

SEDIMENTOS MARINHOS

Teste de Toxicidade Aguda com *Leptocheirus plumulosus*

Relatório Final

MÉTODO DE REFERÊNCIA:	USEPA Methods for assessing the toxicity of sediment-associated contaminants with estuarine and marine amphipods. EPA-600/R-94/025. Cincinnati, U. S. Environmental Protection Agency, 156 p., 1994.
AUTOR:	David Cachattori (BSc)
DATA DE FINALIZAÇÃO DO ESTUDO:	14 de Novembro de 2009
LABORATÓRIO EXECUTOR:	TECAM Tecnologia Ambiental Ltda. Rua Fábria, 59 - 05051-030 São Paulo, SP - Brasil
IDENTIFICAÇÃO:	Número do Relatório: RL3798/2009 – 1.1LEP Número do Estudo: 3798/2009 – 1.1LEP
PATROCINADOR:	CONSULTORIA PAULISTA DE ESTUDOS AMBIENTAIS LTDA – EPP. Pç D. Idílio J. Soares, 42 – Cj 101 Cep:11013 - 927 Santos – SP.

Este relatório cancela e substitui o relatório nº 3798/2009 – 1.0LEP

ÍNDICE

DECLARAÇÃO DE CONFORMIDADE DO ESTUDO.....	3
INTRODUÇÃO.....	4
MATERIAIS E MÉTODOS.....	4
1. Dados das amostras	4
2. Dados dos organismos-teste.....	4
3. Condições de teste.....	4
4. Aclimação e controle de sensibilidade	5
5. Procedimentos	5
6. Análises estatísticas.....	6
RESULTADOS	6
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	7
TABELAS.....	8

DECLARAÇÃO DE CONFORMIDADE DO ESTUDO

O presente estudo com as amostras de **SEDIMENTOS MARINHOS**, requerido pela empresa **CONSULTORIA PAULISTA DE ESTUDOS AMBIENTAIS LTDA – EPP**, foi conduzido dentro dos preceitos estabelecidos pelo Sistema de Qualidade do Tecam. O relatório final representa um registro preciso e verdadeiro dos resultados obtidos e contém informações estritamente confidenciais. Os dados brutos do estudo encontram-se à disposição da empresa solicitante no endereço do **TECAM – TECNOLOGIA AMBIENTAL LTDA**, à Rua Fábria, 59 - São Paulo – SP.



DAVID CACHATTORI**Biólogo (BSc)****CRBio 68003/01-D**14/11/09

**CONSULTORIA PAULISTA DE ESTUDOS
AMBIENTAIS LTDA – EPP****Patrocinador**

INTRODUÇÃO

O objetivo deste estudo foi determinar a toxicidade aguda das amostras de **SEDIMENTOS MARINHOS** para o anfípodo *Leptocheirus plumulosus*, baseados na mortalidade dos organismos após 10 dias de exposição.

MATERIAIS E MÉTODOS

A metodologia utilizada para a execução do teste segue os procedimentos recomendados pela USEPA (1994).

1. Dados das amostras

Amostra	Protocolo TECAM	Data de Entrada	Data de Coleta	Local de Coleta
Sedimento - PS-44-S	3798/2009-1.1	20/04/2009	14/04/2009	Canal do Porto de Santos
Sedimento - PS-21-S	3799/2009-1.1	20/04/2009	14/04/2009	Canal do Porto de Santos
Sedimento - PS-42-S	3804/2009-1.1	20/04/2009	16/04/2009	Canal do Porto de Santos
Sedimento - PS-35-S	3805/2009-1.1	20/04/2009	16/04/2009	Canal do Porto de Santos
Sedimento - PS-36-S	3869/2009-1.1	23/04/2009	14/04/2009	Canal do Porto de Santos

Acondicionamento: saco plástico, sob refrigeração.

2. Dados dos organismos-teste

Data de entrada dos animais: 04/05/2009.

Idade/tamanho: jovens com tamanho entre 500µm e 1000µm.

3. Condições de teste

Data de início: 05/05/2009.

Data de término: 15/05/2009.

Temperatura média da água: 26,0 ± 0,5°C.

Fotoperíodo: iluminação constante.

Renovação do meio: sem renovação (teste estático).

Aeração: sim.

Água de diluição: água marinha sintética preparada a partir de sal comercial marca CORAL REEF RED SEA SALT[®], com salinidade de 20‰.

Sedimento-controle: sedimento coletado em São Sebastião (SP) em 21/04/2009 e filtrado em rede com abertura de malha de 250 μ m.

4. Aclimação e controle de sensibilidade

Para o presente estudo a espécie utilizada foi *Leptocheirus plumulosus* (Amphipoda, Corophiidae). Os animais foram obtidos de um criador especializado e foram aclimatados sob as mesmas condições de qualidade da água, temperatura e fotoperíodo do teste.

Simultaneamente aos testes com as amostras de sedimento, foi realizado um teste com a substância de referência, sulfato de zinco. A concentração letal mediana (CL50; 96h) e respectivo intervalo de confiança obtidos foram: 0,76 mg Zn/L (I.C.: 0,60 a 0,96 mg Zn/L). A carta-controle de sensibilidade desse sistema-teste no Tecam (Anexo I), utilizando dados acumulados de vários testes, indica uma CL50; 96h média de 0,71 mg Zn/L, com limites de controle (média \pm 2.desvio padrão) de 0,11 a 1,30 mg Zn/L. O valor obtido está dentro da faixa definida de avaliação do sistema-teste.

5. Procedimentos

Os testes foram realizados utilizando-se cinco réplicas para cada amostra. Foram transferidas alíquotas de cerca de 175 mL de sedimento em cada frasco-teste e adicionados 400mL de água de diluição com auxílio de um disco plástico para minimizar a ressuspensão dos sedimentos. Em cada frasco foi introduzida aeração suave na superfície da água e o conjunto foi mantido sob repouso por 24 horas antes do início do teste.

Animais em boas condições foram distribuídos aleatoriamente nos frascos-teste, sendo utilizados dez animais em cada réplica. Grupos de dez animais em cinco réplicas foram colocados em um sedimento-controle, utilizado no cultivo dos animais.

Ao final de 10 dias de exposição, o sedimento contido em cada réplica foi peneirado através de uma peneira com abertura de malha de 0,5 mm para o encerramento dos testes. Os organismos sobreviventes ao final do teste foram contados e os organismos não encontrados foram considerados mortos.

Nos dias 0, 3, 8 e 10 foram realizadas análises de pH, salinidade e teor de oxigênio dissolvido da água de interface do controle e de cada amostra. As alíquotas de água para essas análises foram cuidadosamente coletadas na interface água/sedimento, cerca de 1

cm acima da superfície do sedimento, formando uma amostra composta por alíquotas de cada réplica.

Foi preparada uma réplica adicional do controle e de cada amostra, sem adição de animais, para realização de análises de pH, salinidade, teor de oxigênio dissolvido da água intersticial do sedimento no início e no final dos testes, além de nitrogênio amoniacal e amônia não ionizada, no início do teste. Estas amostras de água intersticial foram obtidas através da centrifugação do sedimento por 30 minutos a 3500rpm.

Os valores de amônia não ionizada foram obtidos por cálculo a partir dos valores de nitrogênio amoniacal, pH, salinidade e temperatura de cada amostra, conforme descrito por Bower & Bidwell (1978).

6. Análises estatísticas

Após 10 dias de exposição, a mortalidade dos organismos das amostras foi comparada com a do controle, utilizando-se as seguintes análises estatísticas:

- Teste de normalidade do Chi-Quadrado (Zar, 1999);
- Teste-F para homogeneidade de variância (Zar, 1999), e
- Teste de hipóteses por bioequivalência (Erickson e McDonald, 1995), com aplicação da constante de proporcionalidade (“r”) de 0,80, calculada para a espécie *Leptocheirus plumulosus* (Prósperi *et al*, 2008).

RESULTADOS

Os resultados dos testes com as amostras de **SEDIMENTOS MARINHOS** estão apresentados na Tabela 1. Os valores obtidos estão dentro da faixa estabelecida para a aceitação dos resultados.

Com relação às análises químicas realizadas durante os testes, os valores de oxigênio dissolvido, salinidade, pH, nitrogênio amoniacal e amônia não ionizada da água de interface e da água intersticial estão apresentados nas Tabelas 2 e 3. Os resultados obtidos indicam uma qualidade aceitável da água de interface e da água intersticial durante o período de teste.

Quanto à concentração de amônia não ionizada da água intersticial no início do teste, os valores obtidos foram inferiores ao limite de 0,8 mg/L aceito para essa espécie (USEPA, 2001).

Foi verificado que as amostras de sedimento não apresentaram toxicidade aguda para *L. plumulosus* em comparação com o controle, após 10 dias de exposição.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Bower, C.E.; Bidwell, J.P. Ionization of ammonia in seawater: effects of temperature, pH and salinity. **J. Fish. Res. Board. Can.**, n. 35, p. 1012-1016, 1978.

Erickson, W.P.; McDonald, L.L. Tests for bioequivalence of control media and test media in studies of toxicity. **Environ. Toxicol. Chem.**, v. 14, p. 1274-1256, 1995.

Prósperi, V. A.; Romanelli, M. F.; Buratini, S. V.; Cachattori, D. ; Sáfadi, R. S. ; Tiritan, A. R. Determinação da constante de proporcionalidade utilizada no Teste t por bioequivalência para o ensaio com o anfípoda estuarino *Leptocheirus plumulosus*. In: X Congresso Brasileiro de Ecotoxicologia. Livro de Resumos, 2008. Bento Gonçalves, RS. p. 158.

USEPA Methods for assessing the toxicity of sediment-associated contaminants with estuarine and marine amphipods. EPA-600/R-94/025. Cincinnati, U. S. Environmental Protection Agency, 156 p., 1994.

USEPA Method for assessing the chronic toxicity of marine and estuarine sediment-associated contaminants with the amphipod *Leptocheirus plumulosus*. EPA-600/R-01/020. Cincinnati, U. S. Environmental Protection Agency, 120 p., 2001.

Zar, J.H. **Biostatistical Analysis.** 4.ed. Upper Saddle River, New Jersey, Prentice-Hall, Inc. 1999.

TABELAS

Tabela 1 – Efeito tóxico observado nos testes de toxicidade aguda com *L. plumulosus* para as amostras de **SEDIMENTOS MARINHOS**, após o período de exposição.

Amostra	Rép.	Nº final de animais por réplica		Mortalidade total (%)	Resultado
		Mortos	Total		
Controle	1	1	10	8	-
	2	1	10		
	3	1	10		
	4	1	10		
	5	0	10		
3798/2009-1.1	1	1	10	10	Não tóxico
	2	1	10		
	3	1	10		
	4	0	10		
	5	2	10		
3799/2009-1.1	1	5	10	56	Não tóxico
	2	10	10		
	3	1	10		
	4	2	10		
	5	10	10		
3804/2009-1.1	1	0	10	28	Não tóxico
	2	1	10		
	3	1	10		
	4	2	10		
	5	10	10		
3805/2009-1.1	1	0	10	2	Não tóxico
	2	0	10		
	3	0	10		
	4	0	10		
	5	1	10		
3869/2009-1.1	1	2	10	52	Não tóxico
	2	2	10		
	3	2	10		
	4	10	10		
	5	10	10		

Tabela 2 - Análises físicas e químicas (iniciais e finais) da **água de interface** realizadas nos testes de toxicidade aguda com *Leptocheirus plumulosus* para as amostras de **SEDIMENTOS MARINHOS**.

Amostra	pH		Salinidade (‰)		Oxigênio dissolvido (mg/L)	
	Inicial	Final	Inicial	Final	Inicial	Final
Controle	7,83	7,96	20	21	6,00	4,93
3798/2009-1.1	7,81	7,98	20	24	5,33	4,90
3799/2009-1.1	7,81	7,89	20	24	5,39	2,55
3804/2009-1.1	7,70	7,82	21	23	5,40	3,84
3805/2009-1.1	7,73	8,10	21	23	5,32	5,42
3869/2009-1.1	7,75	7,88	21	24	5,88	4,22

Tabela 3 – Análises físicas e químicas de salinidade, pH, temperatura, nitrogênio amoniacal e amônia não ionizada efetuadas na **água intersticial** dos sedimentos no início e no final dos testes de toxicidade aguda com *Leptocheirus plumulosus*, para as amostras de **SEDIMENTOS MARINHOS**.

Amostra		Salinidade (%)	Oxigênio Dissolvido (mg/L)	pH	Temp. (°C)	Nitrogênio amoniacal (mg/L)	Amônia não ionizada (mg/L)
Controle	Inicial	25	5,92	7,91	26	7,25	0,253
	Final	23	4,33	7,82	26	-	-
3798/2009-1.1	Inicial	28	6,30	8,36	26	7,00	0,325
	Final	28	5,48	7,97	26	-	-
3799/2009-1.1	Inicial	27	6,18	8,29	26	7,75	0,151
	Final	27	4,53	7,58	26	-	-
3804/2009-1.1	Inicial	27	5,74	8,06	26	5,50	0,046
	Final	27	3,13	7,21	26	-	-
3805/2009-1.1	Inicial	27	5,86	8,25	26	2,50	0,024
	Final	27	3,86	7,27	26	-	-
3869/2009-1.1	Inicial	28	5,69	8,21	26	3,50	0,177
	Final	28	5,42	8,01	26	-	-

ANEXO 1

