

# PADRONIZAÇÃO E APLICAÇÃO DE ENSAIOS DE TOXICIDADE CRÔNICA COM *CERIODAPHNIA DUBIA*

Carlo Martins Nerici e Sueli Ivone Borrely

*Instituto de Pesquisas Energéticas e Nucleares / Centro de Tecnologia das Radiações*

## INTRODUÇÃO

A aplicação de ensaios de toxicidade têm sido desenvolvida em diversos países há vários anos na rotina de órgãos ambientais, no âmbito do licenciamento e da fiscalização de atividades potencialmente causadoras de poluição, bem como do monitoramento da qualidade das águas. A utilização de ensaios de toxicidade permite aplicar ações preventivas no local de estudo, ou seja, estimar e evitar riscos futuros devido à liberação de substâncias perigosas no ambiente e não apenas avaliar danos já causados [1,2,3].

Neste trabalho esses ensaios serão aplicados para avaliar o efeito da radiação aplicada ao tratamento de efluentes, sendo necessária a obtenção de jovens em boas condições de reprodução e saúde.

O início do estudo tem sido desenvolvido com a utilização do cloreto de potássio como referência para obter conhecimento da sensibilidade desse organismo, da repetibilidade e qualidade dos ensaios e para validar resultados com amostras de efluentes e/ou ambientais [2].

## OBJETIVO

Aplicar ensaios de toxicidade crônica na avaliação de efluentes e de tratamento de efluentes.

## METODOLOGIA

Este trabalho utilizou como organismo teste a *Ceriodaphnia dubia* (Cladocera, Crustacea), que foi submetida a exposição crônica da solução teste (ou de amostras ambientais) por um período de sete a dez dias, em diferentes faixas de concentração à temperatura de 25°C, alimentadas por algas *Selenastrum capricornutum* mediante orientações da norma ABNT 2004 [3]. Os ensaios utilizaram dez

réplicas mais o controle, portanto um mínimo de dez organismos por concentração. A utilização deste organismo nos ensaios de exposição crônica permitiu determinar as concentrações de cloreto de potássio que causaram efeito provocando a morte e a redução na reprodução desses organismos. Nos ensaios de exposição crônica a taxa de reprodução das ceriodaphnias foi analisada e comparada a taxa média obtida no controle. Através da análise dos dados obtidos foi possível a identificação da faixa de concentração da solução em questão onde começaram a surgir efeitos. A realização de ensaios com substância referência permite a avaliação periódica da sensibilidade dos organismos na cultura. Utilizou-se o cloreto de potássio (KCl) como substância referência para os ensaios e para controle da qualidade desses ensaios. Os organismos utilizados foram cultivados em laboratório, exigindo manutenção diária. Essa manutenção consistiu em retirar os organismos jovens neonatos do gênero *Ceriodaphnia*, obtidos por partenogênese, diariamente e contar o total de nascimentos procurando sempre acompanhar a reprodução. Nos ensaios foram utilizados organismos nascidos entre as últimas 24 horas a partir da segunda postura e cultivados nas condições estabelecidas (ABNT, 2004). O valor obtido no ensaio de toxicidade deve estar compreendido num intervalo de  $\pm 2$  desvios padrão em relação aos valores médios anteriormente obtidos. Tem-se como referência o controle onde organismos teste estão expostos somente a água de cultivo, que também é utilizada para a diluição das amostras em diferentes concentrações e possui número igual de réplicas.

## RESULTADOS

Os dados de obtenção de neonatos de *ceriodaphnia* estão apresentados na FIG.1, tratando-se de uma cultura inicial de 30 organismos jovens nascidos na mesma data,

portanto, com a mesma idade e retirados de uma mesma cultura mantida sob condições padrões. Observou-se que a partir do 4º dia de vida os organismos começaram a reproduzir e sua taxa de natalidade tende a subir até ± o 7º dia. A partir desse momento a taxa de reprodução estabiliza e começa a cair até aproximadamente o 9º dia onde em seguida um novo crescimento foi observado. Este segundo crescimento na fecundidade tende a se manter elevado até por volta do 15º dia e se mantém com declínio pouco perceptível até o momento em que começam a morrer organismos na cultura (entre 20 e 25 dias), quando a taxa de reprodução cai bruscamente. Tendo em vista o ciclo de vida das ceriodaphnias durar em torno de 25 dias a 30 dias, até o 15º dia os organismos estão em boas condições para utilização de seus jovens em ensaios.

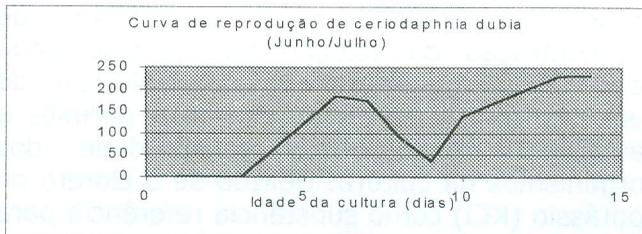


FIGURA 1 – Produção de jovens ceriodaphnia para controle da qualidade do cultivo

Os resultados do ensaio de toxicidade crônica utilizando o KCl como substância referência estão representados na TAB.1.

TABELA 1 – Dados brutos de efeito do cloreto de potássio (KCl) na reprodução de *Ceriodaphnia dubia*, em condições padronizadas

KCl (ppm)	01	02	03	04	05	06	07	08	09	10
Conc.										
37,5	14	12	M	13	21	11	7	0	13	15
75	0	8	12	8	1	14	11	0	0	6
100	M	M	7	6	10	10	4	6	6	10
150	4	M	M	M	M	M	M	M	M	M
300	M	M	M	M	M	M	M	M	M	M
500	M	M	M	M	M	M	M	M	M	M
Cr	6	13	13	12	0	13	11	16	15	16

Cr – controle – exposição em água de cultivo, sem a adição da substância cloreto de potássio; M - morte do organismo

## CONCLUSÕES

A menor concentração de cloreto de potássio (37,5 ppm), apresentou uma média de 13,14 neonatos com 7 organismos em reprodução durante oito dias. Na concentração de 75ppm a produção média caiu para 8,66 neonatos nascidos durante o mesmo período. Para a concentração de 100 ppm a média de neonatos diminuiu ainda mais para 7,49 ppm com a morte de dois organismos na réplica nº1 e nº2. A partir de 150 ppm observou-se apenas o organismo da réplica de nº1 vivo no final do teste, todas as demais réplicas e as seguintes concentrações apresentaram mortalidade de 100% dos organismos. Considerando que o controle apresentou uma produção média de 13,62 jovens no mesmo período de exposição, concluiu-se que a concentração de 75 ppm já representou um efeito significativo na redução da natalidade das ceriodaphnias.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- [1] ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS. **Ecotoxicologia Aquática – Toxicidade Crônica – Método de Ensaio com *Ceriodaphnia ssp.* (Cladocera, Crustacea)**. ABNT, 2004. (NBR 13373).
- [2] ROMANELLI, M. F. **Avaliação da Toxicidade Aguda e Crônica dos Surfactantes DSS e LAS Submetidos à Irradiação com Feixes de Elétrons**. 2004. Tese (mestrado) – Instituto de Pesquisas Energéticas e Nucleares – USP, São Paulo.
- [3] KNIE L. W. J.; LOPES W. B. E. **Testes Ecotoxicológicos – Métodos, Técnicas e Aplicações**. Ed. Agência Alemã de Cooperação Técnica e Fundação do Meio Ambiente de Santa Catarina. 2004.

## APOIO FINANCEIRO AO PROJETO

CNEN/PROBIC