

## **Princípios e aplicações da ecotoxicologia: para alunos de graduação em Ciências Biológicas**

Júlia Alves Luzzi<sup>1</sup>; Walter Barrella<sup>1</sup>; Fábio Hermes Pusceddu<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Programa de Pós-Graduação em Sustentabilidade de Ecossistemas Costeiros e Marinhos (ECOMAR)

<sup>2</sup>Laboratório de ecotoxicologia Professor Caetano Belliboni da Universidade Santa Cecília

### **Resumo**

A biota marinha vem sofrendo grandes impactos ambientais devido a sua localização e aumento da urbanização em seus arredores. Com o aumento da população também aumentou os dejetos que são lançados no ambiente marinho, através das galerias pluviais e dos emissários submarinos, assim como ocorre na cidade de Santos/SP. Com os ensaios ecotoxicológicos podemos estudar as particularidades das contaminações do local e podendo oferecer subsídios para possíveis recuperações. O objetivo deste trabalho é mostrar a importância dos ensaios ecotoxicológicos e discutir sobre poluição dos mares com os alunos de graduação. Eles irão coletar amostras de água das praias de Santos e com elas farão um ensaio ecotoxicológico com ouriço do mar no laboratório de ecotoxicologia. Depois de obtidos os dados através dos ensaios eles serão discutidos em sala de aula e comparados com estudos anteriores. Espera-se que os alunos compreendam a importância dos estudos ecotoxicológicos e como a poluição afeta os mares. Também se espera que as águas do mar de Santos estejam classificadas como "Tóxicas".

**Palavras-chave:** ecotoxicologia, poluição, mares, Santos.

## **Principles and applications of ecotoxicology: for undergraduate students in Biological Sciences**

### **Abstract**

The marine biota has been suffering great environmental impacts due to its location and increased urbanization in its surroundings. With the increase of the population also increased the wastes that are released in the marine environment, through the rain gutters and the submarine emissaries, as it happens in the city of Santos / SP. With the ecotoxicological tests we can study the particularities of the contaminations of the place and can offer subsidies for possible recoveries. The objective of this work is to show the importance of the ecotoxicological tests and to discuss about pollution of the seas with undergraduate students. They will collect water samples from the beaches of Santos and conduct an ecotoxicological test with sea urchin in the ecotoxicology lab. After obtaining the data through the trials they will be discussed in the classroom and compared with previous studies. Students are expected to understand the importance of ecotoxicological studies and how pollution affects the seas. It is also expected that the waters of the Santos Sea are classified as "Toxic".

**Key words:** ecotoxicology, pollution, seas, Santos-SP

## Introdução

Os ambientes costeiros sofrem com diversos fatores, naturais e antrópicos, devido sua localização e urbanização dos seus arredores. Os impactos ocasionados por esses fatores podem prejudicar a biota marinha, alterando a biodiversidade do local (Krassulya, 2001).

Este ecossistema vem recebendo uma grande carga de substâncias químicas, orgânicas e inorgânicas, de forma intencional ou acidental, em decorrência do lançamento de efluentes industriais ou domésticos e também vindos dos rios e estuários (Moraes, 2001).

Na cidade de Santos/SP esse lançamento de resíduos domésticos pode ocorrer através de um emissário submarino, lançamento de esgotos domésticos por meio de uma tubulação a aproximadamente 4 Km da costa, e por ligações ilícitas de galerias pluviais. Já os resíduos industriais são oriundos do Polo Industrial de Cubatão, e chegam à costa pelo estuário do Canal do Porto de Santos, onde encontra-se o maior complexo portuário da América Latina. Assim muitos dos seus corpos d'água e praias estão contaminados por várias substâncias, acarretando diversos problemas ambientais (Ambrozevicius, 2010).

A ecotoxicologia é definida como a ciência que estuda as particularidades das contaminações causadas no ambiente (Ramade, 1977), a partir de bioensaios. Os ensaios ecotoxicológicos estudam os ecossistemas visando o comportamento e as transformações do ambiente (Bertoletti, 1990). Os ensaios de toxicidade servem para identificar problemas de lançamento de esgoto e de substâncias tóxicas, tornar viáveis ações

para solucionar ou diminuir os impactos gerados por essas substâncias e monitorar os ecossistemas (Zagatto, 2006). No caso de ensaios de toxicidade para o ambiente marinho se utiliza organismos do meio em condições laboratoriais ou de campo, possibilitando estabelecer limites aceitáveis das substâncias encontrados no ambiente e avaliar os impactos causados nos organismos marinhos (Bertoletti, 1990).

O objetivo deste trabalho é mostrar aos alunos de graduação em Ciências Biológicas os princípios e aplicações, ensaio ecotoxicológico, da ecotoxicologia. A partir de um ensaio feito com amostras da água do mar das praias de Santos/SP e também será discutido sobre poluição dos mares.

## Materiais e métodos

O assunto será abordado em sala de aula, em uma aula de campo e em duas aulas em laboratório. Em sala de aula será conceituada a matéria sobre poluição dos mares, onde serão mostrados os pontos a serem visitados na aula de campo e o que será feito na prática. Além disso, serão introduzidos os princípios e aplicações da ecotoxicologia, assim como o uso dos ensaios ecotoxicológicos no monitoramento ambiental. Os alunos terão uma ficha para anotarem os parâmetros físico-químicos que analisarão em laboratório para depois serem discutidos juntamente com os resultados do teste.

Os alunos farão uma saída de campo para três praias de Santos, sendo a praia do José Menino (ponto 1), mais próxima ao emissário submarino, a

praia do Boqueirão (ponto 2) e a Ponta da Praia (ponto 3). Em cada ponto serão coletadas amostras de água do mar para um breve estudo ecotoxicológico a partir de teste com ouriço do mar. Os alunos coletarão amostras de água do mar nos diferentes pontos de acordo com os procedimentos descritos na NBR 15350 (ABNT, 2012), acondicionados em duas garrafas pet de 500 mL por ponto, devidamente identificadas com caneta permanente, transportadas para o laboratório de ecotoxicologia na Universidade Santa Cecília e acondicionados em um freezer  $-17 \pm 2^\circ\text{C}$  até o dia da aula. Na aula seguinte, os alunos irão para o laboratório para a realização do teste que consiste na exposição dos embriões de ouriços do mar às diferentes amostras. Para isso, indivíduos adultos serão estimulados com uma injeção de KCl 0,5 M para liberação dos gametas. Os gametas serão mantidos em recipientes separados, com os óvulos em um bquer de 400 mL e os espermatozoides em um bquer de 25 mL. Depois os óvulos serão lavados e avolumados com água do mar reconstituída. Após a realização desses processos, os espermatozoides serão diluídos. Depois será adicionado 1,2 mL dessa solução espermática e deve-se esperar por duas horas agitando, depois serão expostos 300 embriões por tubo de ensaio. Essa quantidade se dá por um cálculo feito com base no número de óvulos fecundados em 3 alíquotas de 10 mL. No período de espera dessas duas horas os alunos farão a medição dos

parâmetros físico-químicos iniciais, como pH, OD (oxigênio dissolvido) e salinidade com o auxílio dos equipamentos pHmetro, oxímetro e refratômetro, respectivamente. Depois eles montarão os tubos de ensaio onde serão colocados os embriões. Esses tubos irão conter 10 mL da água coletada em cada ponto, bem como um tratamento controle positivo constituído de 10 mL de água reconstituída, e para cada ponto e controle serão utilizadas quatro réplicas. Assim que se der o fim das duas horas será colocada a quantidade de embriões calculada em cada tubo de ensaio, e esse sistema teste será alocado em uma câmara por 42 horas de exposição, em temperatura de  $26 \pm 2^\circ\text{C}$ . No dia e na hora do encerramento será colocado 0,5 mL de formol tamponado para que fixe as larvas. A análise se dá pela leitura de cada réplica em um microscópio com uma câmara de Sedgewick-Rafter, nela será preenchida com a amostra e contaremos até 100 larvas, sendo elas desenvolvidas (Figura 1) ou não desenvolvidas (Figura 2). Depois de analisarmos todas as amostras, os dados serão analisados estatisticamente, através de teste de anormalidade e homogeneidade, seguido de ANOVA. A partir da análise estatística as amostras que forem diferentes do controle serão classificadas como “Tóxicas”. E os alunos também irão medir os parâmetros físico-químicos finais das amostras, para saber se os parâmetros interferiram nos resultados.



Figura 1: Larva Pluteos (normal).



Figura 2: Larva anômala

### Resultados esperados e Discussão

Espera-se que os alunos possam compreender a importância dos ensaios ecotoxicológicos e como a poluição pode afetar os mares, a partir dos resultados obtidos pelo ensaio ecotoxicológico. Havendo uma experiência de campo e laboratório. Em relação aos dados obtidos por eles, serão discutidos em sala de aula e podendo ser comparados com estudos da CETESB, realizados em 2017. Com os ensaios esperamos observar que nas praias: José Menino, Boqueirão e Ponta da Praia estejam “Tóxicas”. Mas esses resultados podem ser diferentes caso no dia da coleta esteja chovendo ou no dia anterior tenha chovido e, também caso seja, ou não época de temporada. Uma vez que a qualidade das águas é diretamente afetada pela abertura das comportas dos canais de drenagem da cidade e pelo aumento da população ocasionado pelos turistas.

### Considerações finais

Será possível estabelecer um diagnóstico sobre a qualidade das águas da baía de Santos e oferecer subsídios

para possível recuperação dos pontos críticos da baía.

### Referências

- AMBROZEVICIUS, Andrea Pimenta. Poluição aquática em Santos (SP): uma abordagem interdisciplinar. 2010. Tese de Doutorado. Universidade de São Paulo.
- ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS ABNT. NBR 15350, 2012. Ecotoxicologia aquática - Toxicidade crônica de curta duração - Método de ensaio com ouriço-do-mar (Echinodermata: Echinoidea), 21 pp.
- BERTOLETTI, E. 1990. Toxicidade e Concentração de Agentes Tóxicos em Efluentes Industriais. Revista Ciência e Cultura. 43 (3/4) : 271-277. São Paulo.
- BERTOLETTI, E., GHERARDI-GOLDSTEIN, E., ZAGATTO, P.A. 1990. Variabilidade de Testes de Toxicidade com Peixes. Revista Ambiente, 3 (1) : 52-58. São Paulo.
- KRASSULYA, N. Choice of methodology for marine pollution monitoring in intertidal soft-sediment communities. CBM:s

Skriftseries,Uppsala, v. 3, p. 131 -148, 2001.

MORAES, R. et al. Efeitos de poluentes em organismos marinhos. Arte & Ciência, 2001.

RAMADE, François. Ecotoxicologie. Paris: Masson, 1977.

ZAGATTO, P. A.; BERTOLETTI, E. Ecotoxicologia aquática. Princípios e Aplicações. Rima Editora, São Carlos. 478p, 2006. Acessado em 11/03/2019: <https://cetesb.sp.gov.br/praias/wp-content/uploads/sites/31/2018/06/Relat%C3%B3rio-de-Qualidade-das-Paraias-Litor%C3%A2neas-do-Estado-de-S%C3%A3o-Paulo-2017.pdf>

## Anexos

Ficha dos parâmetros físico-químicos iniciais

|                 | Salinidade | pH | OD |
|-----------------|------------|----|----|
| <b>Controle</b> |            |    |    |
| <b>Ponto 1</b>  |            |    |    |
| <b>Ponto 2</b>  |            |    |    |
| <b>Ponto 3</b>  |            |    |    |

Ficha dos parâmetros físico-químicos finais

|                 | Salinidade | pH | OD |
|-----------------|------------|----|----|
| <b>Controle</b> |            |    |    |
| <b>Ponto 1</b>  |            |    |    |
| <b>Ponto 2</b>  |            |    |    |
| <b>Ponto 3</b>  |            |    |    |

Ficha para contagem das larvas de ouriço do mar

|                 | Réplicas         | Normais | Anormais |
|-----------------|------------------|---------|----------|
| <b>Controle</b> | 1<br>2<br>3<br>4 |         |          |
| <b>Ponto 1</b>  | 1<br>2<br>3<br>4 |         |          |
| <b>Ponto 2</b>  | 1<br>2<br>3<br>4 |         |          |
| <b>Ponto 3</b>  | 1<br>2<br>3<br>4 |         |          |