



Environment
Canada

Environnement
Canada



Biological Test Method: Sublethal Toxicity Tests to Assess Sediments Intended for Disposal at Sea (Fourth Edition)

**1/RM/40
May 2015**

Biological Test Method: Sublethal Toxicity Tests to Assess Sediments Intended for Disposal at Sea (Fourth Edition)

**Marine Programs
Environmental Protection Operations Directorate
Environment Canada
Gatineau, Quebec**

Reference Method

1/RM/40

May 2015

PDF version

ISBN 978-0-660-02733-3

Cat. No.: En84-129/2015E-PDF

Unless otherwise specified, you may not reproduce materials in this publication, in whole or in part, for the purpose of commercial redistribution without prior written permission from Environment Canada's copyright administrator. To obtain permission to reproduce Government of Canada materials for commercial purposes, apply for Crown Copyright Clearance by contacting:

Environment Canada

Inquiry Centre

7th Floor, Fontaine Building

200 Sacré-Coeur Boulevard

Gatineau QC K1A 0H3

Telephone: 819-997-2800

Toll Free: 1-800-668-6767 (in Canada only)

Email: ec.enviroinfo.ec@canada.ca

Cover photos: © Environment Canada

© Her Majesty the Queen in Right of Canada, represented by the Minister of the Environment, 2015

Aussi disponible en français

Reader's Comments

Comments regarding the content of this document should be addressed to:

Disposal at Sea Program
Marine Programs
Environmental Protection and Operations Directorate
Environmental Stewardship Branch
Environment Canada
Gatineau QC K1A 0H3

Telephone: 819-420-7624

Email: ec.immersionenmer-disposalatsea.ec@canada.ca

Cette publication est aussi disponible en français. Pour l'obtenir, s'adresser à :

Environnement Canada
Informatique
10, rue Wellington, 23^e étage
Gatineau (Québec) K1A 0H3

Review Notice

This report has been reviewed by the staff of the Disposal at Sea Program, Environment Canada. Mention of trade names or commercial products does not constitute endorsement by Environment Canada for use. Other products of similar value are available.

Abstract

This fourth edition of EPS 1/RM/40 supersedes the original 1998 edition, and both the second edition, published in 2001, and the third edition, published in 2006. This report references methods accepted by Environment Canada for performing sublethal tests for the assessment of marine or estuarine sediments or land-based excavated materials proposed for disposal at sea. An annex has been added to this edition, which includes two sublethal test methods that may, with advice from Environment Canada, be useful in rare situations that require the assessment of substances proposed for disposal at sea where elutriate or leachate testing may provide a representative estimate of toxicity, or where nutrient contamination is a particular concern. The tests assembled here have been developed and standardized to enable their use in a regulatory context. This document provides a consolidation of suitable methods specifically for ocean disposal assessment.

Each method referenced in this document is a complete method that can be used independently from the next. Full copies can be obtained from Environment Canada. Each standard reference method provides a description of the test and of the species that can be used. Procedures are given for holding test species in the laboratory and preparing them for the testing phase. Conditions and procedures are outlined for testing sediments. Instructions are included for test facilities, handling and storing samples, preparing test solutions and initiating tests, specific test conditions, appropriate observations and measurements, endpoints and methods of calculations, and validation of the test.

When using this document to support the characterization of sediments proposed for disposal or placement at sea, consultation with your nearest Disposal at Sea Program Office is recommended for advice. Where not included within the methods, pass/fail criteria to be applied in the context of disposal at sea characterizations can also be obtained by contacting your [nearest Disposal at Sea Program Office](#).

Résumé

La troisième édition du document SPE 1/RM/40 remplace la deuxième édition, publiée en 2006, ainsi que la première édition, publiée en 2001. Le corps du présent rapport décrit les méthodes recommandées par Environnement Canada aux fins de réalisation d'essais sublétaux en vue de l'évaluation des sédiments marins ou estuariens destinés à l'immersion en mer. L'annexe comprend une méthode recommandée par Environnement Canada pour réaliser un essai sublétal en vue de l'évaluation de l'élutriat ou du lixiviat en milieu marin, au cas où ce type d'évaluation deviendrait nécessaire dans le cadre d'une demande de permis d'immersion en mer. Les essais cités dans le présent document ont été sélectionnés à partir de méthodes revues par des pairs qui pourraient également être publiées de façon indépendante à d'autres fins. Le présent document fournit un regroupement pratique des méthodes appropriées et il permet de simplifier l'adaptation des méthodes d'évaluation en vue de l'immersion en mer.

Chaque chapitre de ce rapport présente une méthode complète qui peut être utilisée indépendamment des autres, ainsi qu'une description de l'essai et des espèces qui peuvent être utilisés. Le document présente également les modes de garde des espèces en laboratoire et de préparation de ces espèces en vue des essais de même que les conditions et les procédures d'essais sur les sédiments. Le lecteur trouvera des directives concernant les installations d'essai, la manipulation et le stockage des échantillons, la préparation des solutions d'essai, la mise en route des essais, les conditions particulières pour les essais, les observations et les mesures appropriées, les résultats des essais, les méthodes de calcul et la validation de l'essai.

Si le présent document est utilisé afin d'appuyer la caractérisation des sédiments proposés aux fins d'immersion ou d'utilisation en mer, il est recommandé de consulter le Bureau du Programme d'immersion en mer de votre région. Si les critères de réussite et d'échec à utiliser dans le contexte des caractérisations aux fins d'immersion en mer ne sont pas disponibles dans les méthodes, ils sont disponibles auprès du [Bureau du Programme d'immersion en mer de votre région](#).

Foreword

Biological test method: Sublethal toxicity tests to assess sediments intended for disposal at sea (EPS 1/RM/40)

This document references three complete sublethal toxicity testing methods suited to the evaluation of sediment or land-based excavated material proposed for disposal at sea, and two additional sublethal tests (in the Annex) that may, with advice from Environment Canada, be useful in rare situations that require the assessment of substances proposed for disposal at sea where elutriate or leachate testing may provide a representative estimate of toxicity, or where nutrient contamination is a particular concern. These methods can change from time to time. Any changes to the listed methods would result in a new edition of this summary document being published on the [CEPA Registry](#).

The five methods are:

Part 1: Biological test method. Reference method for determining the toxicity of sediment using luminescent bacteria in a solid-phase test (EPS 1/RM/42)

Part 2: Biological test method. Test for survival and growth in sediment using Spionid polychaete worms (*Polydora cornuta*) (EPS 1/RM/41)

Part 3: Reference method for measuring the toxicity of contaminated sediment to embryos and larvae of echinoid (sea urchins or sand dollars) (1/RM/58)

Annex:

a) Biological test method. Toxicity test using luminescent bacteria (*Photobacterium phosphoreum*) (EPS 1/RM/24)

b) Biological test method. Fertilization assay using echinoids (sea urchins and sand dollars) (EPS 1/RM/27)

This document references the standard biological test methods that can be used to help fulfil regulatory testing requirements for the characterization of a substance proposed for disposal at sea. These methods can also support other non-regulatory assessment of substances, and sediments in particular. The use of this document to support the characterization of sediments proposed for disposal or placement at sea should be done in consultation with your [nearest Disposal at Sea Program Office](#), which can provide additional guidance about the selection of appropriate tests and the interpretation of test results.

Avant-Propos

Méthode d'essai biologique : essais de toxicité sublétale en vue de l'évaluation des sédiments destinés à l'immersion en mer (SPE 1/RM/40)

Le présent document, présenté en trois parties et une annexe, rassemble quatre méthodes complètes d'essai de toxicité sublétale qui conviennent à l'évaluation des sédiments destinés à l'immersion en mer. Ces méthodes peuvent être modifiées de temps à autre. Les modifications seront signalées dans le [Registre de la LCPE](#).

Voici les cinq méthodes :

Partie 1 : Méthode d'essai biologique : méthode de référence servant à déterminer la toxicité des sédiments à l'aide d'une bactérie luminescente dans un essai en phase solide (SPE 1/RM/42)

Partie 2 : Méthode d'essai biologique : essai de survie et de croissance des vers polychètes spionides (*Polydora cornuta*) dans les sédiments (SPE 1/RM/41)

Partie 3 : Méthode de référence pour mesurer la toxicité des sédiments contaminés chez les embryons et les larves des échinides (oursins globuleux ou oursins plats) [SPE 1/RM/58]

Annexe :

a) Méthode d'essai biologique : essai de toxicité sur la bactérie luminescente (*Photobacterium phosphoreum*) [SPE 1/RM/24]

b) Méthode d'essai biologique : essais sur la fécondation chez les échinides (oursins globuleux et oursins plats) [SPE 1/RM/27]

Le présent document vise à orienter et à faciliter l'emploi de méthodes cohérentes, appropriées et exhaustives pour obtenir des données sur la toxicité de certaines substances pour les formes de vie aquatiques. L'utilisation de ce document pour appuyer la caractérisation des sédiments proposés aux fins d'immersion ou d'utilisation en mer devrait être en collaboration avec le [Bureau du Programme d'immersion en mer de votre région](#), qui peut fournir des indications supplémentaires sur la sélection des essais appropriés et l'interprétation des résultats des tests.

Part 1: This method is available in PDF format. [Biological test method. Reference method for determining the toxicity of sediment using luminescent bacteria in a solid-phase test \(EPS 1/RM/42\)](#)

Part 2: This method is available in PDF format. [Biological test method. Test for survival and growth in sediment using Spionid polychaete worms \(*Polydora cornuta*\) \(EPS 1/RM/41\)](#)

This test is considered to have failed if *the mean dry weight* observed in the organisms exposed to the test sediment *is more than 25% lower than that observed in the organisms exposed to the reference sediment and is statistically significant ($p < 0.05$)*.

Part 3: This method is available in PDF format. [Reference method for measuring the toxicity of contaminated sediment to embryos and larvae of echinoids \(sea urchins or sand dollars\) \(1/RM/58\)](#)

Annex:

a) This method is available in PDF format. **Biological test method.** [Toxicity test using luminescent bacteria \(*Photobacterium phosphoreum*\) \(EPS 1/RM/24\)](#)

b) This method is available in PDF format. **Biological test method.** [Fertilization assay using echinoids \(sea urchins and sand dollars\) \(EPS 1/RM/27\)](#)