10			0	0
10	2	8	0	10	0	10			2	6,6
30	1	9	0	10	0	10			1	3,3
50	0	10	0	10	0	10			0	0
70	0	10	0	10	0	10			0	0
93,65	0	10	0	10	0	10			0	0

M = número de organismos mortos  
 V = número de organismos vivos

Sobrevivência no controle: 90 %

Obs:

RANDOMIZAÇÃO DE BÉQUERES

Concentração (%)	Béquer nº	Concentração (%)	Béquer nº
0,0	130-132	30	177-179
0,01	165-167	50	180-182
0,1	168-170	70	183-185
1,0	171-173	93,65	186-188
10	174-176		