



UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DE PERNAMBUCO
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM BIOCÊNCIA
ANIMAL

DISSERTAÇÃO DE MESTRADO

ESTEFANI SANTANA DO NASCIMENTO

**AVALIAÇÃO DOS EFEITOS LETAL E SUBLETAIS DO ÓLEO ORIUNDO DO
ACIDENTE OCORRIDO NO LITORAL PERNAMBUCANO EM
INVERTEBRADOS MARINHOS**

Orientadora: Prof^aDr^a Maria Adélia Borstelmann de Oliveira

Co-Orientadora: Prof^aDr^a Cristiane Maria Varela de Araújo de Castro

RECIFE

2022

ESTEFANI SANTANA DO NASCIMENTO

AVALIAÇÃO DOS EFEITOS LETAL E SUBLETAIS DO
ÓLEO ORIUNDO DO ACIDENTE OCORRIDO NO LITORAL
PERNAMBUCANO EM INVERTEBRADOS MARINHOS

Dissertação de Mestrado apresentada
ao programa de Biociência Animal da
Universidade Federal Rural de
Pernambuco, como pré-requisito
parcial para obtenção do título de
Mestre em Biociência Animal.

Orientadora: Prof^aDr^a Maria Adélia Borstelmann de Oliveira

Co-Orientadora: Prof^aDr^a Cristiane Maria Varela de Araújo de Castro

RECIFE

2022

ESTEFANI SANTANA DO NASCIMENTO

AVALIAÇÃO DOS EFEITOS LETAL E SUBLETAIS DO
ÓLEO ORIUNDO DO ACIDENTE OCORRIDO NO LITORAL
PERNAMBUCANO EM INVERTEBRADOS MARINHOS

Área de concentração:

Data da dissertação :

Resultado:

BANCA EXAMINADORA:

Prof^aDr^a Maria Adélia Borstelmann de Oliveira (Presidente)

Departamento de Morfologia e Fisiologia Animal da UFRPE

Prof^aDr^a Cristiane Maria Varela de Araújo de Castro (Coorientadora)

Departamento de Morfologia e Fisiologia Animal da UFRPE

Prof. Dr. Emmanuel Viana Pontual (1^o Titular)

Departamento de Morfologia e Fisiologia Animal da UFRPE

Prof.^a Dr.^a Ellen Cordeiro Bento da Silva (2^o Titular)

Universidade Federal Rural de Pernambuco

Prof.^a Dr.^a Daniela Maria Bastos de Souza (Suplente)

Universidade Federal Rural de Pernambuco

DEDICATÓRIA

Dedico essa dissertação a Cristiane Araújo, que me deu apoio, não desistiu de mim, me presenteou com palavras e ações de valor incalculável nessa jornada.

***“Se exponha aos seus medos mais profundos,
depois disso o medo não tem poder, ele encolhe e
desaparece. Você é livre”.***

(Músico: Jim Morrison)

AGRADECIMENTOS

Para iniciar queria muito agradecer a Deus, porque diversas vezes eu o encontrei em cada um de vocês. Quando precisava de uma mão estendida, de um abraço amigo, quando achava que tudo estava perdido ou quando me encontrava feliz e animada.

Agradeço a professora Dr^a. Cristiane Araujo, por todo amor contagiante que ela tem pelo seu trabalho. Por todo sorriso, simplicidade. Porque no decorrer do mestrado, travou comigo uma guerra contra todos os fatores adversos que surgiram e é um exemplo de professora, cientista e pessoa.

Agradeço a professora Dr.^a Maria Adélia, minha querida orientadora, que me presenteou nessa jornada do mestrado com sua presença. É um exemplo de humildade, alegria e profissionalismo que encontrei nessa “casa” universidade. Uma inspiração para vida.

Agradeço a minha linda mãe, que foi uma fofa comigo no decorrer da caminhada, me dando apoio, carinho, compreensão. Quando precisei das palavras de esperança, ela ali estava. Agradeço aos meus irmãos e a toda minha família, que de alguma forma contribuíram para que eu chegasse até aqui. Agradeço a Dione, Geni e Marina por todo gesto de carinho e amor.

A Juliana Queiroz, uma grande psicóloga que esteve comigo no decorrer dos desafios contribuindo para um maior autoconhecimento e em outros passos que dei nessa jornada.

Agradeço a Lucas que foi e é meu amigo de longa jornada, que me apoia e não me deixa sozinha mesmo nos momentos difíceis.

Agradeço a todos meus amigos do LECA:

A Leonardo Messias, meu amigão, por ter trabalhado duro, com muita dedicação junto a mim no laboratório, e por ser um amigo para todas as horas.

A Julianne Moura, pelas brincadeiras, sorrisos, conversas. Por toda ajuda durante o mestrado. Pela preocupação, atenção, apoio e empatia que me demonstrou nesses anos.

Agradeço a Maria Laura Soares, Sara Cadete, Giovanna Fernandes, por toda ajuda com os registros fotográficos. Pelos sorrisos no laboratório, o que faz o ambiente de trabalho ficar mais prazeroso, e pelo apoio que me deram.

A Juliana Ribeiro, por todas as risadas, conversas, brincadeiras. Apesar de ter concluído seu doutorado, participou de vários momentos nessa minha trajetória do LECA e sempre mantém contato comigo até hoje.

A Juliana Oliveira, que no começo do mestrado rodou alguns testes piloto comigo. Que caminhou bastante no centro do recife junto a mim, uma vez que estávamos movidas por acreditarmos nas pesquisas feitas no laboratório, e buscarmos ideias inovadoras para testar nossas hipóteses. Agradeço pela amizade e diálogo que me ofereceu nesse tempo.

Dedico a todos que estão começando essa caminhada no laboratório (Taís, Gaby, Jhonatan, Daniel, Maria Laura, Sara, Giovanna), que a jornada de vocês seja tão prazerosa quanto a minha foi e está sendo.

RESUMO

O presente estudo teve como objetivo avaliar o efeito da fração solúvel e bruta do óleo, que contaminou o litoral brasileiro no acidente ocorrido em 2019, em microcrustáceos aquáticos. Para isso foram realizados bioensaios ecotoxicológicos, utilizando como organismo teste o copépodo bentônico *Tisbe biminiensis*. Os bioensaios com a fração bruta do óleo tiveram duração de 1 mês, com troca de água semanal. Foi utilizado 0,5 g de óleo coletado em 5 diferentes praias do litoral pernambucano (Enseada dos Corais, Xaréu, Cupe, Paiva e Suape), 40 mL de água do mar filtrada e ração básica para peixes de aquário macerada. Os bioensaios com a fração solúvel do óleo tiveram duração de 7 dias, utilizando a mesma proporção da fração bruta e o mesmo organismo teste. Ao final do período de exposição, o conteúdo foi fixado com formol e corado com Rosa de Bengala, para posterior contagem e determinação dos endpoints (número de copépodos, número populacional e percentual de fêmeas). Observações no estereomicroscópio revelaram manchas nos indivíduos, devido a este fato, um novo bioensaio com a fração bruta do óleo foi realizado para registro fotográfico com as mesmas condições do anterior. Nessa etapa, ao final do período de exposição o conteúdo não foi corado com Rosa de Bengala para uma observação íntegra do corpo do microcrustáceo e confirmação da presença do óleo através do microscópio. Os resultados mostraram uma diminuição significativa no número de copépodos (nos grupos expostos ao óleo coletado em Xaréu, Enseada dos Corais e Paiva) e no número populacional (em todas as amostras de óleo testadas). Além disso, verificou-se uma feminização da população, onde foi possível perceber um aumento significativo da proporção de fêmeas em amostras de óleo coletadas na praia de Paiva e Enseada dos Corais. Através dos registros fotográficos constatou-se que o óleo foi ingerido pela espécie estudada, parte do qual contaminou o animal, e a outra parte foi fragmentada e eliminada nas pelotas fecais, ficando disponível para outros organismos. No experimento com a fração solúvel do óleo, foi avaliada a sobrevivência dos organismos expostos ao bioensaio. Os resultados demonstraram ausência de efeitos letais nos grupos expostos. Sugerindo assim, que o óleo não liberou a sua fração solúvel na água do mar, durante o processo de obtenção da mesma, e conseqüentemente, não interferiu na sobrevivência dos organismos. Sendo assim, concluiu-se que o óleo o qual contaminou o litoral brasileiro tem um elevado poder

tóxico para o organismo testado, por causar da redução do número médio de copépodos, do declínio populacional, bem como feminização da população.

Palavras-chave: óleo bruto, *Tisbe biminiensis*, bioensaios, desastre ambiental, contaminação por óleo

LISTA DE FIGURAS

- Figura 1** Número de copépodos (média \pm desvio padrão) de *Tisbe biminiensis* (Copepoda, Harpacticoida) ao final de 30 dias de exposição ao óleo bruto coletados em 4 praias do litoral pernambucano (Xaréu, Enseada dos Corais, Cupe e Paiva) e Controle (organismos não expostos ao óleo) localizadas no litoral Sul do Estado de Pernambuco, e controle (água de cultivo de laboratório). Os * significam diferença significativa em relação ao controle..... 22
- Figura 2** Número total de indivíduos (média \pm desvio padrão) de *Tisbe biminiensis* (Copepoda, Harpacticoida) ao final de 30 dias de exposição ao óleo bruto coletados em 4 praias do litoral pernambucano (Xaréu, Enseada dos Corais, Cupe e Paiva) e Controle (organismos não expostos ao óleo) localizadas no litoral Sul do Estado de Pernambuco, e controle (água de cultivo de laboratório). Os * significam diferença significativa em relação ao controle..... 23
- Figura 3** Percentual de fêmeas na população (média \pm desvio padrão) de *Tisbe biminiensis* (Copepoda, Harpacticoida) ao final de 30 dias de exposição ao óleo bruto coletados em 4 praias do litoral pernambucano (Xaréu, Enseada dos Corais, Cupe e Paiva) e Controle (organismos não expostos ao óleo) localizadas no litoral Sul do Estado de Pernambuco, e controle (água de cultivo de laboratório). Os * significam diferença significativa em relação ao controle..... 24
- Figura 4** Registro fotográfico de *Tisbe biminiensis* (Copepoda, Harpacticoida) dos grupos Controle, Enseada dos Corais e Paiva ao final de 30 dias de exposição ao óleo bruto..... 24
- Figura 5** Registro fotográfico das pelotas fecais de *Tisbe biminiensis* (Copepoda, Harpacticoida) dos grupos Controle (A), Enseada dos Corais (B) e Paiva (C) ao final de 30 dias de exposição ao óleo bruto..... 25
- Figura 6** Percentual de sobrevivência na população (média \pm desvio padrão) de *Tisbe biminiensis* (Copepoda, Harpacticoida) ao final de 7 dias de exposição a Fração Solúvel óleo coletados nas praias de Xaréu, Enseada dos Corais, Suape e Paiva. Localizadas no litoral Sul do Estado de Pernambuco, e controle (água de cultivo de laboratório)..... 25

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	11
2	REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	12
3	OBJETIVOS	18
4	METODOLOGIA EMPREGADA.....	18
5	RESULTADOS	21
6	DISCUSSÃO	26
7	CONSIDERAÇÕES FINAIS	29
8	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	30

1 INTRODUÇÃO

As regiões costeiras atraem a ocupação humana, uma vez que os recursos que elas disponibilizam podem ser utilizados como fontes de alimento, sustento e lazer para grande parcela da população que mora na proximidade. Favorece também a instalação de portos, marinas e indústrias. Em contraponto, contribuem para a introdução de diversos tipos de contaminantes nessas regiões, tais como petróleo e derivados, organoclorados, entre outros (LAMARDO *et al.* 2016).

Estudos apontam que 80% da poluição nos oceanos vem de atividades terrestres, originadas das próprias áreas costeiras ou trazidas pelos rios. Essas áreas produtivas são amplamente afetadas com os descartes de resíduos urbanos, industriais, agrícolas, substâncias químicas oriundas de derrames de petróleo, entre outros (CINDRIC *et al.*, 2015).

O petróleo é uma substância complexa, pois em sua composição apresenta moléculas de carbono, oxigênio, enxofre, vanádio, níquel e sais minerais, assim como 75% de hidrocarbonetos. Por esse motivo, o petróleo é comumente chamado de “Hidrocarboneto” ou óleo (SZEWCZYK, 2006). Também apresenta Benzeno, tolueno, etilbenzeno e xilenos na sua constituição. Elas são as frações mais móveis e solúveis dos produtos de petróleo, e por isso, são altamente tóxicas e frequentemente contaminam solos e porções superficiais de água quando ocorrem acidentes (JOKUTY, 1999).

Pesquisas estimam que anualmente 1.300.000 toneladas de petróleo poluam os mares (NRC, 2003). Os organismos aquáticos por sua vez, são mais atingidos pela fração solúvel do petróleo em água (FS) do que por outros componentes do petróleo. Portanto, um derrame de petróleo por menor que seja tem sempre consequências negativas, sendo principalmente ambientais e econômicas. (RODRIGUES *et al.*, 2010; SOTO, 2004).

No dia 31 de outubro de 2019, o governo do estado de Pernambuco lançou uma nota pública afirmando que mais de 1.500 toneladas de óleo foram retiradas das 47 praias e 8 rios do litoral pernambucano. Segundo pesquisadores da UFPE e UFRPE, o óleo que chegou à costa nordestina está se decompondo em partículas microscópicas, afetando a teia alimentar e pequenos invertebrados (MADEIRO, 2019).

Os corais, por exemplo, sofrem bastante com a cobertura da sua superfície pelo óleo, o que pode causar branqueamento e morte em um curto período. No entanto eles

não são os únicos organismos a sofrerem com a contaminação por óleo, pois existe uma diversificada fauna no ambiente costeiro, na qual pouco se sabe sobre os efeitos causados por essa contaminação (MADEIRO, 2019).

Sendo assim, saber o efeito do óleo em suas duas fases, bruta e solúvel em água, é fundamental para se implantar políticas públicas eficientes e até tratamentos de biorremediação. Embora, saibamos que a melhor forma de se preservar o meio ambiente é sempre com medidas preventivas.

Com o intuito de analisar, o impacto direto da fração bruta e solúvel do óleo em água, que contaminou as praias do litoral brasileiro, o presente trabalho se propôs a expor o copépodo bentônico *T. biminiensis* ao óleo, e avaliar o impacto desse contaminante em aspectos fisiológicos e populacionais, e assim, ajudar na gestão ambiental, visando sempre um desenvolvimento sustentável.

2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 Petróleo no mundo

A cada ano cerca de 600 mil toneladas de petróleo bruto são lançadas no mar. Muitas vezes isso decorre de problemas em navios petroleiros, durante o transporte, outras por vazamentos nas plataformas e rompimentos de ductos, como consequência das atividades antrópicas de extração desse recurso para fins econômicos. Extração essa que chega a mais de 1000 metros de profundidade (CAPES, 2020; CAMPEÃO, 2020).

Nos últimos 50 anos, o transporte e comércio de petróleo mundial teve um aumento significativo, e cerca de 90% dessa movimentação com o óleo é feita por meio de transporte marítimo, o que possibilita a contaminação do mar por esse composto. Em 2017 o comércio marítimo calculado em toneladas-milhas foi de 58.098 bilhões de toneladas. E apesar dos avanços tecnológicos terem ocasionado uma melhora nas condições de segurança, o transporte de petróleo consiste em uma atividade de alto risco para o ambiente marinho, uma vez que danifica os ecossistemas marinhos de forma significativa prejudicando os seus recursos, afeta a pesca e o turismo local. Além disso, põe em risco a saúde dos tripulantes (ZHANG, *et al.*, 2015; GALIERIKOVÁ *et al.*, 2020; ONATE, 2017; HARAYAMA, 1991; BOARD *et al.*, 2003).

Entre os desastres mundiais envolvendo o petróleo podemos citar o criminoso lançamento de 11 milhões de barris de petróleo bruto no Golfo Pérsico durante a guerra

do Golfo em 1991 (TAWFIQ, *et al.*,1991). Essa sabotagem feita ao meio ambiente deu origem a lagos de petróleo e a superfícies poluídas no Kuwait. As tropas iraquianas durante a guerra incendiaram vários poços produtores de petróleo e estragaram outros para provocar o escorrimento de petróleo livremente. Grande parte dos campos de produção de petróleo do Kuwait têm altas pressões do reservatório, que sustenta o fluxo natural do óleo das reservas à superfície. Alguns campos de petróleo como o Grande Burgan, foram parcialmente inundados com petróleo bruto (AI-Ajmi *et al*, 1994; El-Baz *et al*, 1994; Kwarteng, 1998).

Durante a guerra o óleo que alcançou as águas teve origem de oito petroleiros, uma refinaria, um campo de tanques e dois terminais. Estima-se que foi recuperado da superfície da água cerca de 1.163.000 barris de petróleo. Estudos mostraram que 706 km na Arábia Saudita foi oleado, com 366 km classificados como petróleo pesado, 220 km moderado, 34 km como leve e 86 km como muito leve. Cerca de 50-100% da biota intertidal foi morta, e nos pântanos fortemente oleados menos de 1% das plantas sobreviveram (TAWFIQ, *et al.*,1991; GUNDLACH, *et al.*, 1993; JONES, *et al.*, 1996; BOER, *et al.*, 1996).

Em algumas áreas, como praias de desovas de tartarugas e uma floresta de mangue na Ilha de Gurmah, foram feitas limpezas no ano de 1991, da linha costeira que custaram entre US \$ 210-540 milhões. O monitoramento do destino do petróleo encalhado na Arábia Saudita mostrou grandes danos aos habitats interditaes (GUNDLACH *et al.* 1993; MICHEL, 2011).

2.2 Petróleo no Brasil

No Brasil, em 1897, houve a perfuração do primeiro poço de petróleo, no município de Bofete (SP). O fazendeiro Eugênio Ferreira de Camargo, fez uso de uma sonda importada dos EUA. Apesar de perfurar cerca de 488m de profundidade, apenas dois barris de petróleo foram retirados. Essa iniciativa deu origem aos estudos relacionados a extração de petróleo, mas só em 1919 foi feita uma sondagem oficial no município de Marechal Mallet (PR), e uma tentativa de extração de um poço de 84 m, de onde nada foi extraído. Após vinte anos, em 1939, houve a descoberta promissora do poço Recôncavo Baiano e no séc. XXI foi descoberto o Pré-sal (CETESB, 2012).

O avanço na extração e transporte do petróleo trouxe consigo os acidentes ambientais. O primeiro acidente com petróleo está registrado na revista International Oil

Spill Statistics de 1977 e ocorreu com o navio Sinclair Petrolore no dia 6 de dezembro de 1960. Ele explodiu e afundou próximo à Ilha de Trindade (ES) vazando assim, aproximadamente 66.530 m³ de petróleo direto para o mar. Um tripulante desapareceu e os outros 29 foram resgatados no dia seguinte. Não há informação sobre o comportamento da mancha de óleo nem sobre áreas afetadas (CETESB, 2012).

Na década de 1970 três grandes acidentes, relacionados a colisão de navios com rochas submersas, foram registrados. No litoral paulista, foram os petroleiros Takimya Maru (1974) e Brazilian Marina (1978) no Canal de São Sebastião e no litoral carioca, o petroleiro Tarik Ibn Ziyad (1975) na Baía da Guanabara. Ocasionalmente um vazamento de aproximadamente de 6.000 toneladas de petróleo em cada um dos episódios (CETESB, 2012).

Outro acidente que teve uma grande repercussão nos meios de comunicação foi rompimento do oleoduto da Baía da Guanabara (jan/2000), entre a Refinaria Duque de Caxias e o Terminal da Ilha d'Água, com um vazamento de 1300 m³ de óleo combustível marítimo. O que ocasionou uma contaminação de praias, costões, manguezais, unidades de conservação e patrimônio histórico. Trouxe um elevado número de mortes de aves aquáticas, crustáceos, além de impactar negativamente às atividades de pesca, do extrativismo e do turismo (CETESB, 2012).

Podemos citar também o vazamento de aproximadamente quatro milhões de litro de petróleo do oleoduto OSPAR na Refinaria Presidente Getúlio Vargas – REPAR, da PETROBRÁS, no município de Araucária, Região Metropolitana de Curitiba, Estado do Paraná, que ocorreu no dia 16 de julho de 2000. Esse vazamento teve origem a partir de um ponto de ruptura, o scraper (ponto de ligação do oleoduto com a refinaria) da REPAR. O óleo vazou por uma encosta e alcançou o arroio Saldanha contaminou os 2,25 km de extensão do arroio, além de transbordar o canal, atingiu diversos banhados presentes na região e por fim chegou ao rio Barigüi, afluente do rio Iguaçu. Só 40 km à jusante, no rio Iguaçu no município de Balsa Nova, o óleo foi controlado (MELO *et al.* 2003).

Em 2004 ocorreu a explosão e incêndio do navio químico Vicuña no Porto de Paranaguá (PR). Um acidente que trouxe um grande impacto para à vida humana e a vida estuarina/marinha. Causando o vazamento de cerca de 4.079 toneladas de metanol e 285 toneladas de óleos (com predominância de óleo combustível marítimo - MF 180). Acidente que trouxe a morte de quatro tripulantes, afetou muitos animais marinhos como

os crustáceos, golfinhos, tartarugas e aves aquáticas, nos 170 km da Baía de Paranaguá incluindo seis unidades de conservação. Trouxe também prejuízo ao cais de atracação e ao terminal onde o navio estava atracado, a pequenas embarcações, atividades portuárias, pesca e ao turismo (NORTEC, 2004).

No que se refere à exploração e produção de petróleo em alto mar, um terrível cenário foi a explosão seguida do naufrágio da Plataforma P 36 na Bacia de Campos (RJ), a 150 km da costa, em março de 2001, na qual faleceram onze brigadistas. Vazaram 1.200 m³ de óleo diesel e 350 m³ de petróleo para o oceano. Tiveram muitas tentativas de estabilizar a unidade, principalmente a injeção de nitrogênio e ar comprimido nos compartimentos alagados para expulsão da água. Porém nenhuma delas teve sucesso. Depois de cinco dias o naufrágio levou os corpos dos trabalhadores mortos ao tentarem combater o incêndio na unidade (CETESB, 2012; WEIMANN, 2021)

Um exemplo de evento envolvendo derramamento de óleo foi a catástrofe que ocorreu no litoral do Brasil e que causou um prejuízo para o meio ambiente e o setor socioeconômico. Em 30 de agosto de 2019 foi oficialmente identificado o derramamento de petróleo bruto que afetou a costa brasileira e chegou à faixa litorânea de 4.334 km em 11 estados do Nordeste e Sudeste, 120 municípios e 724 localidades até 22 de novembro de 2019 (IBAMA, 2019; SOARES *et al.*, 2020).

O óleo encalhado nas praias brasileiras é semelhante a alcatrão; tem aspecto sólido e é mais densa que a água do mar. A caracterização química do óleo mostrou que hidrocarbonetos leves permaneciam presentes, o que eleva a possibilidade de efeitos nos organismos e ecossistemas costeiros depois da liberação na coluna de água. Estudos apontam que as amostras de óleo coletadas, tem a mesma origem (LOURENÇO, 2020).

É importante por sua vez avaliar o impacto do óleo em fatores fisiológicos que são comuns entre animais, incluindo o homem, tais como crescimento, desenvolvimento, reprodução e dimorfismo sexual. Visamos no decorrer desse trabalho avaliar como esse impacto ambiental ocorrido no Nordeste pode afetar fatores fisiológicos que são essenciais para o sucesso populacional das espécies.

2.3 Impacto do óleo na biota

Sobre o impacto do óleo na biota podemos citar o estudo feito por Domenico e Almeida (2005), sobre a distribuição da meiofauna na plataforma continental externa de Santa Catarina a partir de amostras coletadas ao redor de uma plataforma de produção de

petróleo no sul da Bacia de Santos. Eles apontam que inicialmente a densidade total de organismos variou de 49 ind./10 cm² a 2 ind./10 cm² nos estudos com as amostras mais distantes da plataforma. E à medida que se aproximava da plataforma de petróleo a estrutura da comunidade mostrou uma diminuição na densidade dos organismos. Diferentes associações faunísticas foram identificadas, sendo uma caracterizada pelas amostras coletadas em 1000 e 3000 m da plataforma e baixa similaridade faunística dentro das amostras coletadas perto do poço de petróleo.

Já Belal 2019, avaliou a resposta ambiental de invertebrados macrobentônicos expostos a derramamento de óleo na Baía de Suez, Mar Vermelho, Egito. Este derramamento de óleo ocorreu na área oposta à Central Elétrica onde a nona (IX) estação de amostragem estava localizada. Treze estações foram selecionadas na área estudada e a amostragem foi realizada durante o incidente da primavera de 2018 (antes do derramamento de óleo) e outono de 2018 (após o derramamento de óleo). Os resultados indicaram que a densidade de invertebrados macrobentônicos foi maior na primavera do que no outono. As estações do norte registraram densidades mais altas do que as do sul. Além disso, verificou-se que a concentração média de hidrocarbonetos totais de petróleo nos sedimentos foi 431,49 µg / g no outono. Já na primavera, estimou-se em média 194,96 µg / g. 2019. Mostrando assim que o impacto do óleo no ambiente e nos invertebrados macrobentônicos.

Segundo Pereira *et al.* (2018) o grande número de acidentes com derramamentos de óleo diesel ocorridos no ecossistema marinho faz com que os testes de toxicidade para avaliar os efeitos desse poluente na biota sejam necessários e urgentes. Por isso, foi feito estudos para avaliar a toxicidade da fração solúvel do óleo diesel no sucesso da fertilização de gametas e larvas de plúteo do ouriço-do-mar *Echinometra lucunter*. Para isso, gametas e embriões foram expostos a concentrações de 0% (grupo controle), 0,5%, 1,5% e 2,5% da Fração solúvel. Houve uma redução significativa na fertilização de gametas e embriões expostos, quando comparado ao grupo controle em todas as concentrações testadas. Esse estudo mostrou que o óleo diesel pode ser significativamente prejudicial nas fases inicial e adulta de um determinado organismo, e uma melhor forma de avaliar essa toxicidade é por meio da análise dos efeitos dos contaminantes ao longo do ciclo reprodutivo de uma espécie.

2.4 Testes Ecotoxicológicos

Além de se conhecer o efeito do óleo, se faz necessário um monitoramento das áreas afetadas tanto do ponto de vista físico-químico quanto biológico. Para essas análises, os ensaios ecotoxicológicos possuem um grande poder de integrar as várias informações físico-químicas acerca do ambiente. É através desses ensaios que conseguimos indicar quais são as concentrações ambientalmente seguras para a manutenção dos ecossistemas e, conseqüentemente, o impacto sobre a pesca, visto que esta última não se sustenta em um ambiente impactado.

Ao longo dos anos, muitas tentativas estão sendo realizadas a fim de tornar mais realísticos os testes de ecotoxicidade, dentre eles podemos citar a avaliação de comunidades, mesocosmos, além do uso de variáveis funcionais tais como produção primária, decomposição e etc, em adição aos testes tradicionais que avaliam a sobrevivência, crescimento e reprodução de uma única espécie (CHAPMAN *et al.*, 1992).

2.5 Testes com Microcrustáceos

Um organismo referência nos testes ecotoxicológicos são os microcrustáceos, pois desempenham um papel importante na cadeia alimentar, servindo como elo entre os produtores e demais consumidores, uma vez que se nutrem de algas e servem de alimento para consumidores secundários, como peixes e outros vertebrados. São organismos muito utilizados nos testes de toxicidade, pois mudanças na população e no comportamento destes organismos podem interferir em outros níveis tróficos do ecossistema aquático (POUNDS *et al.*, 2002).

É comum o uso de copépodos harpacticóides bentônicos nos testes letais e subletais de toxicidade por apresentarem as condições necessárias para estes testes, como o tamanho reduzido, que viabiliza a realização dos testes e diminui o custo dos mesmos; e seu hábito epibentônico, que permite analisar poluentes tanto na fase aquosa quanto aqueles ligados ao sedimento (COULL E CHANDLER, 1992).

Os copépodos harpacticóides bentônicos do gênero *Tisbe*, de forma peculiar representa um grupo ecologicamente importante da meiofauna, e vem sendo frequentemente utilizados em testes de toxicidade (ISO 14669).

A espécie *Tisbe biminiensis* (Copepoda, Harpacticoida), tem importância desde sua colocação na cadeia alimentar, quando na sensibilidade para evidenciar problemas relacionados ao seu habitat, seu cultivo já se encontra estabelecido no Laboratório de

Ecofisiologia e Comportamento Animal da UFRPE, tem um ciclo de vida rápido o que permite a avaliação do impacto nas gerações seguintes em um curto período de tempo e uma elevada taxa reprodutiva. Tais fatores possibilitam a análise de vários aspectos do ciclo de vida desse animal dando respostas que nortearão a tomada de decisão para uma boa gestão ambiental para o estado de Pernambuco.

3 OBJETIVOS

Avaliar os efeitos do óleo, oriundo do acidente ocorrido no litoral pernambucano no ano de 2019, em aspectos fisiológicos e populacionais do microcrustáceo *Tisbe biminiensis*.

- Avaliar os efeitos da fração bruta do óleo, coletado nas praias atingidas em Pernambuco, em aspectos populacionais do microcrustáceo *Tisbe biminiensis*.
- Avaliar os efeitos das frações solúvel e bruta do óleo coletado nas praias atingidas em Pernambuco em aspectos fisiológicos do microcrustáceo *Tisbe biminiensis*.
- Estudar a interação do organismo teste (*T. biminiensis*) com a fração bruta do óleo.

4 METODOLOGIA

4.1 Cultivo e controle de qualidade dos organismos-teste

A espécie utilizada nos bioensaios foi *Tisbe biminiensis* (Copépoda Harpacticoida), a qual vem sendo cultivada no Laboratório de Ecofisiologia e Comportamento Animal (LECA) da UFRPE no Campus de Dois Irmãos desde 2013. Seu cultivo ocorre em recipientes de polietileno com aproximadamente 1,5 L de água do mar filtrada com salinidade 33‰, temperatura de $26^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$, fotoperíodo de 12/12h claro/escuro, aeração e ração para peixe Alcon® Basic. As trocas da água do cultivo são realizadas duas vezes por semana, com ajuda de uma peneira com abertura de malha de $125\mu\text{m}$, onde o conteúdo dos recipientes de cultivo é vertido. Os organismos retidos na peneira são transferidos para um recipiente limpo contendo água do mar filtrada, aeração e ração, a fim de garantir condições ideais para o seu desenvolvimento e sua reprodução.

4.2 Preparo da Fração Bruta do Óleo (FBO)

Para os ensaios com a FBO, o óleo coletado em quatro praias do litoral pernambucano foi analisado quimicamente, e então confirmado que todos apresentam o mesmo perfil químico, sendo considerados iguais. Foram obtidas 4 amostras do óleo

coletados nas praias de Xaréu, Enseada dos Corais, Paiva e Cupe. De cada amostra foi pesado 1 g do óleo e adicionado em recipientes de vidro com capacidade para 80 ml e diâmetro de 5,5 cm de fundo, obtendo uma proporção de 1:80 (m/v). Esse procedimento foi repetido 5 vezes para que tivéssemos as réplicas amostrais, totalizando 20 unidades experimentais (óleo obtido de 4 pontos, cada um com 5 réplicas).

4.3 Preparo da Fração Solúvel do Óleo (FSO)

Foi realizado o experimento com a FSO, a partir do óleo coletado em 4 praias (Xaréu, Enseada dos Corais, Suape e Paiva). O bioensaio teve duração de 7 dias, a metodologia seguida foi a descrita por Salvo *et al.* (2013), com algumas modificações. O óleo foi adicionado a água do mar em uma razão de 1:80 (m/v), e agitado vigorosamente com auxílio de um agitador magnético, na ausência de luz e em temperatura ambiente por um período de 24h. Passado o período de agitação, as amostras foram mantidas em repouso por 3 horas para separação das fases. A fração solúvel foi separada com auxílio de uma pipeta de vidro e um pipetador de sucção de borracha. Logo após a separação, foi adicionado 40 ml da FSO em recipientes de vidro, e feito 5 unidades experimentais (5 réplicas) de cada ponto.

4.4 Obtenção dos náuplios

A obtenção dos náuplios para o bioensaio se deu passando os cultivos por peneira de abertura de malha de 250 μ m, selecionando apenas os organismos maiores, os quais foram transferidos para caixas de plástico semelhantes às descritas anteriormente para cultivo de manutenção, denominadas maternidades. Após 24 horas, as maternidades foram vertidas em duas peneiras, uma com malha de 250 μ m e outra de 64 μ m, colocadas nessa ordem. Retendo os adultos na primeira malha (a maior) e os náuplios na segunda malha (a menor), possibilitando a separação. Os adultos foram devolvidos para os cultivos de manutenção e os náuplios foram concentrados em 200 ml em um béquer. Para estimar a quantidade contida nesse volume, são realizadas 3 amostragens de 1ml para serem contadas na lupa. Após a contagem, calcula-se a média das três e em seguida estima-se o volume necessário que contenha de 150 a 200 náuplios, esse volume é adicionado em cada unidade experimental e nas réplicas do controle.

4.5 Ensaios Ecotoxicológicos com a FBO

Antes da adição dos copépodos em todos os bioensaios, foi verificado os parâmetros de salinidade (com refratômetro), pH (pHmetro) e oxigênio dissolvido (oxímetro) na água de cada amostra, processo que é repetido ao final do experimento.

Os testes com *T. biminiensis* na FBO seguiram a metodologia descrita em Araújo-Castro *et al.* (2009) e Araújo-Castro (2008), com algumas modificações. O procedimento consistiu na exposição de fêmeas ovígeras de *T. biminiensis* e acompanhamento do crescimento populacional por um período de 30 dias. Ao final do período de exposição, as amostras foram fixadas com formol e coradas com Rosa de Bengala para posterior contagens, registro fotográfico e determinação de parâmetros populacionais.

Para iniciar o período de exposição com a FBO, o óleo pesado em balança de precisão com 3 casas decimais, conforme descrito no tópico 4.2, foi adicionado aos recipientes de experimentação, após adição de água do mar filtrada e alimento. O alimento consistiu em uma solução de 5 g de ração básica de peixe e 100 ml de água do mar agitada por 4 h em agitador magnético. Posteriormente, 10 fêmeas ovadas com idade controlada foi adicionada em cada unidade experimental. Foi feito um grupo controle (água do mar acrescida de ração), com 5 unidades experimentais (5 réplicas) com o objetivo de comparação estatística.

Nesse bioensaio foram avaliados os seguintes parâmetros: a) número de copépodos que corresponde a quantidade de copepoditos somado a de machos adultos, contados em cada amostra; b) população, total de indivíduos ao final do experimento; e c) porcentagem de fêmeas em relação a população. Todos os organismos contabilizados ao final do teste foram provenientes das 10 fêmeas ovígeras adicionadas em cada réplica no início do bioensaio.

Para avaliar a interação do organismo teste (*T. biminiensis*) com o óleo, foi realizado um outro experimento contendo o óleo bruto, seguindo a mesma metodologia descrita anteriormente. Foram realizados dois grupos experimentais GC (grupo controle) e GO (grupo óleo) para efeitos comparativos. Os grupos foram observados ao longo do bioensaio e realizados registros fotográficos e de vídeo a fim de observar o comportamento do animal na presença do óleo. Ao final do período de exposição (30 dias) todo o conteúdo foi fixado com formol para análise e registro fotográfico para avaliar a integridade física do animal e análise das pelotas fecais.

4.6 Ensaio Ecotoxicológicos com a FSO

Para os testes com a FSO, foi utilizada a fase de náuplio do *T. biminiensis* seguindo a metodologia descrita por Lavorante *et al.* (2013), com algumas modificações. Com o auxílio de uma pipeta automática, foram retiradas alíquotas de um béquer com 200 ml de

água do mar contendo os náuplios concentrados, e essas adicionadas aos recipientes com a FSO. Composto assim 5 réplicas de cada tratamento (Controle, Xaréu, Enseada dos Corais, Suape, Paiva), e permaneceram por 7 dias em uma estufa incubadora com temperatura (27°C) e fotoperíodo (12h/12h claro/escuro) controlados.

No momento da distribuição dos náuplios nos recipientes-testes, foram retiradas 5 amostras que corresponderam ao controle inicial, sendo fixadas com formol e coradas com Rosa de Bengala. A média obtida dessas amostras, que representa a concentração inicial de náuplios, foi utilizada para determinação da sobrevivência, com a fórmula a seguir:

$$\%SAm = \frac{TIAm \times 100}{MCI}$$

onde:

%Sam = Sobrevivência na amostra em %

TIAm = total de indivíduos contados na amostra

MCI = média da concentração inicial de náuplios

4.4 Análises Estatísticas

Para análise dos dados foi utilizado o teste unifatorial de Análise de Variância (ANOVA). Antes da realização do teste ANOVA foi verificada a normalidade dos dados, através do teste de Kolmogorov-Smirnof, e homocedacidade das variâncias, com o teste de Bartlett. O teste de Kruskal-Wallis foi utilizado quando os requisitos para a ANOVA não foram alcançados. Com nível de significância de 0,05 ($\alpha = 5\%$). O teste de Dunnett e o de Dunn's foram realizados para identificar diferenças significativas entre as concentrações e o grupo controle.

5 RESULTADOS

Os resultados do bioensaio com a FBO analisando o óleo coletado em 4 praias, e o bioensaio com FBO analisando a interação Copepoda e óleo (por meio de registro fotográfico), podem ser visualizados nas figuras 2, 3, 4, 5, 6.

5.1 Primeiro Bioensaio: Ensaios Ecotoxicológicos com a FBO.

Considerando o número de copépodos, foram observados os seguintes valores médios 134,33 (controle), 72 (Xaréu), 22,6 (Enseada dos Corais), 81,6 (Cupe) e 43 (Paiva). De acordo com o resultado da ANOVA unifatorial (ANOVA, $F = 6,851$; $p = 0,02$), houve uma redução significativa no número médio de indivíduos em boa parte dos grupos que continha o óleo bruto. Essa diminuição no número de copépodos é significativamente inferior em Xaréu, Enseada dos Corais e Paiva em relação ao controle (Dunnett, $p < 0,05$). Desta forma, podemos afirmar que o óleo bruto coletado nesses pontos, causou efeito tóxico para a espécie estudada como mostra a Figura 1.

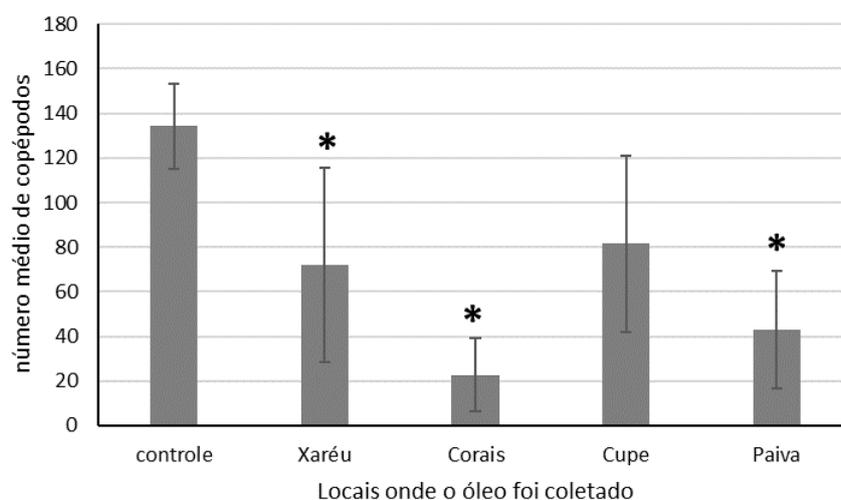


Figura 1 – Número de copépodos (média \pm desvio padrão) de *Tisbe biminiensis* (Copepoda, Harpacticoida) ao final de 30 dias de exposição ao óleo bruto coletados em 4 praias do litoral pernambucano (Xaréu, Enseada dos Corais, Cupe e Paiva) e Controle (organismos não expostos ao óleo) localizadas no litoral Sul do Estado de Pernambuco, e controle (água de cultivo de laboratório). Os * significam diferença significativa em relação ao controle.

Para avaliar a população, foi contabilizado todos os estágios de desenvolvimento do organismo teste (os estágios de náuplio, copepodito e adultos de *T.biminiensis*). Esse parâmetro nos mostra a vulnerabilidade ecológica da espécie. Na Figura 2, observa-se uma redução significativa (ANOVA, $F = 8,060$; $p < 0,001$) na média da população de todos os pontos em relação ao controle, cujos valores foram: 239,33 (controle), 93 (Xaréu), 35,6 (Enseada dos Corais), 105,8 (Cupe) e 75,6 (Paiva). Segundo teste estatístico de Dunnett,

todos os grupos apresentaram diminuição significativa no número médio populacional em relação ao controle.

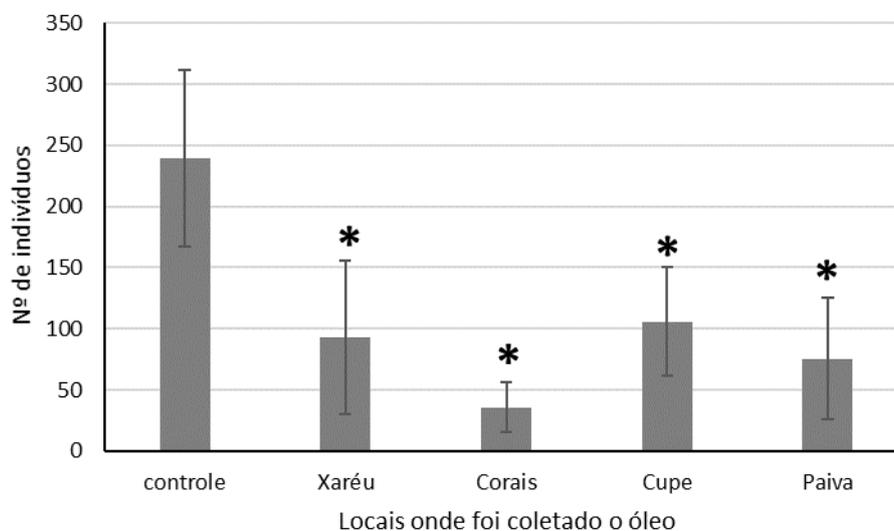


Figura 2 – Número total de indivíduos (média \pm desvio padrão) de *Tisbe biminiensis* (Copepoda, Harpacticoida) ao final de 30 dias de exposição ao óleo bruto coletados em 4 praias do litoral pernambucano (Xaréu, Enseada dos Corais, Cupe e Paiva) e Controle (organismos não expostos ao óleo) localizadas no litoral Sul do Estado de Pernambuco, e controle (água de cultivo de laboratório). Os * significam diferença significativa em relação ao controle.

Podemos observar na figura 3, que houve uma variação significativa no percentual de fêmeas (KRUSKAL-WALLIS, $H = 14,22$; $p = 0,007$). Os valores variaram de 15,9% (Controle) à 47,9% (Enseada dos Corais). Os grupos expostos ao óleo coletado em Enseada dos Corais e Paiva apresentaram um percentual de fêmeas significativamente superior (Dunn, $p < 0,05$) em relação ao controle. Com isso, podemos dizer que é possível verificar uma feminização da população nesses grupos.

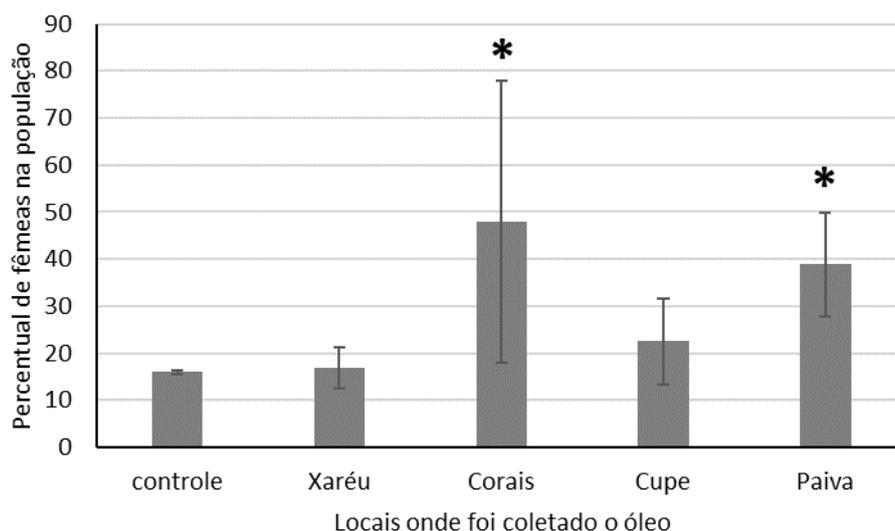


Figura 3 – Percentual de fêmeas na população (média \pm desvio padrão) de *Tisbe biminiensis* (Copepoda, Harpacticoida) ao final de 30 dias de exposição ao óleo bruto coletados em 4 praias do litoral pernambucano (Xaréu, Enseada dos Corais, Cupe e Paiva) e Controle (organismos não expostos ao óleo) localizadas no litoral Sul do Estado de Pernambuco, e controle (água de cultivo de laboratório). Os * significam diferença significativa em relação ao controle.

5.2 Segundo Bioensaio: Interação Copepoda e óleo

Com as observações realizadas durante o segundo bioensaio, foi possível verificar que os copépodos forragearam o óleo contido nos recipientes-testes (observação da autora e registro em vídeo).

Os registros fotográficos (Figura 4) realizados das pelotas fecais, demonstraram vários fragmentos de óleo, sugerindo que o copépodo entra em contato com o óleo, fragmentado, ingerindo e depois excretando-o em tamanho menor.

Além da presença de óleo nas pelotas fecais, verificamos também manchas de óleo no corpo dos animais, conforme mostrado na Figura 5.



Figura 4 – Registro fotográfico das pelotas fecais de *Tisbe biminiensis* (Copepoda, Harpacticoida) expostos por 30 dias ao óleo coletado no litoral pernambucano no ano de 2019.

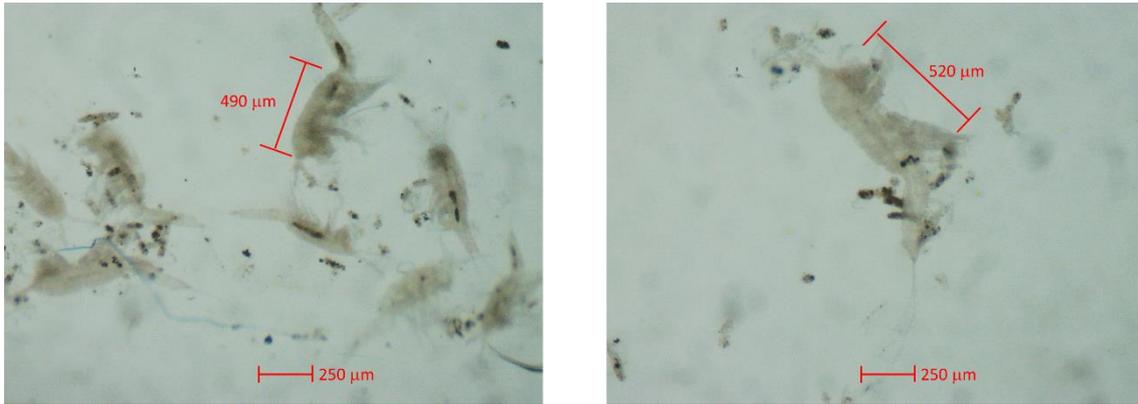


Figura 5 – Registro fotográfico de *Tisbe biminiensis* (Copepoda, Harpacticoida) expostos por 30 dias ao óleo coletado no litoral pernambucano no ano de 2019.

5.2 Terceiro Bioensaio: Sobrevivência na FSO

Nesse bioensaio foi avaliada a sobrevivência dos organismos submetidos à FSO, os resultados podem ser visualizados na figura 6. Não foi observado efeito letal nos grupos expostos à FSO (KRUSKAL-WALLIS, $H = 2, 571$; $p = 0,632$), a sobrevivência dos grupos apresentou valores superiores a 80% (controle = 83%, Xaréu = 98%, Enseada dos Corais = 72%, Suape = 89% e Paiva = 92). Desta forma, podemos sugerir que o óleo não tenha liberado a fração solúvel na água do mar, durante o processo de obtenção da FSO e, conseqüentemente, não interferindo na sobrevivência dos organismos.

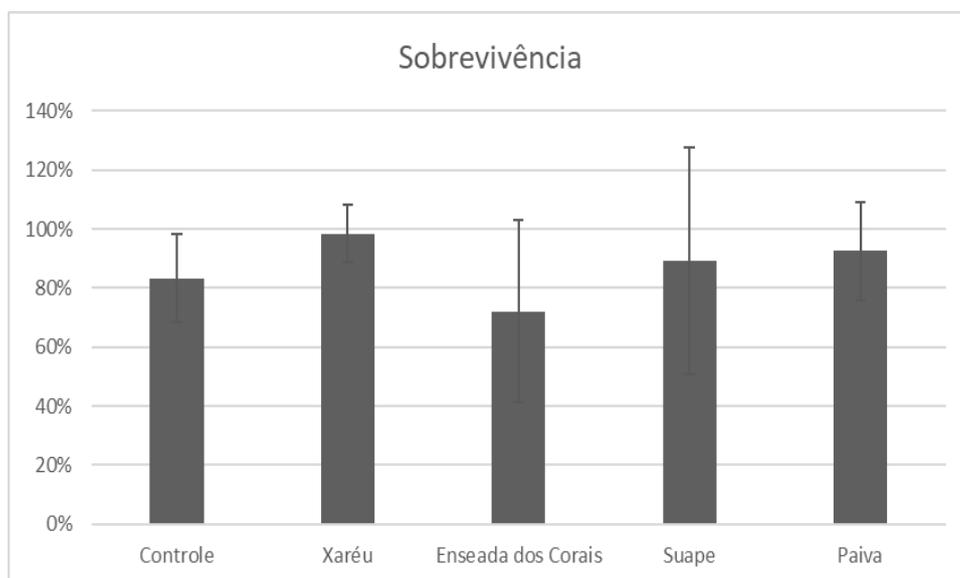


Figura 6– Percentual de sobrevivência na população (média \pm desvio padrão) de *Tisbe biminiensis* (Copepoda, Harpacticoida) ao final de 7 dias de exposição a Fração Solúvel óleo coletados nas praias de Xaréu, Enseada dos Corais, Suape e Paiva.

Localizadas no litoral Sul do Estado de Pernambuco, e controle (água de cultivo de laboratório).

6 DISCUSSÃO

Gurung *et al.*, (2021), em seus estudos observaram que o contato direto com a fração bruta do óleo durante a embriogênese, causa defeitos cardiovasculares em killifish do Golfo (*Fundulus grandis*). Os efeitos significativos em embriões expostos ao óleo, incluíram aumento da taxa de pulso, redução da velocidade média do fluxo sanguíneo, da taxa de fluxo volumétrico e diminuição da pulsatilidade. Demonstrando que embriões, de aparência normal expostos ao óleo, retêm defeitos cardiovasculares subjacentes. Além disso, o hematócrito aumentou moderadamente em embriões expostos ao óleo. Este estudo destaca os efeitos subletais da exposição ao petróleo.

Cave e Kajiura (2020), ao testarem se a exposição ao óleo cru prejudicava as capacidades eletorreceptivas de peixes elasmobrânquios. Observaram que as arraias expostas ao óleo, continuaram a exibir comportamento alimentar. Mas eles iniciaram orientações para campos elétricos, simulando presas de uma distância de orientação significativamente mais próxima. As arraias expostas ao óleo, portanto, exibiram uma resposta a um estímulo aproximadamente 4,7 vezes maior do que os controles. As arraias impactadas por um derramamento de óleo, parecem apresentar redução da capacidade eletrossensorial, o que pode prejudicar o condicionamento físico delas.

Estudos documentaram, que mudanças na abundância e composição da comunidade de invertebrados de praias, podem durar de semanas a alguns anos após os derramamentos de óleo (BEJARANO e MICHEL, 2016). No presente estudo, foi observado que a FBO a qual contaminou o litoral pernambucano, impactou o número médio de copépodos de *Tisbe biminiensis* (Copepoda, Harpacticoida), assim como o número de indivíduos da população e o percentual de fêmeas em relação a população.

Efeitos mais duradouros (décadas), são prováveis de ocorrer em áreas com a persistência do óleo, com atividades limitadas ou sem limpeza, ou quando o óleo permanece sequestrado sob o substrato e protegido da biodegradação e intemperismo físico (BEJARANO e MICHEL, 2016). Assim como foi possível observar, que o óleo que atingiu o litoral pernambucano em 2019, apresentou comportamento distinto em diferentes praias do litoral. Onde algumas tiveram quase a sua totalidade do óleo retirado,

em outras praias e estuários essa retirada não foi possível, devido a presença de formações rochosas, recifes e as árvores de mangue. Tudo isso contribuindo para a permanência do óleo nesses ambientes. Sendo assim, é possível prever que os efeitos do óleo podem persistir por um longo período.

Uma diminuição significativa no número de copépodos em uma população, fato observado no presente estudo, irá refletir de forma negativa no crescimento populacional, e conseqüentemente na perpetuação da espécie. Sendo assim, vemos que o número de copépodos e o número de indivíduos da população apresentaram relações bem próximas. Esses parâmetros em conjunto, nos dão uma ideia de que o óleo afeta de forma negativa a espécie. O que pode acarretar uma provável extinção, na comunidade afetada por esse fator (contaminação do óleo). É necessário ainda, levar em consideração que um impacto em determinada população, irá repercutir nos demais elos da cadeia alimentar. Tendo potencial para provocar uma diminuição dos recursos pesqueiros, isso pensando de forma ecológica, abrangendo a interação entre populações.

Os estudos de Belal (2019), corroboram com a presente pesquisa. Uma vez que estudou a resposta de macro-invertebrados bentônicos na Baía de Suez, onde houve um grande derrame de óleo. Ele realizou duas coletas, sendo a primeira anterior ao derrame, e segunda posterior ao derrame do óleo. Com seus estudos, verificou que a densidade foi menor na coleta feita após o derrame. Sendo assim, podemos concluir que o óleo impacta negativamente os organismos que são expostos a ele, seja através da diminuição de sua abundância, número de indivíduos e/ou crescimento populacional.

No presente estudo, constatamos que o óleo interage com a espécie estudada, pois verificamos traços de óleo no corpo do animal e nas pelotas fecais. Sendo assim, podemos afirmar que o óleo coletado no litoral pernambucano, pode ser ingerido pelos organismos bentônicos causando efeitos subletais, além disso, esse óleo pode ser fragmentado em partículas ainda menores e ficar disponível para outros grupos da cadeia alimentar marinha, seja pela ingestão de organismos contaminados ou pela fragmentação em partículas ainda menores contidas nas pelotas fecais.

Tal fato foi corroborado por Campelo *et al.* (2021), quando observou manchas de óleo no corpo de animais zooplânctônicos, com evidências de contaminação por óleo em zoeas de Brachyura e Copépoda Calanoida.

Com relação a proporção sexual, observou-se no presente estudo uma tendência a feminização da população nos pontos Enseada dos Corais e Paiva. Isso mostra que nessa mistura complexa, que é o HPA (Hidrocarbonetos Policíclicos Aromáticos), há compostos que são desreguladores endócrinos, levando a ocorrência de mais fêmeas.

Kang *et al.* (2019), estudando o efeito de conservantes microbianos, também observaram uma feminização de *Tigriopus japonicus*, quando expostos ao propilparabeno. Além disso, verificou uma diminuição na taxa de crescimento. Esses fatos foram comprovados no presente estudo, onde foi encontrado uma feminização com diminuição da população.

Quando corre uma contaminação, como a ocorrida no litoral pernambucano em se tratando de petróleo, é esperado que uma fração consiga se dissolver na água, ficando biodisponível para organismos planctônicos. No presente estudo, não foi observado efeito letal da FSO.

Monteiro *et al.*, (2018), também avaliou os efeitos da fração bruta e solúvel do óleo, sobre a sobrevivência de 12 espécies de nematoides bacterívoras de vida livre de ambientes marinhos, de água doce e de solo. Chegando a conclusão de que a FSO era tão tóxica (ou ainda mais tóxica), para algumas das espécies de nematodas testadas quanto o FBO.

No geral, os nematoides marinhos eram mais sensíveis do que os organismos de água doce. As sensibilidades das espécies ao óleo, não seguiram padrões de relação taxonômica. Contradizendo a ideia de que espécies estreitamente relacionadas devem responder intrinsecamente de forma semelhante à poluição (MONTEIRO *et al.*, 2018).

Nikinmaa *et al.*, (2019), afirmou que, a fração solúvel em água, do petróleo bruto, afeta a variabilidade interindividual no fenótipo e tem efeitos transgeracionais em *Daphnia magna*. O estudo usou os organismos clonais, e foi possível excluir a possibilidade de que as alterações observadas fossem causadas por variabilidade. Obteve como resultado também que os animais expostos a FSO, tiveram uma diminuição de 30% na taxa de consumo de oxigênio em 48 h em comparação com controle que não teve alteração na média de consumo de oxigênio. A clonal *Daphnia magna* também poderia ser usada para estudar os efeitos transgeracionais sem alterações genéticas, uma vez que as diferentes gerações são geneticamente idênticas. O estudo mostrou que de oxigênio nas gerações F1 e F2 de *Daphnia* diminuíram em relação à F0 geração parental. Também

foram menores do que na prole de 30% de espécimes expostos ao FSM. Mostrando assim os resultados das contaminações ambientais.

Braga *et.al.*, (2018) avaliaram as respostas genotóxicas à fração solúvel do óleo diesel no poliqueta *Laeonereis culveri* e o bivalve *Anomalocardia flexuosa*. Estudaram a capacidade de resposta ao óleo diesel a partir de dois fatores (porcentagens de contaminantes e tempo de exposição). Após a exposição, foi monitorado as respostas das enzimas do estresse oxidativo. Os resultados foram congruentes para ambas as espécies. Defesa antioxidante da glutathione S-transferase e da indução de micronúcleos e gemas nucleares, esta última apenas para o bivalve, foram significativamente afetadas por hidrocarbonetos aromáticos, com aumentos significativos no sétimo dia de exposição e nas concentrações, em comparação com os grupos controles. Mostrando que os hidrocarbonetos policíclicos aromáticos, afetaram as espécies estudadas.

Os resultados obtidos por Monteiro *et al.* (2018), Braga *et.al.*, (2018) e Nikinmaa *et. al.*, (2019) nos leva a pensar por que a sobrevivência foi tão elevada no presente estudo visto que a FSO pode vir a ser até mais tóxica do que a FBO. Neste sentido, deve-se levantar a seguinte hipótese: que o óleo tenha viajado por muito tempo, subsuperficialmente, fazendo com que a FSO fosse liberada ao longo do seu percurso.

7 CONSIDERAÇÕES FINAIS

O óleo bruto que contaminou as praias de Pernambuco tem elevada toxicidade, reduziu significativamente o número de copépodos, o número total de indivíduos na população, além de causar uma feminização. Tais efeitos podem impactar diretamente a teia alimentar, pois resulta em diminuição de fontes energéticas para os sucessivos níveis da cadeia.

Registros fotográficos mostraram que o óleo bruto impregnou o aparelho bucal e o tecido corporal de *T. biminiensis*, além disso, esse organismo fragmentou em partículas menores excretando através de suas pelotas fecais, fazendo com que esse óleo fosse acessível para outros organismos.

Além de impactar diretamente a espécie que pode vir a entrar em colapso populacional a longo prazo, pode interferir no equilíbrio ecológico do ecossistema e refletir na capacidade de pesca e, conseqüentemente, na economia local.

A FSO, proveniente do óleo coletado em 4 praias do litoral pernambucano, não causou efeito letal aos grupos expostos. Sugerindo assim, que o óleo não liberou a sua fração solúvel na água do mar, durante o processo de obtenção da mesma, e consequentemente, não interferiu na sobrevivência dos organismos.

8 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- AL-AJMI, D. F.; MISAK, F.I.; KHALAF, M.; AL-SUDAIRAWI and AL-DOUSARI, A. M. Damage Assessment of the Desert and Coastal Environment of Kuwait by Remote Sensing. **Kuwait Institute for Scientific Research**, Report KISR 4405, Kuwait, 1994.
- ARAÚJO, M.E.; RAMALHO, C.W.N.; Melo, P.W. Artisanal fishers, consumers and the environment: immediate consequences of the oil spill in Pernambuco, Northeast Brazil. **Cad. Saúde Pública** 36, e00230319, 2020. Doi: <https://doi.org/10.1590/0102-311x00230319>.
- ARAÚJO-CASTRO, C. M. V. O copépodo marinho bentônico *Tisbe biminiensis* como organismo-teste em avaliações toxicológicas de sedimentos estuarinos. Apresentada como tese de doutorado em Oceanografia, Universidade Federal de Pernambuco, 2008.
- ARAÚJO-CASTRO, C. M. V.; SOUZA-SANTOS, L. P.; TORREIRO, A. G. A. G. Sensitivity of the marine benthic copepod *Tisbe biminiensis* (Copepoda, Harpacticoida) to potassium dichromate. *Brasilian Journal of Oceanography*, v. 57, n. 1, p. 33–41, 2009.
- BEJARANO, A. C.; MICHEL, J. Oil spills and their impacts on sand beach invertebrate communities: A literature review. **Environmental Pollution**, p.1-14. 2016. Doi: <http://dx.doi.org/10.1016/j.envpol.2016.07.065>.
- BELAL, A. A. M. Spatial and temporal changes in the population of macro benthic invertebrates exposed to oil spillage in Suez Bay, Red Sea, Egypt, Egyptian. **Journal of Aquatic Research**, 2019. Doi: <https://doi.org/10.1016/j.ejar.2019.12.001>

- BELAL, A. A. M. Spatial and temporal changes in the population of macro-benthic invertebrates exposed to oil spillage in Suez Bay, Red Sea, Egypt. **Egyptian Journal of Aquatic Research**, v.45, p.353–358, 2019. Doi: <https://doi.org/10.1016/j.ejar.2019.12.001>
- BOARD, M.; BOARD, M.S. National Research Council, Oil in the Sea III: Inputs, Fates, and Effects. **National Academies**, p.280, 2003. ISBN 0-309- 08438-5.
- BOER, B.; WARNKEN, J. Flora of the Jubail Marine Wildlife Sanctuary, Saudi Arabia. In: Krupp F, Abuzinada AH, Nader IA, editors. **A Marine Wildlife Sanctuary for the Arabian Gulf**, vol. 290. Frankfurt, Germany: National Commission for Wildlife Conservation and Development, Riyadh, Saudi Arabia and Senckenbergische Naturforschende Gesellschaft; 1996.
- BRAGA, M.A.; BRAUKO, M.K.; VICENTINI, M.; SALGADO, L.D.; ASSIS, H.C.S.; DOLATTO, R.G.; GRASSI, M.T.; SANDRINI-NETO, L.; LANA, P.C. Cytotoxicity and enzymatic biomarkers as early indicators of benthic responses to the soluble-fraction of diesel oil. *Ecotoxicology and Environmental Safety*. v.164, p.21–31, 2018. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2018.07.084>
- BRAUN, J.V., ZAMAGNI, S., SORONDO, M.S. The moment to see the poor. *Science* 368 (6488), 214, 2020. Doi: [10.1126/science.abc2255](https://doi.org/10.1126/science.abc2255).
- CAMPEÃO, M. E. Biorremediação. **Biociência marinha**. Organizadores: Fabiano Thompson & Cristiane Thompson Rio Grande. 2020. ed. **FURG**, p. 855. ISBN: 978-65- 5754-013-8.
- CAMPELO, R.P.S.; LIMA, C. D. M.; SANTANA, C.S.; SILVA, A. J.; NEUMANN-LEITÃO, S.; FERREIRA, B.P.; SOARES, M. O.; JUNIOR, M. M.; MELO, P. A. M. C. Oil spills: The invisible impact on the base of tropical marine food webs. **Marine Pollution Bulletin**, v. 167, 2021. Doi: <https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2021.112281>.
- CAVE, E.J, KAJIURA, S.M. Electrosensory Impairment in the Atlantic Stingray, *Hypanus sabinus*, After Crude Oil Exposure. **Zoology**, v. 143, 2020. Doi: <https://doi.org/10.1016/j.zool.2020.125844>
- CCS/CAPES. 07. dezembro. 2020. Microrganismos ajudam a eliminar petróleo do oceano. Programa entre mares. O Estudo pretende acelerar a recuperação de praias

e mares poluídos com o óleo. Disponível em: <<https://www.gov.br/capes/pt-br/assuntos/noticias/microrganismos-ajudam-a-eliminar-petroleo-do-oceano>> Acessado em: 14 set. 2021

CETESB. Principais-Acidentes-Brasil. Disponível em: <<https://cetesb.sp.gov.br/emergencias-quimicas/wpcontent/uploads/sites/22/2013/12/Principais-Acidentes-Brasil-.pdf>>Acessado em: 11 set. 2021.

CHAPMAN, P.M.; POWER, E.A.; BURTON JR, G.A. 1992. Integrate assessments in aquatic ecosystems. In: G.A. Burton (ed.), Sediment Toxicity Assessment. Lewis Publishers, Boca Ranton, FL.

CHAPMAN, P.M.; POWER, E.A.; BURTON JR, G.A. Integrate assessments in aquatic ecosystems. In: G.A. Burton (ed.), Sediment Toxicity Assessment. Lewis Publishers, Boca Ranton, FL, 1992.

CINDRIC, A.M.; GARNIER, C.; OURSEL, B.; PIZETA, I.; OMANOVIC, D. 2015. Evidencing the natural and anthropogenic processes controlling trace metals dynamic in a highly stratified estuary: The Krka River estuary (Adriatic, Croatia). *Marine Pollution Bulletin*. 9,199-216.

COPERTINO, M.; CREED, J.C.; LANARI, M.O.; MAGALHÃES, K.; Barros, K.; LANA, P.C., *et al.* Seagrass and submerged aquatic vegetation (VAS) habitats off the coast of Brazil: state of knowledge, conservation and main threats. **Braz. J. Oceanogr**, v. 64, 53–79, 2016. Doi: <http://dx.doi.org/10.1590/S1679-875920161036064sp2>. Comissão da Ilha. 2020. Personal communication.

COULL, B.C.; CHANDLER, G.T. Pollution and meiofauna: Field, laboratory, and mesocosm studies. **Oceanogr. Mar. Biol.** Ann. Rev. 30: 191-271,1992

DI DOMENICO, M.; ALMEIDA T.C.M. Distribuição espacial da meiofauna no entorno de uma plataforma de produção de petróleo na baía de Santos, Norte de Santa Catarina. **Braz. J. Aquat. Sci. Technol**, v.9(2), p.23-32. 2005. ISSN 1808-7035.

EL-BAZ, F.; ABUELGASIM, A.; KOCH, M.; PAX-LENNEY, M.; LAMBIN, E.; ALDOASARI, A.; MARR, P. S Ryherd and R. Morency. Detection by satellite images of environmental change due to the Gulf War. In: F El-Baz and R M Makharita

- (eds), **The Gulf War and the Environment**. Gordon and Breach Sci Publ, Lausanne, p. 1-24.1994.
- ESCOBAR, H. Mystery oil spill threatens marine sanctuary in Brazil. *Science* 366 (6466), 672, 2019. Doi: 10.1126/science.366.6466.672.
- GALIERIKOVÁ, A.; SOSEDOVÁ, J. 2016. Environmental aspects of transport in the context of development of inland navigation. *Ekológia*. Bratislava, Slovakia, 35.3, 279–288. ISSN 1335-342X. DOI:10.1515/eko-2016-0022.
- GALIERIKOVÁ, A.; MATERNA, M. Comércio marítimo mundial com petróleo: uma das principais causas dos derramamentos de óleo? **Procedia de pesquisa de transporte**, v.44, p.297-304, 2020. Doi: <https://doi.org/10.1016/j.trpro.2020.02.039>.
- GUNDLACH, E.R.; MC CAIN J.C.; FADLALLAH, Y.H. Distribution of Oil Along the Saudi Arabian Coastline (May/June 1991) as a Result of the Gulf War Oil Spills. **Mar Pollut Bull**, p.93, 1993.
- GURUNG, S.; DUBANSKY, B.; VIRGEN, C. A.; VERBECK, G. F.; MURPHY, D.W. Effects of crude oil vapors on the cardiovascular flow of embryonic Gulf killifish. **Science of the Total Environment**, v.751, 2021. Doi: <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2020.141627>.
- HAMILTON, M. A.; RUSO, R. C.; THURSTON, R. V., Trimmed Spearman-Kärber Method for Estimating Median Lethal Concentrations in Toxicity Bioassays. *Environmental Science. Technology*, v. 11, n. 714–719, 1977.
- Instituto Brasileiro do Meio Ambiente e Recursos Naturais Renováveis – IBAMA, 2019. Manchas de Oleo Litoral do Nordeste. Disponível em: <<http://www.ibama.gov.br/manchasdeoleo>> Acessado em: 09 ago. 2021.
- ISO 14669, 1999. Water quality – Determination of acute lethal toxicity to marine copepods (Copepoda, Crustacea). Geneva, Switzerland. First edition. 1999-04-01.
- KENNISH, J. Practical handbook of marine science. London.: CRC Press, p.576, 1994.
- JOKUTY *et al.*, Property of crude oils and oil products. Manuscript Report EE-165, Environmental Protection Service, Environmental Canada, Ottawa, Ontario, 1999.

- JONES, DAI.; WATT, J.; PLAZA T.D.; WOODHOUSE T.D.; AL-SANEI M. Natural Recovery of the Intertidal Biota Within the Jubail Marine Wildlife Sanctuary after the 1991 Gulf War Oil Spill. In: Krupp F, Abuzinada AH, Nader IA, editors. **A Marine Wildlife Sanctuary for the Arabian Gulf**, vol. 137. Frankfurt, Germany: National Commission for Wildlife Conservation and Development, Riyadh, Saudi Arabia and Senckenbergische Naturforschende Gesellschaft; 1996.
- KANG, H. M.; KIM, M. S.; HWANG, U. K.; JEONG, C.B.; LEE, J. S. Effects of methylparaben, ethylparaben, and propylparaben on life parameters and sex ratio in the marine copepod *Tigriopus japonicus*. **Chemosphere**, v. 226, p. 388-394. 2019. Doi: <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2019.03.151>.
- KWARTENG, A.Y.; CHAVEZ JR, P. S. Change detection study of Kuwait City and environs using multi-temporal Land sat Thematic Mapper data. **IJRS** v.19, n.9, p.1651-1662. 1998.
- KWARTENGL, A. Y. Remote sensing assessment of oil lakes and oil-polluted surfaces at the Greater Burgan oil field, Kuwait. **International Journal of Applied Earth Observation and Geoinformation**, v.1, n.1, p. 36-47, 1999. Doi: [https://doi.org/10.1016/S0303_2434\(99\)85026-0](https://doi.org/10.1016/S0303_2434(99)85026-0).
- LAMARDO, E.L. Tropical Oceanography. Fontes e níveis de contaminação do sistema estuarino do Rio Capibaribe (Pernambuco/Brasil), 2016.
- LAVORANTE, B. R. B. O.; OLIVEIRA, D. D.; COSTA, B.V.M.; SOUZA-SANTOS, L. P. A new protocol for ecotoxicological assessment of seawater using nauplii of *Tisbe biminiensis* (Copepoda:Harpacticoida). **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 95, p. 52–59, 2013.
- Loughborough University Research School Torrey Canyon's Last Voyage – An Ergonomic Commentary in Six Parts; Department of Human Sciences, Loughborough University, Publication of Research School
- LOURENCO, R. A.; COMBI, T.; ALEXANDRE, M. R.; SASAKI, S. T.; ZANARDI-LAMARDO, E.; YOGUIE, G. T. Mysterious oil spill along Brazil's northeast and southeast seaboard (2019–2020): Trying to find answers and filling data gaps. **Marine Pollution Bulletin**, v. 156,2020. Doi: <https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2020.111219>

- LOURENÇO, R.A.; COMBI, T.; ALEXANDRE, M. R.; SASAKI, S. T., Zanardi-Lamardo, E.; YOGUI, G. T. Mysterious oil spill along Brazil's northeast and southeast seaboard (2019–2020): Trying to find answers and filling data gaps. **Marine Pollution Bulletin**, v.156, 111219, 2020. Doi: <https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2020.111219>.
- MADEIRO, C. Uol-Meio Ambiente,2019. Disponível em: <<https://noticias.uol.com.br/meio-ambiente/ultimas-noticias/redacao/2019/10/28/oleo-vazado-fragmenta-como-plastico-e-contamina-invertebrados-diz-pesquisa.htm>> Acessado em: 02 jan. 2020.
- MAGRIS, R.A.; GIARRIZZO, T.; Mysterious oil spill in the Atlantic Ocean threatens marine biodiversity and local people in Brazil. **Mar. Pollut. Bull.** 153,110961, 2020. Doi: <https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2020.110961>.
- MELO, C. L.; BASTOS- NETO, A. C.; CAICEDO, N.O.L.; SCHWARZ, M. R. Contaminação do Lençol Freático pelo Vazamento de Óleo na Refinaria Presidente Getúlio Vargas - REPAR, Município de Araucária, Paraná. **RBRH - Revista Brasileira de Recursos Hídricos**, v. 8, n.1, p.13–19, 2003.
- MICHEL, J. Derramamento de óleo da Guerra do Golfo de 1991. **Ciência e tecnologia de derramamento de óleo**, p.1127-1132 Cap.37. 2011. DOI: <https://doi.org/10.1016/B978-1-85617-943-0.10037-1>Obtenha direitos e conteúdo
- MONTEIRO, L.; TRAUNSPURGER, w.; ROELEVELD, K.; LYNEN, F.; MOENS, T. Direct toxicity of the water-soluble fractions of a crude and a diesel-motor oil on the survival of free-living nematodes. *Ecological Indicators*. v.93, p.13–23, 2018.
- NASRI SISSINI, M.; BERCHEZ, F.; HALL-SPENCER, J.; GHILARDI-LOPES, N.; CARVALHO, V. F.; SCHUBERT, N.; KOERICH, G., DIAZ-PULIDO, G.; SILVA, J.; SERRÃO, E.; ASSIS, J.; SANTOS, R.; FLOETER, S. R.; RÖRIG, L.; BARUFI, J. B.; BERNARDINO, A. F.; FRANCINI- FILHO, R.; TURRA, A.; HOFMANN, L.C., AGUIRRE, J.; LE GALL, L.; PEÑA, V.; NASH, M. C.; ROSSI, S.; SOARES, M.; PEREIRA-FILHO, G.; TÂMEGA, F.; HORTA, P. A. Brazil oil spill response: **Protect rhodolith beds**. *Science* v.367, p.156–156. Doi: <https://doi.org/10.1126/science.aba2582>.

- NIKINMAA, M.; SUOMINEN, E.; ANTTILA, K. Water-soluble fraction of crude oil affects variability and has transgenerational effects in *Daphnia magna*. *Aquatic Toxicology*, v.211, p.137–140, 2019. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.aquatox.2019.04.004>
- NORTEC, 2004. Explosão e naufrágio do navio tanque/químico “vicuña” em Paranaguá (PR). Disponível em: <https://www.marinha.mil.br/dpc/sites/www.marinha.mil.br.dpc/files/vicuna.pdf> Acessado em: 10 set. 2021.
- NRC, 2003. Oil in the Sea III: Inputs, Fates, and Effects. National Research Council, Washington, D.C, p. 265.
- OLIVARES-RUBIO, H. F.; ESPINOSA-AGUIRRE, J.J. Acetylcholinesterase activity in fish species exposed to crude oil hydrocarbons: A review and new perspectives. **Chemosphere**, v. 264, 2021. Doi: <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2020.128401>
- OLIVEIRA, O. M.; QUEIROZ, A.F.D.S.; CERQUEIRA, J.R.; SOARES, S.A.; GARCIA, K.S. PAVANI-FILHO, A.; ROSA, M.L.S.; SUZART, C.M.; PINHEIRO, L.L.; MOREIRA, I.T. Environmental disaster in the northeast coast of Brazil: Forensic geochemistry in the identification of the source of the oily material. **Marine Pollution Bulletin**, v.160, 111597. Doi: <https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2020.111597>.
- ONATE, D.S.; CABALLERO, G. Oil Spills, Governance and Institutional Performance: The 1992 Regime of Liability and Compensation for Oil Pollution Damage. **Journal of Cleaner Production**, v.166, p. 299–311, 2017. Doi: <https://doi.org/10.1016/j.jclepro.2017.08.021>.
- Origem do óleo. Disponível em: <http://cepa.if.usp.br/energia/energia1999/Grupo1A/origem.html> Acessado em: 06 Jan.2020.
- PENA, P. G. L.; NORTHROSS, A.L.; LIMA, M. A. G.; RÊGO, R. C. F. Derramamento de óleo bruto na costa brasileira em 2019: emergência em saúde pública em questão. **CSP CADERNOS DE SAUDE PUBLICA**. Doi: 10.1590/0102-311X00231019. 2019.

- PEREIRA, T. M.; MERÇON, J.; PASSOS, L. S.; COPPO, G.C.; LOPES, T. O. M.; CABRAL, D. S.; SCHERER, R.; CHIPPARI-GOMES, A.R. Efeitos da fração solúvel em água do óleo diesel (WSD) na fertilização e no desenvolvimento de um ouriço-do-mar (*Echinometra lucunter*). **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 162, p. 59-62, 2018. Doi: <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2018.06.040>
- POUNDS, N.A.; HUTCHINSON, T.H.; WILLIAMS, T.D.; WHITING, P.; DINAN, L. Assessment of putative endocrine disrupters in an in vivo crustacean assay and an in vitro insect assay. **Mar. Environ. Res**, v. 54, p. 709-713, 2002.
- RAMALHO, C.W.N., Santos, A.P. The experience of Pernambuco's fishing communities with the oil and the coronavirus tragedies. **Lat. Am. Perspect.** 47(5). in press. 2020.
- RODRIGUES, R.V.; MIRANDA-FILHO, K.C.; GUSMAO, E.P.; MOREIRA, C.B., ROMANO, L.A., SAMPAIO, L.A. Deleterious effects of water-soluble fraction of petroleum, diesel and gasoline on marine pejerrey *Odontesthes argentinensis* larvae. **Sci. Total Environ**, v. 408, p. 2054–2059, 2010.
- SALVO, L. M. *et al.* Proteomic approach for the evaluation of the effects of polyaromatic hydrocarbons (PAHs) irradiated in the marine fish *Rachycentron canadum*. Society of Environmental Toxicology and Chemistry, Europe 23rd Annual Meeting in Glasgow, UK, 2013.
- SOARES, M. O.; TEIXEIRA, C. E. P.; BEZERRA, L. E. A.; PAIVA, S. V.; TAVARES, T. C. L.; GARCIA, T. M.; ARAÚJO, J. T.; CAMPOS, C. C.; FERREIRA, S. M. C.; MATTHEWS- CASCON, H.; FROTA, A.; MONT'ALVERNE, T. C. F.; SILVA, S. T.; RABELO, E. F., BARROSO, C. X.; FREITAS, J. E. P.; MELO JÚNIOR, M.; CAMPELO, R. P. S.; SANTANA, C. S.; CARNEIRO, P. B. M.; MEIRELLES, A. J.; SANTOS, B. A.; OLIVEIRA, A. H. B.; HORTA, P.; CAVALCANTE, R. M. Oil spill in South Atlantic (Brazil): Environmental and governmental disaster. **Mar. Pol**, v.115, 103879, 2020. Doi: <https://doi.org/10.1016/j.marpol.2020.103879>.
- SOARES, M.O.; TEIXEIRA, C.E.P.; BEZERRA, L.E.A.; ROSSI, S., TAVARES, T., CAVALCANTE, R.M. Brazil oil spill response: Time for coordination. **Science** 367(6474), 155, 2020. Doi: 10.1126/science.aaz9993.

- SOARES, M.O.; TEIXEIRA, C.E.P.; BEZERRA, L.E.A.; ROSSI, S.; TAVARES, T.; CAVALCANTE, R.M. Brazil oil spill response: **Time for coordination**. *Science* 367(6474), 155, 2020. Doi: 10.1126/science.aaz9993.
- SOTO, Y.J.M. A modelagem hidrodinâmica como apoio a tomada de decisão em caso de derrame de óleo na parte interna do Complexo Estuarino Antonina-Paranaguá-PR. Dissertação (Mestrado em Engenharia de Recursos Hídricos e Ambiental)-Setor de Tecnologia, Universidade Federal do Paraná, Curitiba,2004.
- SZEW CZYK,S.B.O; Doutoranda do Curso de Oceanografia Física – FURG, Rio Grande, Disponível em: <<https://semengo.furg.br/images/2006/36.pdf>> Acessado em : 02 jan.2020.
- TAWFIQ, N.I, OLSEN,D.A. Saudi Arabia’s Response to the 1991 Gulf Oil Spill. *Mar Pollut Bull* 1993;333.
- TSVETNENKO, Y., EVANS, L. Improved approaches to ecotoxicity testing of petroleum products. *Mar. Pollut. Bull.* v.45, p.148–156, 2002.
- WEIMANN, G. Explosões e naufrágio da plataforma P-36 completam 20 anos, 2021. Disponível em: < <https://sindipetrosp.org.br/explosoes-e-naufragio-da-plataforma-p-36-completam-20-anos/>> Acessado em: 11 set. 2021.
- ZAGATTO, P. A.; BERTOLETTI E. *Ecotoxicologia Aquática - Princípios e Aplicações*. São Paulo: Editora RIMA, 2006. p. 478.
- ZHANG, H.X.; JI, Q.; FAN, Y. What drives the formation of global oil trade patterns? *Energy Economics* v.49, p.639–648, 2015.DOI: 10.1016 / j.eneco.2015.02.017.