

## NOTA CIENTÍFICA

**BIOPROSPECÇÃO DE MACROINVERTEBRADOS BÊNTICOS  
PARA ENSAIOS ECOTOXICOLÓGICOS DE SEDIMENTOS  
MARINHOS E ESTUARINOS**

Cleire Monteiro Almeida Campelo<sup>1</sup>, Verônica Maria de Oliveira<sup>2</sup>, Flavia Rebelo Moche<sup>3</sup>, Leonardo Gonçalves de Lima<sup>3</sup>, Ricardo Luvizotto-Santos<sup>3\*</sup>

<sup>1</sup> Bacharel em Ciências Biológicas. Universidade Federal do Maranhão. Av. Dos Portugueses, 1966, Campus do Bacanga, São Luís, MA. CEP 65080 805.

<sup>2</sup> Departamento de Química e Biologia da Universidade Estadual do Maranhão. Cidade Universitária Paulo VI – Caixa Postal 09, São Luís, MA. CEP: 65.725-000

<sup>3</sup> Departamento de Oceanografia e Limnologia, Universidade Federal do Maranhão. Av. Dos Portugueses, 1966, Campus do Bacanga, São Luís, MA. CEP 65080 805.

\* Autor correspondente: luvizottosantos@ufma.br

**RESUMO**

O objetivo deste trabalho foi explorar macro invertebrados bênticos da fauna da Ilha do Maranhão com potencial para utilização em testes ecotoxicológicos. As amostragens foram obtidas na praia do Araçagy, praia do Meio e Mangue Seco. Dentre as espécies identificadas, *Laeonereis culveri* atendeu ao maior número de critérios esperados para organismos-teste sendo, em seguida, submetido a um ensaio ecotoxicológico com substância de referência. Os poliquetas foram aclimatados durante quatro dias e, em seguida, expostos durante 48h a diferentes concentrações de CdCl<sub>2</sub>: 3,12; 6,25; 12,5; 25,0 e 50,0 mg/L, cada uma com 3 repetições. Ao final da aclimação a taxa de sobrevivência foi superior a 96 %. A espécie apresentou sensibilidade para a substância de referência com valor de CL50<sub>(48h)</sub> de 16,6 mg/L, valor comparável aos encontrados para outras espécies da família Nereididae. Sugere-se que *L. culveri* seja empregado como organismo-teste para bioensaios com sedimentos de regiões marinhas e estuarinas da Ilha do Maranhão, considerando sua abundância, representatividade, informações quanto a sua biologia, adaptação às condições de laboratório e sensibilidade.

Palavras-chave: Ecotoxicologia, macrofauna bêntica, Polychaeta.

**ABSTRACT****Bioprospecting of benthic macroinvertebrates for ecotoxicological testing of marine and estuarine sediments**

The aim of this study was to explore marine macrobenthic invertebrates from Maranhão Island with potential to be used in ecotoxicological tests. The samples were taken in the beaches of Araçagy, Praia do Meio and Mangue Seco. Among the species that were found, *Laeonereis culveri* attended the highest number of criteria for test-organism, and therefore were subjected to toxicity test with a reference substance. The polychaetes were acclimated during 4 days and then exposed for 48 hours to different concentrations of CdCl<sub>2</sub>: 3.12, 6.25, 12.5, 25.0 and 50.0 mg/L, each concentration with three repetitions. At the end of acclimation time survival rate was greater than 96 %. The species showed sensitivity to cadmium with a LC50<sub>(48h)</sub> 16.6 mg/L, similarly to those found for other Nereididae species. It is suggested that *L. culveri* can be used as a test organism for bioassays with sediments of marine and estuarine regions of the Island of Maranhão, considering its abundance, representativeness, information regarding its biology, adaptation to laboratory conditions and sensitivity.

Key-words: Benthic macrofauna, ecotoxicology, Polychaeta.

A complexidade dos ambientes aquáticos e suas variações estão relacionadas com a dinâmica e interação dos seus constituintes químicos e físicos e estes, por sua vez, interferem diretamente na atividade biológica, promovendo muitas vezes modificações severas no ambiente como a perda da biodiversidade (Melo & Abessa, 2002). Substâncias químicas lançadas em ambientes aquáticos, sejam elas dissolvidas ou particuladas, podem ser adsorvidas aos materiais em suspensão, podendo acumular no sedimento, processo denominado geoacumulação (Mozeto & Zagatto, 2008). Tais processos tornam o sedimento o local de maior concentração de contaminantes dos ecossistemas aquáticos, que em condições específicas, podem atuar como fontes de contaminação para os ecossistemas (Abessa, 2006).

A avaliação da qualidade dos sedimentos dos ecossistemas aquáticos é relevante do ponto de vista das ciências ambientais e pode ser um importante mecanismo para a avaliação, gerenciamento e recuperação de áreas degradadas. Nesse contexto, a ecotoxicologia fornece uma importante ferramenta analítica para estudar os efeitos adversos dos agentes tóxicos nos sistemas biológicos sob condições específicas de exposição (JAMES *et al.*, 2000), em consequência, os efeitos desses constituintes sobre os organismos-teste podem ser quantificados e avaliados através dos ensaios ecotoxicológicos. Nesses ensaios são utilizados organismos-testes representativos do ambiente os quais são expostos a diferentes amostras ou diferentes concentrações de uma amostra em um intervalo de tempo (COSTA *et al.*, 2008), permitindo acessar dados sobre sua qualidade e identificar amostras potencialmente tóxicas.

Diferentes organismos aquáticos têm sido utilizados para testes de toxicidade com sedimentos marinho-estuarinos. No Brasil, os organismos mais comumente utilizados são: ouriços-do-mar *Lytechinus variegatus* e *Echinometra lucunter*, a ostra *Crassostrea rhizophorae*, o tanaidáceo *Kalliapseudes schubarti*, os anfípodos *Tiburonella viscana* e *Leptocheirus plumulosus*, copépodo *Nitocra* sp. e poliquetas de diferentes espécies (Reish & Gerlinger, 1997; Prósperi & Nascimento, 2008; Ferraz, 2013).

As espécies mais indicadas para os ensaios com sedimentos são aquelas que vivem em contato direto com o substrato e água intersticial, porém alguns critérios devem ser observados para a seleção dos organismos-teste como a sensibilidade à diversidade de agentes químicos, abundância e disponibilidade, distribuição, estabilidade genética, uniformidade de sua população, representatividade de seu nível trófico, importância comercial, facilidade de cultivo e adaptação às condições diversas em laboratório

(Rand & Petrocelli, 1995; Costa *et al.*, 2008). Por isso é necessário que sejam conhecidos os aspectos biológicos da espécie como reprodução, hábitos alimentares e comportamento, bem como os aspectos relacionados à fisiologia e ecologia, os quais servirão de base para manutenção destes organismos sob condições laboratoriais (Domingues & Bertoletti, 2008).

Os anfípodos são comumente utilizados para testes com sedimentos, devido à sua alta sensibilidade. Dentre as espécies de anfípodos padronizadas apenas *Tiburonella viscana* (J.L. Barnard, 1964) e *Grandidierella bonnieroides* (Stephensen, 1947) são nativas de ecossistemas brasileiros (Abessa *et al.*, 1998; Melo & Abessa, 2002). No entanto os dados sobre a distribuição dessas espécies ao longo da costa brasileira não são consistentes, e há ausência de registro delas para a costa maranhense. Segundo Thomas & Barnard (1983), a espécie *T. viscana* é uma sinônimoia das espécies *Platyischnopus viscana*, Barnard (1964) e *Platyischnopus gracilipes*, Schellenberg (1931), pertencente à família Platyischnopidae (Barnard & Drummond, 1979) e distribuída no Brasil entre os paralelos 23°30'S e 25°02'S (Wakabara *et al.*, 1991) entre 0 e 21 m de profundidade.

A demanda atual de avaliação da qualidade ambiental na Ilha do Maranhão, considerando os problemas relacionados ao crescimento urbano sem planejamento, a falta de coleta e tratamento de efluentes domésticos, industriais e hospitalares, a grande movimentação de cargas no complexo portuário do Itaqui, entre outros, inclui a necessidade de se encontrarem organismos representantes da macrofauna bêntica local que atendam aos requisitos necessários para sua aplicação em ensaios ecotoxicológicos com amostras de sedimento.

Os ensaios ecotoxicológicos foram incorporados recentemente à legislação ambiental brasileira, como por exemplo, a Resolução CONAMA 454/2012 que indica a necessidade de se avaliar o sedimento em determinadas operações de dragagem através de análises químicas e ecotoxicológicas. Dessa forma, cada vez mais a qualidade de sedimentos marinhos e estuarinos deverá ser acessada através de análises laboratoriais e desenvolver metodologias próprias considerando as características locais é premente no cenário atual de grandes mudanças ambientais e climáticas. Desta forma, o objetivo deste trabalho foi prospectar macro invertebrados bênticos da fauna em dois municípios da Ilha do Maranhão, com potencial para utilização em testes ecotoxicológicos de sedimentos marinho-estuarinos. Em seguida, o organismo escolhido foi submetido ao procedimento de aclimação em laboratório e ensaio agudo com

substância de referência (ASTM, 2007).

As amostragens foram feitas em ambientes costeiros em dois municípios da Ilha do Maranhão: São José de Ribamar (Praia do Araçagi e Praia do Meio) e Raposa (Mangue Seco, área estuarina do município). A escolha dos pontos de coleta levou em consideração a distância de fontes de poluição, facilidade de acesso e informações disponíveis na literatura. Foram feitas três coletas na praia do Araçagi, duas na praia do Meio e uma no Mangue Seco (Figura 1) sendo que as coletas ocorreram no período de maio a agosto de 2014.

As amostras foram coletadas com o auxílio de dragas de Petersen e de Gibbs, tendo sido coletadas três amostras por ponto, sendo considerada uma amostra ideal aquela que obteve 1/2 ou 2/3 do pegador preenchido com sedimento e que continha água de fundo, seguindo recomendação da CETESB (1987).

O material coletado para a avaliação da macrofauna bêntica foi imediatamente preservado com formaldeído 40% neutralizado, com volume suficiente para que a concentração final na amostra estivesse entre 4 e 10% (CETESB, 1987). As amostras foram analisadas no Laboratório de Ecotoxicologia (LabEcotox) e no Laboratório de Manguezais (LAMA), ambos da Universidade Federal do Maranhão (UFMA).

A preparação das amostras para a identificação da macrofauna bêntica foi feita por meio de lavagem sobre tela de PVC. Após a retirada do material grosseiro, o restante da amostra foi lavado em peneira com abertura de malha de 0,5 mm. O material retido

na rede foi imediatamente lavado, sob torneira, com fluxos suaves de água corrente e em seguida, o material retido na rede foi acondicionado em potes de vidro de 500 mL. Para a conservação do material, os potes foram preenchidos com, no máximo, 1/2 do volume da amostra e 1/2 do líquido conservador, constituído por etanol 70° GL e solução de Rosa Bengala (1 g/1000 mL de álcool etílico comercial).

A triagem fina foi feita com o auxílio de estereomicroscópio em placa de Petri com fundo quadriculado (de 0,5 a 1 cm). A identificação dos organismos foi realizada com o auxílio de chaves de identificação (Rios, 1994; Amaral & Nonato, 1994; Amaral, 2005; Oliveira *et al.*, 2010) até o menor nível taxonômico possível, sendo priorizada a identificação mais detalhada de organismos pertencentes a grupos taxonômicos já conhecidos na literatura para teste de toxicidade, sempre levando em consideração o que foi apontado por Bartolus (2008), o qual descreve a importância da taxonomia para os estudos ecológicos.

Após a identificação dos taxa e definição dos grupos de maior ocorrência (representativas), as espécies foram comparadas entre si considerando características desejáveis a um organismo-teste, ou seja, informações quanto a sensibilidade à diversidade de agentes químicos, abundância e disponibilidade, cosmopolitismo da espécie, representatividade de seu nível trófico, importância comercial e dados disponíveis quanto a facilidade de cultivo e de adaptação às condições de laboratório (Rand & Petrocelli, 1995; Costa *et al.*, 2008).

Foram coletados um total de 2.182 indivíduos

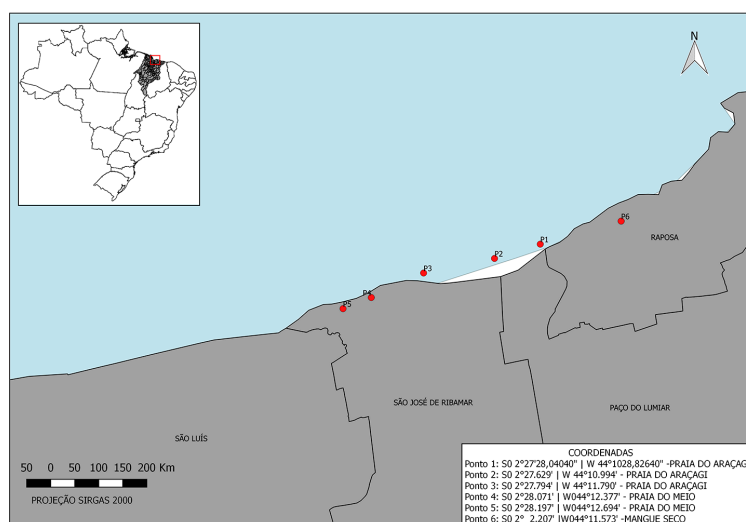


Figura 1. Localização dos pontos de amostragem na Ilha do Maranhão.

pertencentes a seis grupos taxonômicos distintos: Bivalvia, Polychaeta, Gastropoda, Amphipoda, Echinoidea e Crustacea (Tabela 1), sendo que os grupos mais representativos foram Gastropoda constituindo 59,7% da amostra e Polychaeta com 33,5%. Os grupos com menor representatividade foram Crustacea (2,80%), Bivalvia (2,50%), Amphipoda (1,0%) e Echinoidea (0,5%).

Tabela 1. Quantificação dos espécimes por ponto de coleta com a utilização de dois diferentes amostradores: Petersem (P) e Gibbs (G).

ESPÉCIMES	PONTO 1		PONTO 2		PONTO 3		PONTO 4		PONTO 5		PONTO 6	
	P	G	P	G	P	G	P	G	P	G	P	G
Bivalvia	8	7	3	8	1	1	13	-	11	-	1	1
Polychaeta	39	17	32	20	37	41	39	-	12	-	419	75
Gastropoda	103	438	109	248	105	129	81	-	81	-	5	3
Amphipoda	0	1	0	0	5	2	7	-	7	-	0	0
Echinoidea	0	4	1	2	1	0	2	-	2	-	0	0
Crustacea	16	3	1	9	5	9	8	-	8	-	0	2
<b>Total</b>	<b>166</b>	<b>470</b>	<b>146</b>	<b>287</b>	<b>154</b>	<b>182</b>	<b>150</b>	<b>-</b>	<b>121</b>	<b>-</b>	<b>425</b>	<b>81</b>

A seguir estão listados os taxa da macrofauna bêntica identificados na área amostrada (praia do Araçagi, praia do Meio e Mangue Seco).

Lista dos taxa:

Classe: Gastropoda

Ordem: Neogastropoda

Família: Olividae

Gênero: *Olivella*

Classe: Bivalvia

Ordem: Veneroida

Família: Veneridae

Gênero: *Tivela*

Espécie: *Tivela maactroides* (Born, 1778)

Ordem: Veneroida

Família: Donacidae

Gênero: *Donax*

Família: Veneridae

Gênero: *Anomalocardia*

Família: Donacidae

Gênero: *Donax*

Ordem: Nuculoida

Família: Nuculidae

Gênero: *Nucula*

Classe: Polychaeta

Ordem: Spionida

Família: Magelonidae

Ordem: Aciculata

Família: Lumbrineridae

Ordem: Phyllodocida

Família: Nereididae  
Gênero: *Laeonereis*  
Espécie: *Laeonereis culveri* (Webster, 1879)

Classe: Malacostraca  
Ordem: Decapoda  
Família: Pinnotheridae  
Gênero: *Pinnixa*  
Família: Paguridae  
Ordem: Amphipoda  
Família: Gammaridea  
Ordem: Cumacea  
Ordem: Natantia  
Ordem: Brachyura

Classe: Echinoidea  
Ordem: Clypeasteroidea  
Família: Mellitidae  
Gênero: *Mellita*  
Espécie: *Mellita quinquesperforata* (Leske, 1778)

Dentre os grupos identificados os dois que atenderam ao maior número de critérios para escolha de um organismo-teste foram Amphipoda e Polychaeta, os quais têm uma vasta utilização em ensaios de toxicidade (Bat, 2005). Os anfípodos identificados nas amostras pertencem à família Gammaridae, sendo que algumas espécies dessa família têm sido utilizadas em bioensaios como *Gammarus pseudolimnaeus* (SPEHAR *et al.*, 1978) e *Gammarus pulex* (Bat *et al.*, 2000). Estas duas espécies de Gammaridae destacam-se pelo tamanho corpóreo e facilidade de cultivo em condições de laboratório. Vale ressaltar que no Brasil, a Resolução CONAMA 454 (2012) indica que, preferencialmente, os organismos-teste para avaliação de sedimentos devam ser do grupo dos anfípodas. Entretanto, os espécimes obtidos nos diferentes pontos de coleta na Ilha do Maranhão apresentavam tamanho reduzido e baixa representatividade nas amostras (1,0%) o que limitaria sua utilização como organismo-teste.

Por outro lado, os poliquetas, além de atenderem ao maior número de critérios para escolha de um organismo-teste, foram o segundo grupo mais frequente nas amostras (33,5%). Dentre suas principais características, destaca-se por sua grande importância ecológica, uma vez que são utilizados na dieta alimentar de muitas espécies de peixes, aves e invertebrados maiores, e ao mesmo tempo, predadores de invertebrados menores (ASTM, 2007). Ademais, estão entre os organismos mais abundantes da macrofauna de invertebrados bênticos constituindo cerca de 35 a 50% dos espécimes (Knox, 1977),

sendo alguns utilizados como organismo-teste para avaliar os efeitos das substâncias tóxicas no ambiente marinho (Reish & Gerlinger, 1997). Tais organismos têm sido utilizados em testes de toxicidade desde a década de 60, tendo como trabalhos pioneiros o de Reish & Bamard (1960), que utilizaram *Capitata capitella* (Fabricius, 1780) para ensaios com diferentes concentrações de oxigênio dissolvido.

A utilização de poliquetas em bioensaios é bem relatada, sendo utilizadas várias espécies de diferentes famílias: Capitellidae, Dinophilus, Dorvilleidae e Nereididae. Dentre as espécies mais utilizadas em testes de toxicidade estão *Cirriiformia spirabranca*, *Neanthes arenaceodentata*, *Glycinde picta*, *Serratus Crenodrilus*, *Arenicola cristata*, *Virens Nereis*, *Glycera dibranchiata*, *Nephtys cecos*, *Dynophilus gyrotiliatus*, *Ophryotrocha labronica*, *O. diadema*, *Streblospio benedicti* e *Hediste diversicolor* (Bat, 2005). Dentre os testes que empregam estes poliquetas destacam-se os ensaios agudos, em que a mortalidade é o efeito observado e o tempo de exposição ao contaminante é de poucos dias (geralmente até 96h).

Das famílias de poliquetas identificadas neste trabalho, Nereididae teve maior destaque, devido à sua importância ecológica, sendo que espécies desta família formam um dos grupos mais conhecidos de poliquetas com relação à sua frequência e distribuição (Glasby, 1999). Dentre as espécies pertencentes a esta família, *Laeonereis culveri* um poliqueta tipicamente estuarino no Brasil, tem sido bastante empregada em estudos toxicológicos (Geracitano *et al.*, 2002) (Figura 2).

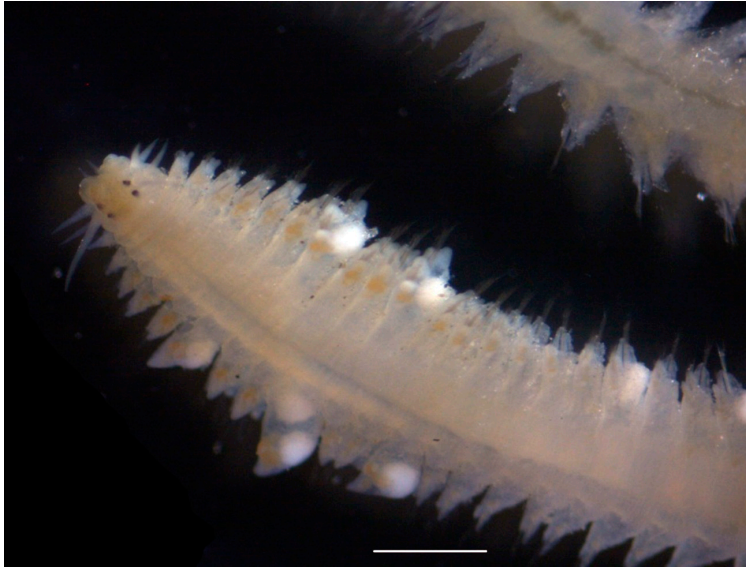


Figura 2. Vista dorsal de *L. culveri* fixado em formol 4% em água doce e conservado em álcool a 70%.

Efeitos de diversos contaminantes já foram relatados para esta espécie, sendo sua utilização importante em estudos de efeitos de diversos poluentes sobre o sistema antioxidante (Geracitano *et al.* 2000, 2002, 2004a, 2004b). Estudos do estresse oxidativo na espécie incluem diversos contaminantes como o cádmio, cobre e peróxido de hidrogênio (Geracitano *et al.*, 2004a; Rosa *et al.*, 2005; Sandrini *et al.*, 2006). Os poliquetas desta espécie são de fácil coleta, identificação (movimentação em serpentina) e manutenção em laboratório. Além disso, o fato de não apresentarem muita mobilidade facilita sua utilização (Svendsen & Weeks, 1997, Geracitano *et al.*, 2000).

*Laeonereis culveri* tem ampla distribuição, tendo sido considerada a única espécie válida do gênero com ocorrência ao longo da costa atlântica das Américas (Oliveira, 2009). Animais referidos como *L. culveri* têm a reconhecida capacidade de ocupar diversos habitats costeiros, com ampla tolerância às variações de temperatura e salinidade (0 a 28 g/kg) (Pettibone, 1971), o que possivelmente explica a sua ampla distribuição.

Pelos motivos apresentados, a espécie de poliqueta *L. culveri* foi a que mais atendeu aos critérios de escolha de organismo-teste, sendo esta a espécie selecionada como organismo-teste.

#### **Teste de toxicidade com *L. culveri* como organismo-teste**

Uma nova coleta foi feita no ponto 6 em 30 de abril de 2015 para a obtenção dos poliquetas os quais foram submetidos ao processo de aclimação e ensaio

de toxicidade. As amostras foram acondicionadas em frascos de vidro contendo sedimentos e água do local e transportadas para o laboratório em caixas de isopor com gelo. Os procedimentos de coleta, aclimação e exposição à substância de referência seguiram o proposto por Geracitano *et al.*, (2000), sendo que a taxa de sobrevivência foi determinada no final do período subtraindo-se o número de indivíduos mortos no final da aclimação do número de indivíduos vivos no início da aclimação.

Os poliquetas foram aclimatados durante quatro dias em dois aquários de vidro contendo uma camada de aproximadamente 2 cm de sedimento do local da coleta, com volume de água de 5 L, temperatura 23°C, salinidade 10 g/kg e pH 8,0. Os aquários foram mantidos sob iluminação e aeração constante. Os indivíduos não foram alimentados durante a aclimação, assumindo-se que obtiveram seu alimento do próprio sedimento em que foram mantidos.

Uma alíquota do sedimento coletado juntamente com os poliquetas foi submetida à análise granulométrica e do teor de matéria orgânica. A granulometria foi obtida por método de peneiramento utilizando-se 30 g de sedimento seco em malhas progressivamente menores (intervalo de  $\frac{1}{2} \phi$ ), para determinar as massas das frações relativas a cada malha segundo o sistema de classificação Wentworth (1922).

Para a determinação do teor de matéria orgânica, foi utilizado o método de Wetzel (1975) em que foram pesados 5 g de sedimentos seco em

béqueres e digeridos com ácido clorídrico para a remoção de carbonatos. Em seguida, as amostras foram lavadas com água destilada em papéis de filtro e secas em estufa a 60°C por 24 horas. Logo após, o sedimento seco foi pesado em cadinhos e aquecidos em mufla a 450°C por 4h. O valor da matéria orgânica foi obtido por meio da equação:

$$\%M.O. = [(PI - PII) / PII] \times 100$$

Onde:

%MO = Teor de matéria orgânica;

PI = Peso da amostra com a matéria orgânica;

PII = Peso da amostra sem a matéria orgânica;

Após a aclimação os indivíduos saudáveis foram selecionados para a realização do teste de toxicidade. Foram considerados os indivíduos saudáveis aqueles que não possuíam anomalias morfológicas, os que estavam inteiros e aqueles que apresentavam mobilidade típica da espécie. O teste consistiu na exposição dos indivíduos durante 48h a diferentes concentrações de cloreto de cádmio ( $CdCl_2$ ), a saber: 3,12; 6,25; 25,00 e 50,00 mg/L, além do grupo controle (água na salinidade 10 g/kg, também utilizada para a preparação das soluções de cádmio) em frascos de vidro contendo 100 mL de solução-teste sem sedimento e sem alimentação.

Cada solução foi preparada com 3 réplicas contendo os organismos-teste e uma unidade extra (sem organismos) para a análise da água. Foram distribuídos aleatoriamente oito poliquetas por réplica totalizando 24 indivíduos por concentração. Os parâmetros pH, salinidade e temperatura foram monitorados durante todo o experimento. Os indivíduos mortos foram contabilizados e retirados a cada 24 h. A concentração letal mediana ( $CL_{50}$ ) de  $CdCl_2$  foi estimada através da regressão linear entre a transformação de probitos da porcentagem de mortalidade corrigida (Y) e o  $\log_{10}$  da concentração de  $CdCl_2$  (X) (Vincent, 2008).

O resultado das análises granulométricas do sedimento utilizado para aclimação dos poliquetas apresentaram a frequência simples relacionada com o tamanho do grão em *phi* (Tabela 2). Foi observado que a frequência maior está para valores de *phi* entre 3,0 e 3,5, o que caracteriza a amostra como areia muito fina. A média desta amostra foi de 3,0 enquanto a mediana 2,9 *phi*. Quanto à seleção, foi descrito como bem selecionado com valores de 0,360 e valor de assimetria de 0,081, sendo classificada como aproximadamente simétrica. A curtose foi de 0,816 com classificação platicúrtica. O teor de matéria orgânica presente no sedimento foi de 1,5 %.

Com relação à sobrevivência dos poliquetas em laboratório, dos 161 indivíduos obtidos em uma única coleta, 155 indivíduos permaneceram vivos

Tabela 2. Frequência das classes granulométricas observadas.

<i>Phi</i>	2,5	3,0	3,5	4,0
%	4,18	45,48	42,36	6,64

após 4 dias de aclimação, com percentual superior a 96 %. Segundo Astm (2007), um lote de organismos que obtiverem mais de 5% de mortalidade após a aclimação não se encontra apto para realização de testes de toxicidade. Nesse sentido, a baixa mortalidade de *L. culveri* ao final da aclimação (3,37 %), sugere que os organismos estavam aptos para serem utilizados nos ensaios de toxicidade.

Além da eficiência de cultivo/manutenção em laboratório o organismo-teste precisa ser sensível aos agentes tóxicos, uma vez que a avaliação dos efeitos frente à exposição a uma substância de referência é parte importante dos métodos ecotoxicológicos. Os testes de toxicidade realizados com estas substâncias avaliam a sensibilidade dos organismos os quais posteriormente serão utilizados para detectar a toxicidade das amostras-teste, sendo este um procedimento relacionado à exatidão e precisão do método (Environment Canada, 1995).

Uma substância de referência deve possuir alguns requisitos como: ter meia vida longa e estável, estar disponível na forma pura, apresentar uma boa curva de concentração-resposta para o organismo, ser estável em solução aquosa e apresentar um baixo risco a saúde humana (Environment Canada, 1992). O cádmio é um metal contaminante e tem sido utilizado como substância de referência para organismos marinhos (Waalkes, 2000).

No ensaio feito com  $CdCl_2$ , não houve mortalidade nos frascos controle, sendo que a mortalidade na concentração mais baixa (3,125 mg/L) foi de 8,3 %, enquanto que na concentração mais elevada (50,0 mg/L) foi de 100%. A  $CL_{50}$  de cloreto de cádmio foi estimada através da equação  $Y = 1,619 + 2,7705 X$  ( $R^2 = 0,73$ ), cujo valor foi de 16,6 mg/L (Figura 3).

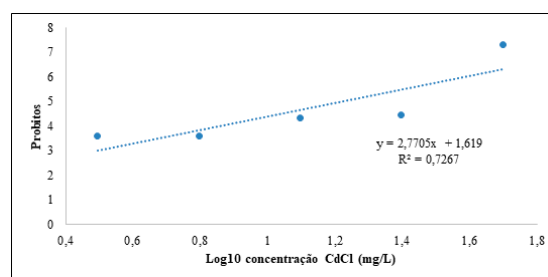


Figura 3. Regressão linear entre a transformação de probitos da porcentagem de mortalidade corrigida (Y) e o  $\log_{10}$  da concentração de  $CdCl_2$  (X).

Este resultado é condizente com o que já foi verificado para outras espécies da família Nereidae expostas ao cádmio. Segundo Reish & Gerlinger, (1997) os valores CL50<sub>(96h)</sub> variam de 4,7 a 87,0 mg/L, sendo que a temperatura, salinidade e granulometria do sedimento alteram significativamente a toxicidade. Dillon *et al.* (1993) consideraram o valor de CL50<sub>(96h)</sub> de 5,2 mg/L (salinidade 30 g/kg) como valor de referência no desenvolvimento de um bioensaio para a espécie *Neanthes arenaceodentata* com sedimentos contaminados. Apesar do ensaio deste trabalho ter a duração de 48 horas, considerou-se que a sensibilidade de *L. culveri* é semelhante à observada para as outras espécies da família Nereidae.

Dessa forma, sugere-se que *L. culveri* seja empregado como organismo-teste para bioensaios com sedimentos de regiões marinhas e estuarinas da Ilha do Maranhão, considerando sua abundância, representatividade, informações quanto a sua biologia, adaptação às condições de laboratório e sensibilidade. Os resultados obtidos neste estudo podem contribuir com o início do desenvolvimento de um protocolo para ensaios ecotoxicológicos com amostras de sedimentos do litoral norte brasileiro.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ABESSA, D.M.S.; SOUSA E.C.P.M. & TOMMASI L.R. 2006. Utilização de testes de toxicidade na avaliação da qualidade de sedimentos marinhos. *Rev. Geol.*, 19(2): 253–261.
- ABESSA, D.M.S.; SOUSA, E C.P. M.; RACHID, B.R.F. & MASTROTI, R.R. 1998. Use of the burrowing amphipod *Tiburonella viscana* as tool in marine sediments contamination assessment. *Braz. Arch. Biol. Techn.*, 41(2): 225–230.
- AMARAL, A.C.Z. & NONATO, E.F. 1996. Annelida Polychaeta: características, glossário e chaves para famílias e gêneros da costa brasileira. Editora da Unicamp. 124 p.
- AMARAL, A.C.Z. 2005. Manual de identificação dos invertebrados marinhos da região sudeste-sul do Brasil: Vol 1. 1 Editora da Universidade de São Paulo. 288p.
- AMERICAN SOCIETY FOR TESTING AND MATERIALS (ASTM). 2007. Standard guide for conducting sediment toxicity tests with Polychaetous annelids. Method E 1611–07.
- BARNARD, J. L. 1964. Los anfipodos bentonicos marinos de la costa occidental de Baja California. *Revista de la Sociedad Mexicana de Historia Natural*, 24, 205 - 274.
- BARTOLUS, A. 2008. Error cascades in the biological sciences: The unwanted consequences of using bad taxonomy in ecology. *Ambio*, 37(2): 114-118.
- BAT, L. 2005. A Review of Sediment Toxicity Bioassays Using the Amphipods and Polychaetes. *Turk. J. Fish. Aquat. Sc.*, 5: 119-139.
- BAT, L.; AKBULUT, M.; ÇULHA, M.; GÜNDOĞDU, A. & SATILMIS, H.H. 2000. Effect of temperature on the toxicity of zinc, copper and lead to the freshwater amphipod *Gammarus pulex*. *Tr. J. Zoology*, 24: 409-415.
- BRASIL. RESOLUÇÃO CONAMA Nº 454, DE 01 DE NOVEMBRO DE 2012. Estabelece as diretrizes gerais e os procedimentos referenciais para o gerenciamento do material a ser dragado em águas sob jurisdição nacional. Brasília, DF, 01 nov. 2012.
- COMPANHIA DE TECNOLOGIA DE SANEAMENTO AMBIENTAL - CETESB. L5021.1987. Água do mar - Teste de toxicidade aguda com *Artemia*: método de ensaio. São Paulo.
- COSTA C.R.; OLIVI P.; BOTTA C.M. R. & ESPINDOLA E.L.G. 2008. A toxicidade em ambientes aquáticos: discussão e métodos de avaliação. *Quim. Nova*, 31(7): 1820–1830.
- DILLON, T.M., MOORE, D.W. & GIBSON, A.B. 1993. Development of a chronic sublethal bioassay for evaluating contaminated sediment with the marine polychaete worm *Nereis (neanthes) arenaceodentata*. *Environ. Toxicol. and Chem.*, 12: 589–605.
- DOMINGUES, D.F. E BERTOLETTI, E. 2008. Seleção, Manutenção e Cultivo de Organismos Aquáticos. 2 ed. In: Zagatto, P. A. E Bertoletti, E. (ed.), *Ecotoxicologia aquática: princípios e aplicações*. RIMA, São Carlos, p.153–184.
- ENVIRONMENT CANADA. 1992. Biological test method: Acute test for sediment toxicity using marine or estuarine amphipods. Report EPS1/RM/26- Canada.
- ENVIRONMENT CANADA. 1995. Guidance document on measurement of toxicity test precision using control sediment spiked with a reference toxicant. Report EPS 1/RM/5. Environmental Technology Centre, Ottawa, ON.
- FABRICIUS, O. 1780. [POLYCHAETA E ANNELIDA DATA. p.266-315; 374-384] *Fauna Groenlandica, systematice sistens, Animalia*



- Groenlandiae occidentalis hactenus indagata, quoad nomen specificum, triviale, vernaculumque synonyma auctorum plurium, descriptionem, locum, victum, generationem, mores, usum, capturamque singuli prout detegendi occasio fuit, maximaque parte secundum proprias observationes: Hafniae [Copenhagen] et Lipsiae.
- FAUCHALD, K. 1977. The polychaeta worms definitions and keys to orders, families and genera. Natural History Museum of Los Angeles County, 188 p
- FERRAZ, MARIANA ALICEDA. 2013. Desenvolvimento e aplicação de um método para a avaliação e identificação da toxicidade usando o organismo bentônico *Nitocra* sp. (Crustacea: Copepoda: harpacticoida), São Paulo. p. 55.
- GERACITANO, L.A.; BOCCHETTI, R.; MONSERRAT, J.M.; REGOLI, F. & BIANCHINI, A. 2004b. Oxidative stress responses in two populations of *Laeonereis acuta* (Polychaeta, Nereididae) after acute and chronic exposure to copper. *Mar. Environ. Res.* 58: 1–17.
- GERACITANO, L.A.; MONSERRA, T.J. M.; BAINY, A.C. D. & BIANCHINI, A. 2000. Avaliação do estresse oxidativo em *Laeonereis acuta* (Polychaeta, Nereididae): condições de manutenção dos animais em laboratório. In: Espíndola, E.L.G., Botta Paschoal, C.M.R., Rocha, O., Camino Boher, M.B. e de Oliveira Neto, A.B. (eds), *Ecotoxicologia. Perspectivas para o século XXI*. RIMA, São Carlos, pp. 129–145.
- GERACITANO, L.A.; LUQUET, C. M.; MONSERRAT, J.M. & BIANCHINI, A. 2004. Histological and morphological alterations induced by copper exposure in *Laeonereis acuta* (Polychaeta, Nereididae). *Mar. Environ. Res.*, 58: 263–267.
- GERACITANO, L.A.; MONSERRAT, J.M. & BIANCHINI, A. 2002. Physiological and antioxidant enzyme responses to acute and chronic exposure of *Laeonereis acuta* (Polychaeta, Nereididae) to copper. *J Exp Mar Biol Ecol* 2002; 277: 145–156.
- GLASBY, C. 1999. The Namanereidinae (Polychaeta: Nereididae). Part 1. Taxonomy and phylogeny, Part 2 Cladistic Biogeography. *Rec. Aust. Mus. Suppl.*, Sydney, v. 25, 129 p.
- JAMES, R.C.; ROBERTS, S.M. & WILLIAMS, P.L. 2000. In: *Principles of Toxicology: Environmental and Industrial Applications*; Williams, P. L.; James, R. C.; Roberts, S. M., eds.; 2 ed., John Wiley & Sons: New York, cap. 1.
- KNOX, G. A. 1977. The role of polychaetes in benthic soft-bottom communities. In: D. J. Reish and K. Fauchald, (eds). *Essays in honor of Dr. Olga Hartman*. Allan Hancock Foundation, University of Southern California, Los Angeles. p. 547-604.
- LANA, P. C. 1984. Anelídios poliquetas errantes do litoral do estado do Paraná. Tese de Doutorado do Instituto Oceanográfico da Universidade de São Paulo. São Paulo. 275p.
- LESKE, N. G., 1778. *Additamenta ad Jacob Theodori Klein Naturalem Dispositionem Echinodermatum et Lucubratiunculam de Aculeis Echinorum Marinorum*. Upsala, 216 pp.
- LESKE, N. G., 1778. *Additamenta ad Jacob Theodori Klein Naturalem Dispositionem*
- MELO, G.A. S. de 1996. Manual de identificação dos Brachyura (caranguejos e siris) do litoral brasileiro. São Paulo: Plêiade / FAPESP. 604p.
- MELO, G.A.S. de. 1999. Manual de identificação dos Crustacea Ecossistemas Aquáticos, Costeiros e Continentais, 461 I | VI Congresso de Ecologia do Brasil, Fortaleza, 2003. Decapoda do litoral brasileiro: Anomura, Thalassinidea, Palinuridea,, Astacidea. São Paulo: Plêiade / FAPESP. 551p.
- MELO, S.L.R. & ABESSA, D.M.S. 2002. Testes de toxicidade com sedimentos marinhos utilizando anfípodos. In: I. A. Nascimento, E. C. P. M. Sousa & M. Nipper. (ed), *Métodos em ecotoxicologia marinha*. Artes Graf. Ind. Ltda., São Paulo, p.163-178.
- MOZETO, A.A. & ZAGATTO P.A. 2008. Introdução de Agentes Químicos no Ambiente. 2 ed. In: Zagatto, P. A. & Bertoletti, E. (ed.), *Ecotoxicologia aquática: princípios e aplicações*. RIMA, São Carlos, p.15-38.
- NONATO, E. F. & AMARAL, A. C. Z. 1979. Anelídeos Poliquetas - Chaves para Famílias e Gêneros. *Publ. Priv.*, São Paulo, 79 p.
- OLIVEIRA, V. M. 2009. Variabilidade morfológica de *Laeonereis* (Hartman, 1945) (Polychaeta: Nereididae) ao longo do atlântico Ocidental. *Dissertação (Mestrado em Zoologia) – Setor de Ciências Biológicas, Universidade Federal do Paraná*. 51P.
- OLIVEIRA, V.M., SANTOS, C.S.G., LANA, P.C., CAMARGO, M.G. 2010. Morphological variations caused by fixation techniques may lead to taxonomic confusion in *Laeonereis* (Polychaeta, Nereididae).

- Zoologia, 27: 146–150.
- PETTIBONE, M.H. 1971. Revision of some species referred to *Leptonereis*, *Nicon* and *Laeonereis* (Polychaeta: Nereididae). *Smithson Contrib. Zool.*, Washington, v. 104, 53 p.
- PRÓSPERI, V.A. & NASCIMENTO, I.A. 2008. Avaliação ecotoxicológica de ambientes marinhos e estuarinos. 2 ed. In: Zagatto, P. A. & Bertoletti, E. (ed.), *Ecotoxicologia aquática: princípios e aplicações*. RIMA, São Carlos, p.269-292.
- RAND, G.M. & PETROCELLI, S.R. 1985. *Fundamentals of aquatic toxicology*. Washington. 665p.
- REISH, D.J. & BARNARD, J.L. 1960. Field toxicity tests in marine water utilizing the polychaetous annelid *Capitella capitata* (Fabricius). *Pacific. Nat.*, 1 (21): 1–8.
- REISH, D.J. & GERLINGER, T.V. 1997. A review of the toxicological studies with polychaetous annelids. *Bul. Mar.Sci.* 60: 584–607.
- RIOS, E. C. e colabs. 1975. *Brasilian Marine Mollusks Iconography*. 1a ed., Rio Grande: FURG. 1.238p.
- RIOS, E. C. e colabs. 1994. *Seashells of Brazil*. 2ª ed. Rio Grande: FURG. 492p
- ROSA, C.E; IURMAN, M.G; ABREU, P.C; GERACITANO, L.A & MONSERRAT, J. M. 2005. Antioxidant mechanisms of the nereididae *Laeonereis acuta* (Annelida: Polychaeta) to cope with environmental hydrogen peroxide. *Physiol. Biochem. Zool*; 78: 641–9.
- SANDRINI, J.Z.; REGOLI, F.; FATTORINI, D.; NOTTI, A.; FERREIRA INÁCIO, A.; LINDE-ARIAS, A.R.; LAURINO, J.; BAINY, A.C.D.; MARINS, L.F.; MONSERRAT, J.M. 2006. Temporal responses to cadmium in the estuarine polychaete *Laeonereis acuta* (Polychaeta, Nereididae): subcellular distribution and oxidative stress generation. *Environ. Toxicol. Chem.* 25 (5): 1337–1344.
- SPEHAR, R.L.; ANDERSON, R.L. & FIANDT, J.T. 1978. Toxicity and bioaccumulation of cadmium and lead in aquatic invertebrates. *Environ. Pollut.* 15: 195–208.
- SPEHAR, R.L.; ANDERSON, R.L.; FIANDT, J.T. 1978. Toxicity and bioaccumulation of cadmium and lead in aquatic invertebrates. *Environ. Pollut.*, 15: 195–208.
- STEPHENSON, K. 1947. Amphipods from Curaçao, Bonaire, Aruba and Margarita. *Studies on the Fauna of Curacao, Aruba, Bonaire and the Venezuelan Islands*. 11: 1-20.
- SVENDSEN, C.; WEEKS, J. 1997. A simple low-cost field mesocosm for ecotoxicological studies on earthworms. *Comp. Biochem. Physiol.* 117C: 31–40.
- THOMAS, J. D. & BARNARD, J. L. 1983. The Platyischnopidae of America (Crustacea: Amphipoda). *Smithsonian Contributions to Zoology*. 375, 1 - 33.
- UEBELACKER, J.M.; JOHNSON, P.G. 1984. *Taxomic Guide to the Polychaeta of the Northern Gulf of Mexico*. Final Report to the Minerals Management Service. 14-12-001-29091. Bary A. Vittor & Associates, Inc., Mobile, Alabama. 7 Vols.
- VON BORN I. 1778. *Index rerum naturalium Musei Caesarei Vindobonensis. Verzeichniss der Natürlichen Seltenheiten des K.K. Naturalien Kabinets zu Wien. Erster Theil, Schalthiere*.
- WAALKES, M.P. 2000. Cadmium carcinogenesis in review. In: *J. Inorg. Biochem.* 79: 241–244.
- WAKABARA, Y., TARAMAN, A. S., VALERIO-BERARDO, M. T., DULEBA, W. & PEREIRA LEITE, F. P. 1991. Gammaridean and caprellidean fauna from Brazil. *Hydrobiologia*. 223, 69 - 77.
- WEBSTER, H.E. 1879. *The Annelida Chaetopoda of New Jersey*. Annual Report of the New York State Museum of Natural History, 32: 101–128.
- WENTWORTH, C.K. 1922. A scale of grade and class terms for clastic sediments. *J. Geol.*, 30: 377–392.
- WETZEL, R.G. 1975. W.B. Saunders Company, Philadelphia, London, and Toronto. Xii. *Limnology*. 743 p.