

# Avaliação da sensibilidade de *Daphnia magna* Straus, 1820 (Cladóccera, Crustácea) ao dicromato de potássio

## Assessment of *Daphnia magna* Straus, 1820 (Cladóccera, Crustáccera) susceptibility to potassium dichromate

RIALA6/1064

Ana Claudia B. ALVES<sup>1\*</sup>, Jacira SILVANO<sup>1</sup>

\* Endereço para correspondência: <sup>1</sup> Universidade do Extremo Sul Catarinense, Rod. Jorge Lacerda, Km 4,5, Sangão, Criciúma, SC, CEP 88800-000. ana-ab@bol.com.br.\*

<sup>1</sup> Curso de Ciências Biológicas, Universidade do Extremo Sul Catarinense, Sangão, Criciúma, SC.

### RESUMO

As análises ecotoxicológicas determinam os efeitos deletérios causados a um organismo por um agente tóxico. O microcrustáceo *Daphnia magna* é um dos organismos mais usados em bioensaios de toxicidade. Para garantir a confiabilidade dos resultados é necessário avaliar a sensibilidade das dáfias que pode ser influenciada pelas condições de cultivo em laboratório. O dicromato de potássio, 10 mg/L, foi utilizado como substância referência para obter a faixa de sensibilidade. O presente trabalho avalia os testes de sensibilidade realizados de março de 2004 a março de 2005 no Laboratório de Ecotoxicologia do Instituto de Pesquisas Ambientais e Tecnológicas, IPAT, da Universidade do Extremo Sul Catarinense, UNESC, segundo a norma ABNT NBR 12713. Os indivíduos entre 2 e 24 horas de idade foram testados em soluções com diferentes concentrações. O valor médio da CE50 de 1,28 mg/L está dentro da faixa limite para dicromato de potássio conforme a norma ISO 6341. De acordo com as comparações feitas entre os dados do presente estudo com os valores estabelecidos pela norma ISO e com os relatados por outros autores, pode-se inferir que as dáfias, cultivadas no Laboratório de Ecotoxicologia do IPAT, estão aptas a serem utilizadas em testes de toxicidade.

**Palavras-Chave.** *Daphnia*, dicromato de potássio, ecotoxicologia, bioensaio/ métodos.

### ABSTRACT

The ecotoxicology analyses determine the deleterious effect caused by a toxic agent on an organism. Microcrustacean *Daphnia magna* is one of the most used organisms for performing toxicity bioassay. To guarantee the reliability of results, evaluation of the dafnias sensitivity is required as they can be influenced by the culture conditions. The present work evaluated the sensitivity testing performed from March 2004 to March 2005 in the Laboratory of Ecotoxicology of Instituto de Pesquisas Ambientais e Tecnológicas (IPAT)- University do Extremo Sul Catarinense (UNESC), following the criteria from ABNT NBR 12713 norm. The potassium dichromate in a concentration of 10 mg/L was used as reference substance to get the sensitivity band. The organisms aged from 2 to 24 hours were tested in solutions containing different concentrations of potassium dichromate. The CE(I)50 mean value of 1.28 mg/L indicates that it is within the potassium dichromate band limit, in accordance to ISO 6341 norm criteria. Comparing this finding with the value established by ISO and with the data reported by other authors, it can be inferred that the dafnias cultivated in the Laboratory of Ecotoxicology at IPAT have been suitable for being employed on toxicity assays

**Key Words.** *Daphnia*, potassium dichromate, ecotoxicology, bioassay/ methods

## INTRODUÇÃO

A toxicidade é a propriedade do agente químico causar efeito danoso a um organismo, quando este é exposto a determinadas concentrações em determinado espaço de tempo. Para verificar a toxicidade se faz necessário análises ecotoxicológicas, também chamadas bioensaios, as quais visam determinar os efeitos deletérios para a comunidade aquática causada por agente tóxico sem a preocupação de identificá-los<sup>1</sup>.

Nos ensaios de toxicidade, freqüentemente, são utilizados bioindicadores que podem ser definidos como organismos vivos indicadores de contaminação. Neste processo de biomonitoramento pode-se utilizar membros da flora ou fauna, onde os mais comuns seriam os peixes, microcrustáceos, algas, fungos e bactérias<sup>2</sup>.

Assim a Ecotoxicologia através do monitoramento de toxicidade deve ser valorizada como uso sistemático de respostas biológicas, a fim de avaliar mudanças ambientais. Atualmente *Daphnia magna* STRAUS, 1820 é um dos organismos, zooplânctônicos, mais utilizados em testes toxicológicos em vários países<sup>3</sup> e reage sensivelmente à ampla gama agentes tóxicos<sup>4</sup>.

A *Daphnia magna* é um microcrustáceo de água doce com tamanho médio entre 5 e 6 mm, que alimenta-se principalmente de algas unicelulares<sup>5</sup>. Em condições ambientais favoráveis, reproduz-se por partenogênese, originando apenas fêmeas<sup>4</sup>. É também uma espécie cosmopolita no Hemisfério Norte<sup>6</sup>, pelágica e vive em ambientes eutróficos. Tem um tempo de geração curto, o que torna o cultivo fácil.

Para obter resultados confiáveis nos testes de toxicidade é necessário avaliar a sensibilidade dos organismos-teste<sup>4</sup>. As condições de vida desses organismos são avaliadas de acordo com normas indicativas da faixa de sensibilidade das daphnias a uma substância referência. O presente trabalho visa obter a faixa de sensibilidade das dafnias ao dicromato de potássio conforme norma ISO 6341. Teste de sensibilidade fora da faixa definida na norma é sinal de alteração de algum fator durante o teste, o que implica numa avaliação completa do mesmo.

## MATERIAIS E MÉTODOS

O teste de sensibilidade foi realizado de acordo com as normas estabelecidas pela Associação Brasileira de Normas Técnicas (ABNT) presentes na NBR 12713. O microcrustáceo *Daphnia magna* é cultivado no laboratório de Ecotoxicologia do Instituto de Pesquisas Ambientais e Tecnológicas, IPAT, da Universidade do Extremo Sul Catarinense, UNESC, onde são mantidas em estufa incubadora a temperatura controlada de 20°C e fotoperíodo de 16 horas/dia controlado por “timer” eletrônico. São alimentadas diariamente com algas verdes da espécie *Scenedesmus subspicatus*, também cultivadas no mesmo laboratório de acordo com CETESB (1990)<sup>1</sup>. Os indivíduos utilizados para o teste são jovens que têm entre 2 h a 24 h.

A sensibilidade das daphnias foi testada utilizando uma solução padrão de dicromato de potássio com concentração de 10 mg/L. No experimento foram preparadas soluções teste nas concentrações: 0,55; 0,70; 0,85; 1,00; 1,15; 1,30; 1,45; 1,60; 1,75 mg/L. Em cada série de experimento 10 daphnias são expostas em béqueres de 25 mL (com duas repetições para cada diluição), totalizando 20 indivíduos, e ainda no controle, ou seja a exposição de daphnias somente em água de diluição. Após 24 horas de exposição em incubadora com fotoperíodo e temperatura controlados, foram observados o número de organismos que não apresentaram mobilidade. Calculando em seguida a CE (I)50 (concentração efetiva) que se baseia nas condições em que não ocorra mortalidade das dafnias, quando estas são expostas ao dicromato de potássio em determinado tempo e concentração. Este percentual é o mais significativo para ser extrapolado a uma população<sup>1</sup>. O cálculo da CE50 foi realizado através do método das Próbitas ou Trimmed Spearman-Kärber<sup>7</sup>. Em cada experimento foram também avaliados o pH, o oxigênio dissolvido e a dureza da água de diluição<sup>10</sup>.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

A água de diluição, do dicromato de potássio, utilizada no teste foi avaliada quanto ao pH, dureza e oxigênio dissolvido, conforme tabela 1. O pH indica a concentração dos íons hidrogênio H<sup>+</sup> em uma solução e expressa a condição ácida (< 7) ou alcalina (> 7), sendo que valores de pH afastados da neutralidade (pH 7) podem afetar a vida aquática<sup>8</sup>. A dureza

**Tabela 1.** Valores de oxigênio dissolvido (OD), pH e dureza da água de diluição do Teste de Sensibilidade entre março/2004 e março/2005.

	OD (mg/L)	pH	Dureza (mg/L CaCO <sub>3</sub> )
MAR/04	5,0	7,7	241,1
ABR	4,9	7,6	233,89
MAI	5	7,7	251,27
JUN	5,1	7,7	241,1
JUL	4,9	7,7	241,73
AGO	4,8	7,6	241,57
SET	5	7,8	238,41
OUT	4,7	7,7	246,96
NOV	4,8	7,8	243,69
DEZ	4,7	7,7	236,5
JAN/05	4,6	7,8	250,88
FEV	4,6	7,7	254,8
MAR	4,9	7,6	246,96
MÉDIA	4,8 ± 0,04	7,7 ± 0,02	243,76 ± 1,70
DES. PAD.	0,155	0,07	5,89
KNIE e LOPES (2004)	> 4,0	7,8 ± 0,2	250 ± 25

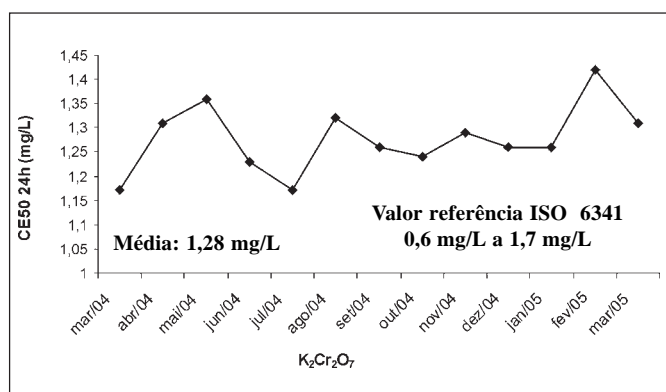


Figura 1. Carta controle da sensibilidade de *Daphnia magna* para a substância de referência  $K_2Cr_2O_7$ .

reflete o teor de cálcio e magnésio que estão combinados a carbonato ou bicarbonato<sup>9</sup> e o grau de dureza influencia a toxicidade<sup>10</sup>. O oxigênio dissolvido é um teste padrão no controle da poluição da água e um dos mais importantes gases dissolvidos para caracterização e dinâmica de um ecossistema aquático, sua concentração varia em função da temperatura e aeração da água<sup>10</sup>. Na água de diluição estas variáveis permaneceram dentro da faixa estabelecida em<sup>4</sup> conforme Tabela 1. Estas variáveis estando dentro da faixa estabelecida garantem que os resultados reflitam realmente a amostra.

De acordo com a Figura 1 a média da sensibilidade (CE; 24HS) obtida neste trabalho foi de 1,28 mg/L de dicromato de potássio, estando os valores compreendidos de 0,6 mg/L a 1,7 mg/L, valor este em conformidade com a norma ISO 6341. A média de  $1,01 \pm 0,15$  mg/L<sup>4</sup>, enquanto a média de 1,7 mg/L<sup>11</sup>, valor no limite máximo permitido pela norma utilizada como referência neste trabalho. De acordo com as comparações com os outros autores e com a ISO 6341 as daphnias cultivadas no laboratório estão aptas a serem utilizadas nos testes de toxicidade.

É importante realizar estes testes pelo menos uma vez por mês para garantir a confiabilidade dos resultados.

## CONCLUSÃO

De acordo com os resultados dos testes de sensibilidade, durante o período de março de 2004 a março de 2005, as daphnias utilizadas no Laboratório de Ecotoxicologia da UNESC mantiveram-se dentro da faixa estabelecida pela ISO 6341, indicando ser de boa qualidade e aptas a serem utilizadas nos testes de toxicidade.

## REFERÊNCIAS

1. CETESB, Companhia de Tecnologia e Saneamento Ambiental. Procedimentos para utilização de testes de toxicidade no controle de efluentes líquidos. São Paulo: CETESB, 1990.
2. Buikema ALJ, Niederlehner BR, Cairns JJ. Biological. Monitoring Part IV. Toxicity Testing. *Water Res*, 1982; 16: 239-62.
3. Nikunen E, Miettinen Y. *Daphnia magna* as a indicator of acute toxicity of waste waters. *Bull. Environ. Contam. Toxicol.* 1985; 35: 368-74.
4. Knie JLW, Lopes EWB. Testes ecotoxicológicos: métodos, técnicas e aplicações. Florianópolis: FATMA/GTZ. 2004.
5. Motte dit Falisse N *et al.* La sensibilité de *Daphnia magna* pour le dichromate de potassium varie au cours de son existence. 2003; 5:1.
6. USEPA. Methods for measuring the acute toxicity of effluents and receiving waters to freshwater and marine organisms. 4<sup>th</sup> edition. 2002.
7. Hamilton, M.A, Russo, RC, Thurton, RV. Trimmed Spearman-Kärber method for Estimating Median Lethal Concentrations in Toxicity Bioassays. *Environ Sci Technol*, New York, v. 11, n. 7, p. 714-9. 1977.
8. Sperling M. Introdução à qualidade das águas e ao tratamento de esgotos. Belo Horizonte: FCO, v. 1. 1996; 239p.
9. Esteves FA. Fundamentos de limnologia. Rio de Janeiro: Interciência/FINEP, 1988. 575 p.
10. Förstner U, Wittmann GTW. Metal pollution in the aquatic environmental. 2<sup>nd</sup> edn Berlin: Springer-Verlag, 1981. 486 p.
11. Müller HG. Acute Toxicity of Potassium Dichromate to *Daphnia magna* as a Function of the Water Quality. *Bull. Environ Contam Toxicol* 1980; 25, 113-7,