

13º SIMPÓSIO DE BIOLOGIA MARINHA

28/06 à 02/07/10



TAXA DE NATALIDADE E SENSIBILIDADE DO CULTIVO DO MICROCRUSTÁCEO *Mysidopsis juniae* (Silva, 1979) PARA ENSAIOS DE TOXICIDADE CRÔNICA EM AMBIENTES MARINHOS

Kleine, T.¹; Tortelli, T. S.¹; Oliveira, T. M. N.²; Vaz, C.³; Böhm, R. F. S.⁴; Matias, W. G.⁵; Pinto, C. R. S. C.⁵

Universidade da Região de Joinville (UNIVILLE) - Unidade de São Francisco do Sul; Rodovia Duque de Caxias, s/nº – CEP 89240-000 – São Francisco do Sul – SC; 1. Acadêmica do curso de Ciências Biológicas – Hab. Biologia Marinha; 2. Orientadora – Professora do Departamento de Ciências Biológicas da UNIVILLE; 3. Colaborador – Professor do Departamento de Engenharia Ambiental da UNIVILLE; 4. Mestranda de Saúde e Meio Ambiente da UNIVILLE; 5. Colaborador(a) – Professor(a) do Programa de Pós-Graduação em Engenharia Ambiental da UFSC

RESUMO

A ecotoxicologia estuda os efeitos tóxicos causados por poluentes tanto naturais como sintéticos, sobre qualquer constituinte de ecossistemas. O cultivo do microcrustáceo *Mysidopsis juniae* em laboratório tem como objetivo o seu uso em testes de toxicidade crônica com amostras de água de ambientes marinhos. O procedimento de cultura segue a norma NBR 15318:2005 da ABNT (2005), necessitando de acompanhamento constante de parâmetros como a salinidade, oxigênio dissolvido, pH e temperatura. Também são executadas limpezas semanais dos aquários, alimentação diária, contagem dos organismos para determinação das taxas de natalidade e mortalidade, o agrupamento dos organismos em proporções adequadas de machos e fêmeas, bem como a checagem do funcionamento do mecanismo de aeração. Testes de sensibilidade são realizados para confirmação da confiabilidade dos ensaios com esses organismos. Até o presente momento os resultados indicam a adequada adaptação dos mesmos em laboratório, com taxas de natalidade de 12 organismos nascidos por fêmea mensalmente e com sensibilidade ao dodecil sulfato de sódio na concentração média de 100 mg/l.

Palavras-chave: Ecotoxicologia, Cultivo, *Mysidopsis juniae*

INTRODUÇÃO

Os testes ecotoxicológicos são utilizados para se obter uma avaliação sobre as diversas substâncias que podem atuar de forma integrada (antagônica, aditiva ou sinérgica), provocando efeitos adversos aos ecossistemas (VIEIRA, 2004).

Testes de toxicidade também são importantes ferramentas para avaliar as concentrações de produtos tóxicos capazes de provocar respostas deletérias em organismos, podendo se acumular em cada nível trófico, o que acaba causando danos a todo ecossistema marinho (GUIMARÃES *et al*, 2004).

No Brasil, os testes de toxicidade vêm sendo empregados no monitoramento de efluentes industriais e urbanos com o intuito de minimizar o impacto ambiental e avaliar a eficiência das

estações de tratamento (MAGALHÃES & FERRÃO-FILHO, 2008). Para que seja possível a execução desses ensaios, torna-se necessário o cultivo de organismos padronizados em laboratório.

A reprodução e manutenção de organismos em laboratório são atividades que demandam o controle rigoroso de parâmetros físico-químicos, garantindo dessa forma altas taxas de reprodução e elevada sensibilidade dos reativos biológicos para a realização de bioensaios que sejam válidos de acordo com os padrões estabelecidos em protocolos.

Um dos organismos já padronizados para testes de toxicidade aguda é o *Mysidopsis juniae*, pequeno crustáceo marinho, amplamente utilizado em testes no Brasil. Esse microcrustáceo possui várias características que o qualifica para uso nessa atividade, tal como o seu grande potencial reprodutivo, fácil aquisição e manutenção em laboratório, permitindo que os testes tenham boa repetibilidade e reprodutibilidade, além de ser um importante representante da cadeia trófica de ambientes marinhos (OLIVEIRA *et al*, 2006).

MATERIAL E MÉTODOS

Para iniciar o cultivo de misidáceos em laboratório foi seguida a norma NBR 15318:2005 da ABNT (2005), que dedica-se em parte a estabelecer condições ótimas para a reprodução e manutenção de organismos sensíveis e padronizados para testes de toxicidade.

Para o cultivo de misidáceos foram adquiridos recipientes de vidro com tampa com volume entre 2,5 e 3,0 litros cada, de formato cilíndrico nos quais foram efetuadas perfurações nas tampas para a passagem dos tubos de aeração e para a introdução de alimento (*Artemia salina*). Esses recipientes foram semanalmente lavados com uma solução de ácido nítrico, extran, acetona, água da torneira e água deionizada. Após o processo de lavagem todos os recipientes foram autoclavados para a eliminação de contaminações biológicas por algas, fungos e/ou bactéria.

A água de cultivo foi preparada a partir de uma mistura de sal marinho da marca Red Sea e água deionizada. Essa mistura foi preparada ao menos 24 horas antes do uso no cultivo e mantida sob aeração por aproximadamente 1 hora para então ser disposta nos aquários e receber os misidáceos. A verificação da salinidade foi efetuada com um salinômetro analógico (refratômetro).

O monitoramento da temperatura foi realizado com um termopar. A manutenção da temperatura do ambiente foi feita com um condicionador de ar do tipo split.

Para o fotoperíodo foi utilizado um timer analógico, regulado para 12 horas com a luz ativada e 12 horas de escuro. Os horários foram ajustados para coincidirem com o momento em que o laboratório possuía pessoas trabalhando (claro) e com os momentos em que ficava vazio (escuro).

A aeração constante foi mantida com o uso de 4 compressores de diafragma que operaram sem lubrificação (para evitar contaminação com óleos) com vazão de 120 litros/min cada. Cada compressor tinha autonomia para aerar 20 aquários simultaneamente.

A preparação de alimento foi feita com a eclosão de cistos de *Artemia salina*, que 24 horas após a eclosão foram colocados em contato com óleo de peixe e óleo de fígado de bacalhau para o enriquecimento. Decorridas mais 24 horas os cistos foram colocados nos aquários de cultivo de misidáceos para servirem de alimento aos mesmos.

A contagem de misidáceos foi feita manualmente com a retirada dos mesmos com o auxílio de uma pipeta Pasteur, quando foram feitas as proporções de machos e fêmeas e também a separação dos filhotes para testes de toxicidade aguda e crônica.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Até o presente momento os resultados para a natalidade foram de 12 indivíduos nascidos por fêmea mensalmente. a concentração média de dodecil sulfato de sódio que gera a CL50 aos organismos estudados foi de 100 mg/l e está mantendo-se dentro dos limites de controle nas cartas dos valores individuais e das amplitudes, indicando uma adequada adaptação dos misidáceos ao laboratório de ecotoxicologia da Universidade da Região de Joinville – Univille.

As condições de cultivo sugerem que devem ser mantidos principalmente os parâmetros salinidade em 33 ± 1 , temperatura de 23 ± 1 e fotoperíodo 12/12h e aeração constante. A alimentação dos organismos deve ser realizada com náuplios de *Artemia salina* com 48 horas de vida, enriquecidos com óleo de peixe e ômega 3. Quanto à periodicidade de troca de água, observou-se que, para aquários de volumes aproximados de 2,5 a 3 litros, a substituição total da mesma uma vez por semana é suficiente, já que os parâmetros supramencionados permanecem dentro dos limites considerados ótimos. Para a garantia de altas taxas de natalidade a proporção de 4 fêmeas para cada macho deve ser observada, bem como uma densidade populacional de 1 misidáceo/100 mL de água.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS. 2005. Ecotoxicologia Aquática – Toxicidade aguda – Método de Ensaio com misidáceos (Crustácea). NBR 15308, 17p.
- GUIMARÃES, E. S. *et al.* 2004. Avaliação da toxicidade aguda com *Daphnia similis* na água captada no Rio Paraíba do Sul e processada na estação de tratamento de água do município de Jacareí – SP. Brasil. Rev. Engenharia Sanitária e Ambiental. 9(2): 124-130
- MAGALHÃES, D. P. & FERRÃO-FILHO A. S. 2008. A ecotoxicologia como ferramenta no biomonitoramento de ecossistemas aquáticos. Oecol. Bras., 12(3):355-381.
- OLIVEIRA, T. M. N. de, *et al.* 2006. Integridade Ambiental da Baía da Babitonga: Características físico-químicas, microbiológicas e ecotoxicidade. In: CREMER, M. J.; *et al.* (Org.). Diagnóstico ambiental da Baía da Babitonga. Joinville, SC. Cap. 2: 49 pp.
- VIEIRA, F. C. S. 2004. Toxicidade de hidrocarbonetos monoaromáticos do petróleo sobre *Metamysidopsis elongata atlantica* (Crustacea: Mysidacea). Dissertação de mestrado. Universidade Federal de Santa Catarina. Florianópolis – SC.