

UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ

ALINE GONZALEZ EGRES

**AVALIAÇÃO EXPERIMENTAL DOS EFEITOS DE ÓLEO DIESEL SOBRE A
MACROFAUNA BÊNICA DE BAIXIOS NÃO VEGETADOS DA BAÍA DE
PARANAGUÁ (PARANÁ-BRASIL)**

PONTAL DO PARANÁ

2011

ALINE GONZALEZ EGRES

**AVALIAÇÃO EXPERIMENTAL DOS EFEITOS DE ÓLEO DIESEL SOBRE A
MACROFAUNA BÊNICA DE BAIXIOS NÃO VEGETADOS DA BAÍA DE
PARANAGUÁ (PARANÁ-BRASIL)**

Dissertação apresentada como requisito parcial à obtenção do grau de Mestre em Sistemas Costeiros e Oceânicos, Curso de Pós-Graduação em Sistemas Costeiros e Oceânicos, Linha de Pesquisa: Biologia e Ecologia de Sistemas Costeiros e Oceânicos. Centro de Estudos do Mar, Setor de Ciências da Terra, Universidade Federal do Paraná.

Orientador: Prof. Dr. Paulo da Cunha Lana

PONTAL DO PARANÁ

2011

A32c Egres, Aline Gonzalez
Avaliação experimental dos efeitos de óleo diesel sobre a macrofauna bêntica de baixios não vegetados da Baía de Paranaguá (Paraná-Brasil / Aline Gonzales Egres . – Pontal do Paraná, 2011.
42 f.; 29 cm.

Orientador: Prof. Dr. Paulo da Cunha Lana.

Dissertação (Mestrado) – Programa de Pós-Graduação em Sistemas Costeiros e Oceânicos, Centro de Estudos do Mar, Setor de Ciências da Terra, Universidade Federal do Paraná.

1. Óleo diesel. 2. Macrofauna bêntica. I. Título. II. Paulo da Cunha Lana. III. Universidade Federal do Paraná.

CDD 628.394



Curso de Pós-Graduação em Sistemas
Costeiros e Oceânicos da UFPR

Centro de Estudos do Mar - Setor Ciências da Terra - UFPR
Avn. Beira-mar, s/n.º - Baía, Pontal do Sul - Pontal do Paraná - Paraná - Brasil
Tel. (41)3511 8644 - Fax (41)3511 8644 - www.cem.ufpr.br/pgsisco - pgsisco@ufpr.br

TERMO DE APROVAÇÃO

Aline Gonzalez Egres

Avaliação experimental dos efeitos de óleo diesel sobre a macrofauna bêntica de baixios não vegetados da Baía de Paranaguá

Dissertação aprovada como requisito parcial para a obtenção do grau de
Mestre em Sistemas Costeiros e Oceânicos, da Universidade Federal do
Paraná, pela Comissão formada pelos professores:

Dr. Paulo da Cunha Lana
Orientador e Presidente

Dr. César de Castro Martins
Membro Examinador

Dr. Carlos Emílio Bemvenuti
Membro Examinador

Pontal do Pa á, 29/07/11.

AGRADECIMENTOS

Gostaria de expressar toda a minha gratidão ao prof. Paulo Lana pela orientação, apoio, incentivo e paciência ao longo do mestrado.

Aos amigos que participaram efetivamente em campo e em laboratório, principalmente na execução do experimento, sem vocês este trabalho não teria dado certo: Vitão, Dani, Marco, Jenyffer, Augusto, Verônica, Fabi, Josi, Kalina, Maikon e Daphne.

Ao laboratório de Geoquímica Orgânica e Poluição Marinha especialmente o prof. César de Castro Martins e a Manuela Zeglin Camargo, pela realização das análises de hidrocarbonetos.

Ao prof. Maurício Camargo e ao colega de laboratório 'Leo' pela inestimável ajuda quanto à análise dos dados.

Ao prof. Marcelo Lamour do laboratório de Geologia, pelas análises granulométricas.

Aos funcionários do CEM que de alguma forma contribuíram para a execução do trabalho: Abraão, Rolnei, Josias, Junior, Seu Raul e Moises. Valeu pela paciência de vocês!!!!

À Verônica, pela indispensável ajuda na identificação da macrofauna.

A Capes (Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior) pela bolsa de estudos fornecida durante este curso de mestrado.

A TRANSPETRO Petrobrás Transporte S. A pelo fornecimento do óleo diesel marítimo para o experimento, com especial agradecimento a Liliane.

Aos meus familiares pelo incentivo e por sempre desejarem meu sucesso.

A todos que colaboraram direta ou indiretamente para a concretização deste trabalho.

RESUMO

Os efeitos do óleo diesel sobre as associações bêmicas de baixios não vegetados da Baía de Paranaguá foram avaliados através da simulação de um derrame *in situ* adotando o modelo Multivariate Before and After/Control and Impact (M-BACI). Tratamentos impactos foram contrastados com controles em 14 períodos sucessivos. Não foram detectadas diferenças significativas na densidade total da macrofauna, número de espécies e densidades de oligoquetas, ostrácodes, *Heleobia australis*, *Bulla striata*, *Glycinde multidentis*, *Mediomastus* sp. e *Heteromastus* sp. entre os tratamentos, antes e depois do derrame. Efeito agudo foi registrado pós- impacto, porém, a recuperação dos níveis populacionais pré-impacto foi extremamente rápida. O principal vetor de recolonização foi a migração ativa de adultos dos sedimentos adjacentes. Em geral, o derrame experimental foi pouco relevante para os descritores biológicos das associações bêmicas, que se mostraram tolerantes ou resilientes nas escalas de tempo (127 dias) e espaço (35 X35 cm) adotadas no experimento.

Palavras-chaves: Óleo diesel, Macrofauna bêmica, experimento *in situ*, M-BACI.

ABSTRACT

Effects of diesel oil on benthic communities of non-vegetated tidal flats of Paranaguá Bay (Brazil) were assessed after an *in situ* experimental spill using a Multivariate Before and After/Control and Impact (M-BACI) design. Impact sites were compared to Control sites through fourteen successive samplings. We found no significant responses in total density, number of species and density of oligochetes, ostracods, *Heleobia australis*, *Bulla striata*, *Glycinde multidentis*, *Mediomastus* sp. and *Heteromastus* sp. between both impact versus control and before to after treatments. Acute effects were recorded just after the impact, but the recovery to pre-impact conditions was extremely fast. The main recolonization vector was adult active migration from adjacent sediments. Local benthic associations were tolerant or resilient to oil impacts in the spatial (35 vs 35 cm) and temporal (127 days) experimental scales.

Key words: diesel oil, benthic macrofauna, *in situ* experiment, M-BACI.

SUMÁRIO

1. Introdução	1
2. Materiais e métodos	4
2.1. <i>Área de estudo</i>	4
2.2. <i>Delineamento experimental</i>	5
2.3. <i>Amostragem da macrofauna bêntica</i>	8
2.4. <i>Amostragem de variáveis físico-químicas</i>	8
2.5. <i>Processamento dos dados</i>	10
3. Resultados	12
3.1. <i>Parâmetros ambientais</i>	12
3.2. <i>Hidrocarbonetos Alifáticos</i>	13
3.3. <i>Macroinvertebrados</i>	15
3.4. <i>Efeitos do derrame experimental</i>	15
4. Discussão	21
5. Referências bibliográficas	26
Anexos	32

1 **Experimental evaluation of the effects of diesel fuel on the benthic macrofauna from**
2 **tidal flats of Paranaguá Bay (Paraná- Brazil)**

3

4 **Avaliação experimental dos efeitos de óleo diesel sobre a macrofauna bêntica de baixios**
5 **não vegetados da baía de Paranaguá (Paraná-Brasil)**

6

7 **Revista pretendida:** Marine Pollution Bulletin (*Mar Pollut Bull*), INSS (0025-326X), Fator
8 de Impacto (JCR, 2009) = 2.630, Qualis CAPES = Estrato A2.

9

10 Aline Gonzalez Egres ^{a*}, Paulo da Cunha Lana ^a

11 ^a Centro de Estudos do Mar da Universidade Federal do Paraná - Caixa Postal 50.002, 83255-
12 000, Pontal do Paraná, Paraná, Brazil

13 * Corresponding author: egres.aline@gmail.com

14 phone: +55419627-0875

15

16 **Key- words:** Oil spill, benthic macrofauna, *in situ* experiment, M-BACI.

17

18 **Palavras-chave:** Derrame de óleo, macrofauna bêntica, experimento *in situ*, M-BACI.

19

20

21

22

23

24

1. Introdução

Os derrames de óleo estão entre os principais vetores de contaminação orgânica nos ambientes marinhos, podendo causar efeitos negativos sobre a biota em seus diferentes níveis de organização (Peso-Aguiar et al., 2000; Ruiz et al., 2005, Venturini, 2008). Em condições normais, grande parte do óleo é removido por forças físicas como movimentos de marés, evaporação e dispersão, mas uma fração importante pode ser adsorvida pelo sedimento. Uma vez introduzido nas camadas profundas anaeróbicas do sedimento, o óleo pode não ser degradado e permanecer por anos no ambiente (Readman et al., 2002). De acordo com Sanz-Lázaro e Marín (2009), áreas estuarinas por serem considerados ambientes confinados, tendem a acumular e reter as substâncias tóxicas do petróleo e seus derivados.

Ambientes estuarinos são habitats para diversas populações bênticas, que desempenham importante papel como decompositores de detritos e transferidores de nutrientes e energia entre níveis tróficos. Além disso, os organismos bênticos vivem em estrita associação com o substrato, que tende a acumular e reter poluentes orgânicos e contaminantes, principalmente quando mal oxigenados. Por causa de sua natureza relativamente sedentária, é difícil para esses organismos evitarem a exposição aos poluentes e outras condições adversas em seu entorno (Hyland et al., 2005). Desta forma, a fauna bêntica tem sido frequentemente empregada nas avaliações da intensidade e extensão dos danos causados por derrames de óleo, justamente por refletirem com maior precisão e rapidez as alterações dos parâmetros físicos e químicos do ambiente (Ocon et al., 2008).

Os poluentes tendem a modificar a estrutura das associações bênticas alterando sua abundância e composição. Em geral, espécies tolerantes ou oportunistas a contaminações tornam-se relativamente mais numerosas, enquanto aquelas consideradas sensíveis tornam-se cada vez mais raras ou desaparecem (Carman et al., 2000; Belan, 2003). Espécies sobreviventes a impactos agudos podem formar manchas ou agregados populacionais nas

50 áreas afetadas, excluindo aquelas anteriormente dominantes. Assim, a composição da
51 comunidade bêntica pode ser alterada de forma temporária ou permanente em comparação
52 com a situação pré-evento (Glasby e Underwood, 1996).

53 Segundo Goodsell et al., (2009), indicadores biológicos confiáveis de qualidade
54 ambiental necessitam estabelecer conexões lógicas entre suas respostas e as variáveis de
55 interesse. A idéia de que um grupo taxonômico ou espécie é representativo de uma
56 determinada condição ambiental deve ser inicialmente tratada como uma hipótese a ser
57 testada. Para qualquer táxon ou grupo de táxons serem considerados indicadores eficazes é
58 necessária: (i) uma correlação consistente entre as mudanças nas variáveis de interesse da
59 pesquisa (por exemplo, as concentrações de um contaminante) e a resposta do indicador; (ii)
60 uma demonstração de causalidade entre o estresse e a resposta exibida pelo indicador; (iii)
61 uma demonstração de que a relação é direta e previsível para um dado nível de variáveis
62 (Goodsell et al., 2009).

63 Abordagens toxicológicas em laboratórios ou *in situ* têm sido amplamente utilizadas
64 para avaliação de riscos ambientais, ambas apresentando vantagens e limitações particulares
65 (Carman et al., 2000; Bhattacharyya et al., 2003; Faraco e Lana, 2003; Schratzberger et al.,
66 2003; Chung et al., 2004; Lu e Wu, 2006). Bioensaios de laboratório realizados sob condições
67 estritamente controladas, com o uso de espécies consideradas bioindicadoras de contaminação
68 podem não refletir a chamada variabilidade natural (Morales-Caselles et al., 2008). Isto gera
69 incertezas quanto à validade de extrapolação dos resultados quando comparados aos estudos
70 de campo (Sibley et al., 1999).

71 De fato, as associações e os ecossistemas geralmente não apresentam comportamentos
72 simples ou lineares em seu habitat natural. Estes sistemas estão mais propensos a resistir até
73 atingir um limiar de perturbação (Hyland et al., 2005). Nesse contexto, a simulação de
74 experimentos manipulativos de pequena ou meso-escala *in situ* muitas vezes é o melhor

75 caminho para identificar as causas dos problemas e as suas eventuais soluções, pois refletem
76 melhor a realidade ecológica, respondendo a efeitos cumulativos e sinérgicos (Glasby e
77 Underwood, 1996).

78 Essas abordagens são muito simples do ponto de vista conceitual ou metodológico, não
79 demandando equipamentos sofisticados. Além disso, são consideradas ferramentas bastante
80 confiáveis, pois utilizam diferentes linhas de provas e analisam toda a comunidade através das
81 espécies chaves (Sanz-Lázaro e Marín, 2009), que sustentam a integridade ecológica
82 (estrutura e produtividade) de seus ecossistemas.

83 O Complexo Estuarino de Paranaguá (CEP) abriga o Porto de Paranaguá, que é um dos
84 principais exportadores de grãos da América Latina. Embora não se caracterize por um grande
85 volume de operações no setor de petróleo, possui dentre os componentes de sua zona retro-
86 portuária o Terminal Aquaviário de Paranaguá (TEPAR), que opera com refino, armazenagem
87 e transporte de petróleo e derivados. A este agente, deve-se somar o intenso fluxo de
88 embarcações, principalmente de navios graneleiros e um significativo aumento do número de
89 pequenas embarcações de pesca e lazer. O combustível mais usual na maioria destas
90 embarcações é o óleo diesel marítimo, que apesar de tender a persistir menos tempo no
91 ambiente devido à sua elevada taxa de evaporação (FINGAS, 2001), tem efeitos expressivos
92 sobre os organismos, provocando quedas das taxas de densidades populacionais e riquezas
93 dos táxons bênticos (Lytle & Peckarsky, 2001).

94 O CEP possui uma grande variabilidade de ambientes, desde manguezais, marismas e
95 baixios não vegetados, suscetíveis às atividades portuárias. Os baixios não vegetados são
96 habitats de diversos organismos bênticos os quais desempenham um papel central na cadeia
97 alimentar tanto como consumidores e/ou como presa. São locais de descanso e alimentação de
98 aves migratórias e são reconhecidos como áreas de pesca de comunidades locais (Ryo et al.,
99 2011). Esses ecossistemas, dominantes em áreas geralmente confinadas e de baixa energia

100 ambiental das regiões estuarinas da costa sudeste brasileira, são de fato alvos potenciais dos
101 derrames acidentais de óleo (Noernberg & Lana, 2002).

102 A partir desse contexto, este trabalho teve por objetivos: (i) avaliar em um experimento
103 de campo os efeitos agudos (imediatos) do óleo diesel sobre a macrofauna bêntica de baixios
104 não vegetados no CEP, expressos pela mortalidade e por alterações de sinais vitais das
105 espécies numericamente dominantes; (ii) avaliar os efeitos de curto-prazo (semanas a meses)
106 do óleo diesel, expressos por variações da densidade total, no número de espécies e densidade
107 das espécies macrobênticas numericamente dominantes; (iii) avaliar a velocidade de
108 recuperação dos níveis populacionais pré- impacto, isto é, a resiliência da comunidade e; (iv)
109 reconhecer possíveis espécies sensíveis, tolerantes e/ou resilientes ao impacto.

110

111 **2. Materiais e Métodos**

112 *2.1. Área de estudo*

113 A Baía de Paranaguá, localizada na planície costeira do Estado do Paraná, é um
114 sistema estuarino margeado por manguezais, marismas e extensas planícies de marés. Este
115 ambiente possui importância econômica relacionada às atividades portuárias de exportação de
116 grãos, à presença de um terminal de combustíveis e às atividades de pesca artesanal, que
117 constituem as principais bases de sustentação econômica da população local (Mantovanelli et
118 al., 2004). Diversas marinas destinadas a abrigar embarcações de lazer estão localizadas ao
119 longo do estuário (Santos et al., 2009). Apesar de sua importância econômica e ecológica, o
120 sistema estuarino vem sendo afetado por descargas de efluentes domésticos e industriais,
121 (Martins et al., 2010).

122 As planícies entremarés não vegetadas ou baixios constituem uma das feições mais
123 comuns das regiões estuarinas paranaenses. Estes depósitos são frequentemente expostos

124 durante as marés baixas e muitas vezes recobertos por bancos de macroalgas ou filmes de
125 diatomáceas, principais responsáveis pela produção primária local (Siqueira et al., 2006). A
126 dominância numérica de poliquetas e oligoquetas seguido de crustáceos e de moluscos e a
127 presença de alguns táxons tais como *Isolda pulchella*, *Aricidea* sp., *Nereis oligohalina*,
128 *Glycinde multidentis*, , *Sigambra grubei*, e *Capitella* sp. é um padrão que se repete em todos os
129 ambientes da Baía de Paranaguá (Faraco e Lana, 2004).

130 O experimento foi realizado em baixios não vegetados no Canal da Cotinga (Fig. 1),
131 um sub-estuário do complexo estuarino de Paranaguá, com cerca de 15 km de extensão, onde
132 deságuam os rios Maciel, Correias, Almeidas, Guaraguaçu e Itiberê (Lana et al., 2001).

133

134 2.2. *Delineamento experimental*

135 A abordagem experimental *in situ*, realizada entre 18 de novembro de 2009 e 13 de
136 abril de 2010, foi do tipo agudo, com a simulação de um único impacto (29/01/2010), com
137 posteriores comparações das respostas biológicas entre tratamentos impactos e controles, em
138 escalas temporais pré-estabelecidas discriminadas na tabela 1.

139

140 Foi adotado o modelo experimental M-BACI (*Multivariate Before and After/Control*
141 *and Impact*), estratégia amostral adequada para análises de impactos planejados (Keough e
142 Mapstone, 1997; Underwood, 2000; Downes et al., 2004). Três tratamentos impactados foram
143 contrastados com três controles ao longo de 14 períodos sucessivos (sete antes e sete após o
144 derrame) (Tabela 1). Amostragens espaciais e temporais foram replicadas para a adequada
145 interpretação das interações entre os tratamentos (impacto e controle) os períodos (antes e
146 depois), tornando inferências ainda mais confiáveis (Underwood , 2000).

146

147

148

149
150

Tabela 1 - Cronograma das amostragens, adotando o desenho amostral M-BACI.

ANTES	D-73 18/11/09	D-45 16/12/09	D-32 29/12/09	D-15 15/01/10	D-3 26/01/10	D-2 27/01/10	D-1 28/01/10
IMPACTO	DERRAME EXPERIMENTAL 29/01/10						
DEPOIS	D 1 30/01/10	D 2 31/01/10	D 3 01/02/10	D 15 12/02/10	D 32 01/03/10	D 45 15/03/10	D 73 13/04/10

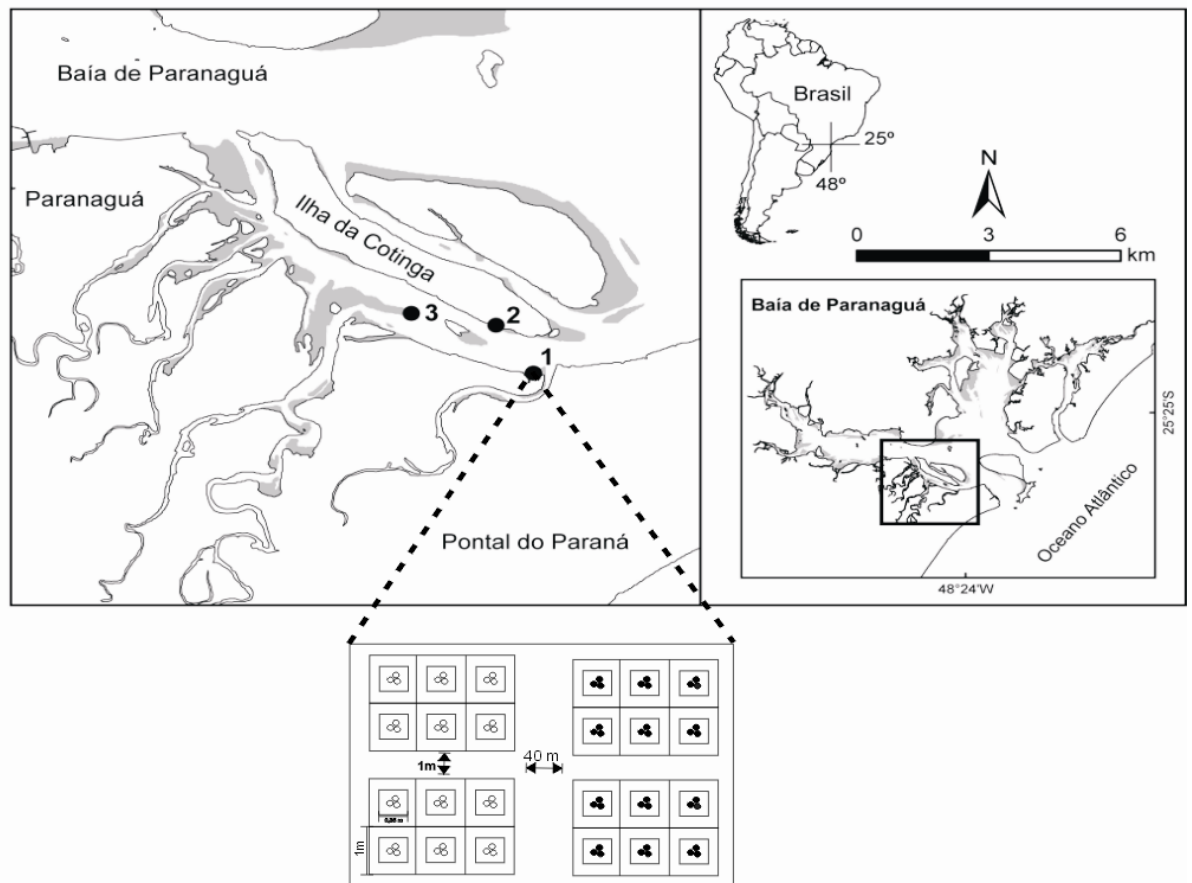
151
152
153
154

D: Dias das amostragens.

155 O contaminante usado no experimento foi o óleo diesel marítimo, doado pela
156 TRANSPETRO S. A. Este combustível é destinado a embarcações de pequeno e médio porte
157 e aos motores denominados auxiliares, em embarcações de grande porte. O derrame
158 experimental foi realizado em três áreas de baixios não vegetados localizados entre a foz dos
159 rios Maciel e Guaraguaçu: Área 1 (25°33' 031' S, 48°25'074"O); Área 2 (25°32' 706" S ,
160 48°25'826" O); Área 3 (25°32' 55.2" S, 48°27'143"O) (Fig. 1).

161 Em cada baixio, foi estabelecido um tratamento impacto, com despejo de óleo diesel e
162 o seu respectivo controle, distando 40 metros entre si e posicionados em níveis de marés
163 similares, paralelos à linha da costa. Para cada tratamento, foram definidos 12 quadrados de
164 1m², dispostos em fileiras, com áreas amostrais centralizadas de 0,35 x 0,35 m (Fig. 1).

165
166
167
168



170 **Fig. 1.** Mapa da Baía de Paranaguá, mostrando as três áreas de baixio (●) e o delineamento amostral com os
 171 tratamentos impacto (●●) e seus respectivos controles (○).

172
 173

174 O derrame experimental foi realizado durante período de maré baixa quando os baixios
 175 não vegetados encontravam-se emersos otimizando o tempo para o óleo percolar no
 176 sedimento. Em cada área amostral centralizada foram despejados 2500 ml de óleo diesel.
 177 Durante o despejo, o óleo ficou inicialmente contido por artefatos quadrados de madeira
 178 devidamente alocados impedindo a dispersão do produto e contaminação cruzada dos
 179 tratamentos controle. A quantidade utilizada foi definida a partir de experimentos pilotos que
 180 não registraram respostas evidentes ou imediatas da fauna bêntica a volumes menores de óleo.

181

182

183

184 2.3. *Amostragem da macrofauna bêntica*

185 Três réplicas foram tomadas aleatoriamente de cada tratamento (impacto e controle),
186 com um corer de 10 cm de diâmetro por 8 cm de altura em cada dia de amostragem (14 dias),
187 nos três baixios não vegetados, perfazendo um total de 252 amostras. Em laboratório, as
188 amostras foram imediatamente triadas em peneiras com malha de 500 µm. O material retido
189 foi fixado com formol a 4 % por 48 h e posteriormente conservado em álcool 70%. Com o
190 auxílio de lupa e microscópio, a macrofauna bêntica foi contada e identificada ao menor nível
191 taxonômico (geralmente em espécie). Para avaliar as respostas imediatas (agudas) dos
192 organismos ao óleo, as amostras coletadas no primeiro dia após o impacto e levadas para o
193 laboratório, sem qualquer fixação. Com o auxílio de microscópio estereoscópico, os
194 organismos encontrados foram classificados em vivos e mortos e quantificados. Foram
195 considerados como vivos os organismos que apresentavam mobilidade e respostas a estímulos
196 mecânicos.

197

198 2.4. *Amostragem de variáveis físico-químicas*

199 No primeiro e último dia do experimento (18/11/2009 e 13/04/2010, respectivamente)
200 foram coletadas amostras de sedimento, em cada um dos tratamentos, para análises
201 granulométricas. Para estimar as concentrações de hidrocarbonetos e os teores de matéria
202 orgânica, foram coletadas, adicionalmente, amostras de sedimento um dia após o impacto
203 (30/01/2010). Os níveis de contaminação por hidrocarbonetos alifáticos nos sedimentos foram
204 analisados no Laboratório de Geoquímica Orgânica e Poluição Marinha (LaGPoM) do Centro
205 de Estudos do Mar, seguindo a metodologia descrita por UNEP (1991) e Martins et al.,
206 (2004).

207 A identificação de sistemas contaminados por óleo é baseada na análise de indicadores
208 químicos; eles exibem perfis característicos que refletem a fonte de contaminação (biogênica,

209 pirôgenica e/ou petrogênica) e a fase de intemperismo do poluente (Readman et al., 2002). Os
210 principais marcadores usados são alifáticos totais, n-alcenos (C₁₂-C₃₅), mistura complexa não
211 resolvida (MCNR), alcanos isoprenoídes e hidrocarbonetos policíclicos aromáticos (PAHs)
212 Carro et al., (2006).

213 Para este trabalho foi estimada a concentração de alifáticos totais ($\mu\text{g.g}^{-1}$) e a mistura
214 complexa não resolvida (MCNR). Sedimentos estuarinos ou entremarés com a soma de
215 alifáticos totais inferiores a $10\mu\text{g.g}^{-1}$ são considerados não contaminados (Maioli et al., 2011).
216 Em uma análise cromatográfica um dos indicativos da presença de hidrocarbonetos do
217 petróleo em sedimentos é a presença de uma mistura complexa não resolvida (MCNR),
218 representada pela elevação da linha de base. Essa elevação é caracterizada por uma mistura de
219 centenas de compostos que não podem ser separados pela técnica cromatográfica (Volkman
220 et al., 1992). Normalmente, estão associados a compostos provenientes do óleo, resistentes à
221 degradação.

222 A determinação destes indicadores foi realizada através de subamostras de 5 g de
223 sedimento seco extraídos em Soxhlet com 80 ml de uma mistura contendo 50 % de
224 diclorometano (DCM) por 8 horas. Em cada frasco de extração foi adicionado 100 μl de
225 padrões sub-rogados contendo hexadeceno e eicoseno ($5\text{ ng.}\mu\text{L}^{-1}$) e 5 α -androstanol ($2\text{ ng.}\mu\text{L}^{-1}$).
226 Os extratos resultantes foram concentrados em evaporador rotativo a vácuo até um volume
227 aproximado de 2 ml e submetidos a cromatografia de adsorção (*cleanup*), contendo 3,2 g de
228 sílica, 1,8 g de alumina (5% desativadas) e sulfato de sódio. A coluna foi eluída com 10 mL
229 de n-hexano para obtenção dos hidrocarbonetos alifáticos, seguido de 5 mL de uma solução
230 1:9 de etanol e DCM. Logo após, os hidrocarbonetos foram concentrados em evaporador
231 rotativo a vácuo e transferidos para ampolas contendo 100 μl de padrão interno
232 cromatográfico (tetradeceno – $5\text{ ng.}\mu\text{l}$) com volume final de 250 μl . Posteriormente, as

233 análises foram realizadas através da injeção de 1 µl de extrato de amostra em um
234 cromatógrafo a gás modelo Agilent GC System 7890 Series.

235 A concentração de matéria orgânica foi medida pela diferença entre os pesos inicial e
236 final após queima de sedimento a 550 °C durante 1 hora (Dean, 1974). Para as análises
237 granulométricas, as amostras foram peneiradas com malhas variando entre -1,5 e 4,0 phi (phi
238 = $-\log_2$ diâmetro (em mm)) e a fração silte-argila foi processada por pipetagem (Suguió,
239 1973). Essas análises foram realizadas no Laboratório de Oceanografia Geológica (LOGEO)
240 do Centro de Estudos do Mar (CEM/UFPR).

241 Em cada dia de amostragem foi medida a salinidade da água com o auxílio de
242 refratômetro portátil, com escala direta em unidades práticas de salinidade (UPS) e a
243 temperatura do sedimento com um termômetro com escala em graus *Celsius*.

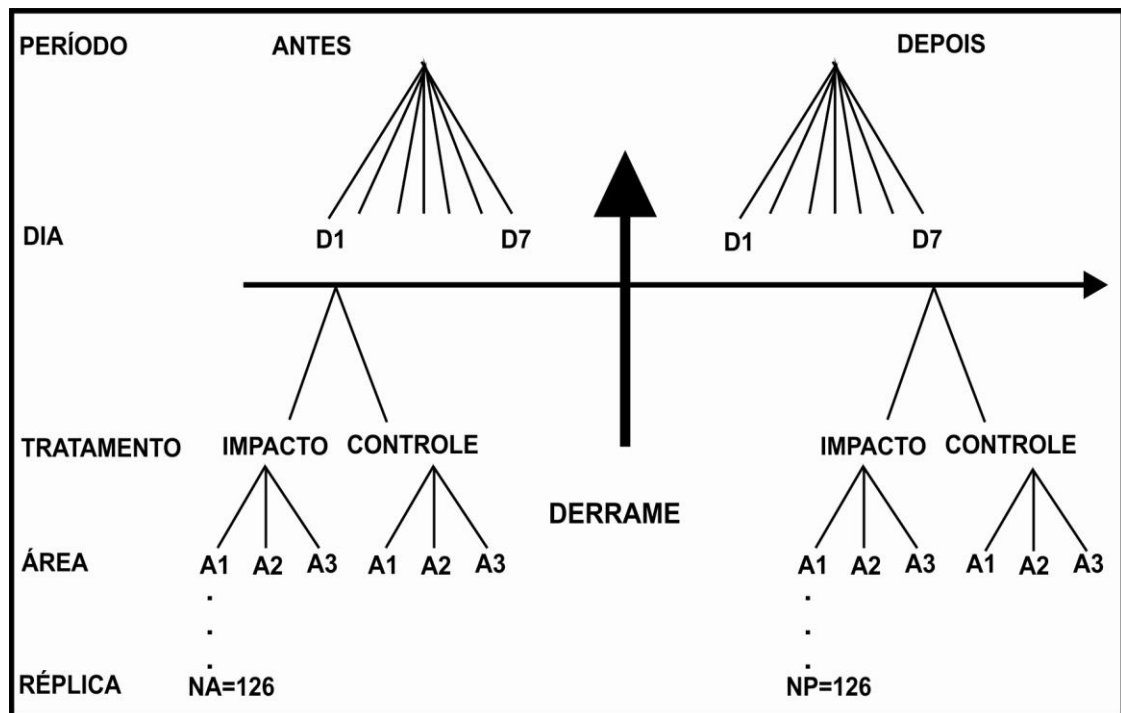
244

245 2.5. *Processamento dos dados*

246 A significância das diferenças entre tratamentos na densidade total de indivíduos (N),
247 número total de espécies (S) e a densidade das sete espécies numericamente dominantes foi
248 testada por ANOVAs, seguindo o procedimento descrito por Underwood (2000) e Downes et
249 al., (2004) para a estratégia amostral M-BACI. O modelo experimental da análise incluiu
250 quatro fatores e apresentou a seguinte estrutura: período (dois níveis, fixo e ortogonal), tempo
251 (sete níveis, fixo e aninhado em período), tratamento (dois níveis, fixo e ortogonal) e local
252 (três níveis, aleatório e aninhado em tratamento) (Fig. 2). As significâncias estatísticas das
253 ANOVA's foram construídas no *software* livre R 2.12.0.

254 Uma análise de proximidade ou escalonamento multidimensional não-métrico (n-
255 MDS) foi realizada para visualização das tendências de distribuição das associações bênticas
256 entre os tratamentos e os períodos, a partir da construção de matrizes de similaridade, usando
257 o índice de Bray-Curtis. Devido ao elevado número de réplicas amostrais, foi considerada a

258 média das três réplicas de cada tratamento antes da execução da análise de proximidade. A
 259 significância das diferenças entre tratamentos também foi testada por uma análise de variância
 260 multivariada permutacional (Anderson, 2001) com a aplicação do programa PERMANOVA,
 261 versão 1.6 (Anderson, 2005).



262
 263
 264
 265
 266
 267
 268
 269
 270
 271
 272
 273
 274
 275
 276
 277
 278
 279
 280
 281
 282
 283

Fig. 2. Desenho amostral M-BACI usado neste estudo; NA: número de réplicas antes do derrame; NP: número de réplicas pós- derrame.

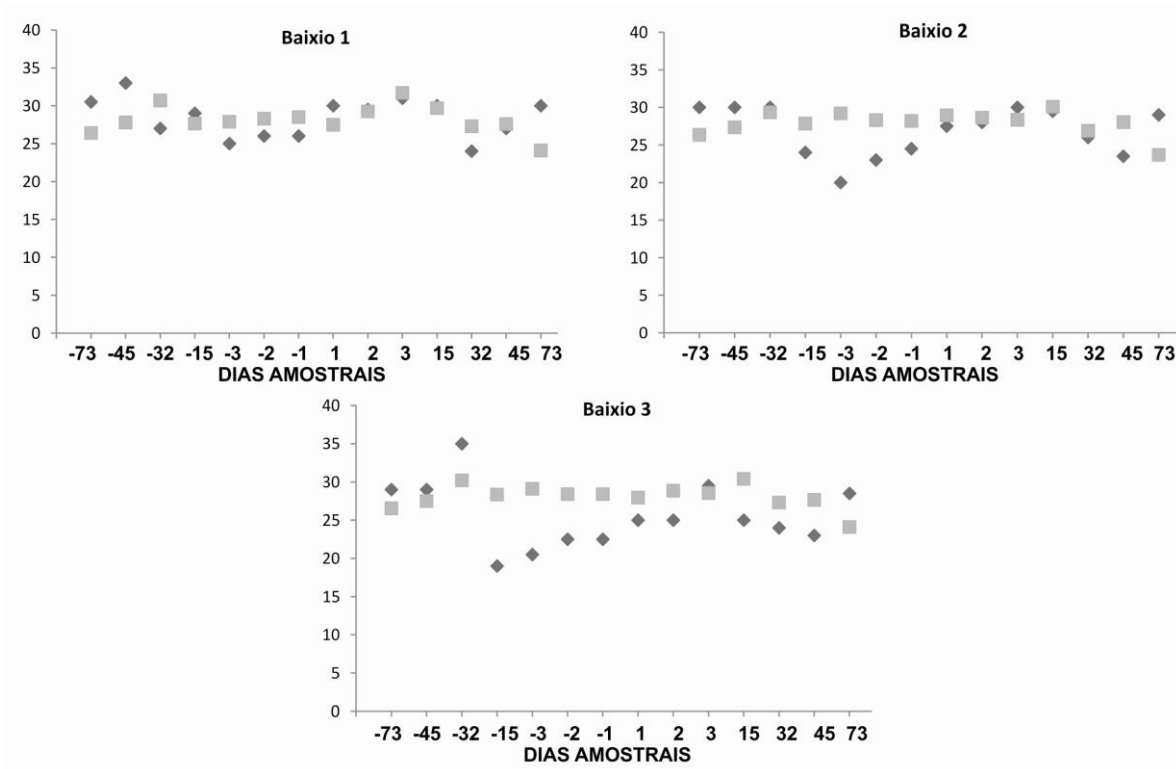
284 **3. Resultados**

285 **3.1. Parâmetros ambientais**

286 A temperatura do sedimento e a salinidade da água permaneceram relativamente
287 uniformes nas três áreas durante o período amostral. A temperatura do sedimento variou de
288 24,0 a 31,0 °C enquanto a salinidade da água variou entre 19,0 e 35,0 P.S.U. (Fig. 3).

289 Os sedimentos locais são constituídos de areias muito fina com baixo teor de matéria
290 orgânica e não sofreram maiores variações texturais, havendo pouca variação nos diversos
291 componentes da granulometria entre o primeiro e o último dia do experimento (Tabela 2).

292



293

294 **Fig. 3.** Variação da temperatura (◆) e da salinidade (■) nos baixios não vegetados durante o experimento;
295 Dias amostrais pré-impacto: (-73), (-45), (-32), (-15), (-3), (-2), (-1); Dias amostrais pós-impacto: (1), (2), (3),
296 (15), (32), (45), (73).

297
298
299
300
301
302
303
304

305 **Tabela 2**
 306 Variáveis sedimentológicas e porcentagens de matéria orgânica (M.O) no primeiro (-73) e último (73) dia de
 307 experimento.
 308

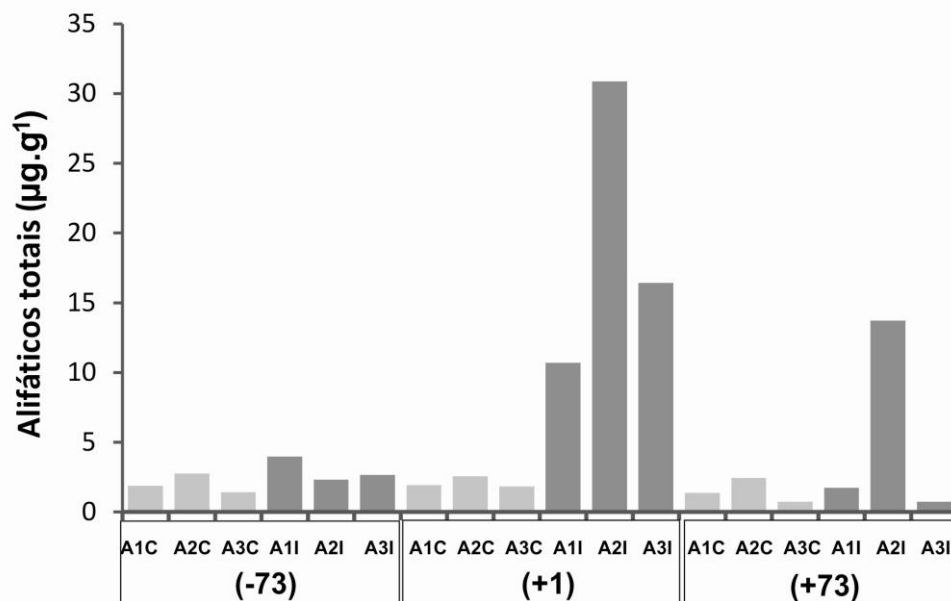
(%)	Área 1				Área 2				Área 3			
	Controle		Impacto		Controle		Impacto		Controle		Impacto	
	(-73)	(+73)	(-73)	(+73)	(-73)	(+73)	(-73)	(+73)	(-73)	(+73)	(-73)	(+73)
Areia grossa	0,0	0,0	0,0	0,0	0,1	0,1	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
Areia Média	0,2	0,2	0,1	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,1	0,0	0,0	0,0
Areia Fina	28,9	35,7	26,2	8,3	6,2	6,3	6,2	14,2	1,1	0,8	14,2	20,3
Areia Muito Fina	57,6	55,0	54,8	82,2	75,7	82,1	84,8	73,4	78,7	87,6	77,3	74,9
Silte	9,5	7,1	6,9	3,1	12,9	7,6	5,8	4,3	7,6	8,8	3,8	2,9
Argila	3,6	1,8	11,8	6,2	4,5	3,5	2,6	7,9	12,2	2,6	4,5	1,8
M.O	3,6	2,6	2,9	4,2	4,7	2,1	3,4	2,7	2,9	1,2	4,6	2,1

309

310 3.2. Hidrocarbonetos alifáticos

311 Elevadas concentrações de alifáticos totais foram registradas nos sedimentos dos
 312 tratamentos impactados um dia após adição de óleo diesel (Fig. 4). Após 73 dias, as
 313 concentrações pré-impacto foram restabelecidas, com exceção do tratamento impacto da área
 314 2, que ainda continha concentrações significativas de alifáticos totais (Fig.4). Provavelmente,
 315 os n-alcenos presentes no sedimento desta área não são mais provenientes do óleo diesel, mas
 316 de natureza biogênica (Nishigima et al, 2001). Os teores da mistura complexa não resolvida
 317 (MCNR) confirmaram a presença de hidrocarbonetos nos sedimentos um dia após o impacto
 318 agudo e a persistência na área 2 através da elevação da linha de base observado, através dos
 319 perfis cromatográficos das áreas (Fig. 5). A área 2 (Ilha Rasa) é margeada por manguezais e
 320 detritos vegetais (obs. pess.) desta forma, contribuindo para o aporte de compostos de origem
 321 terrestre.

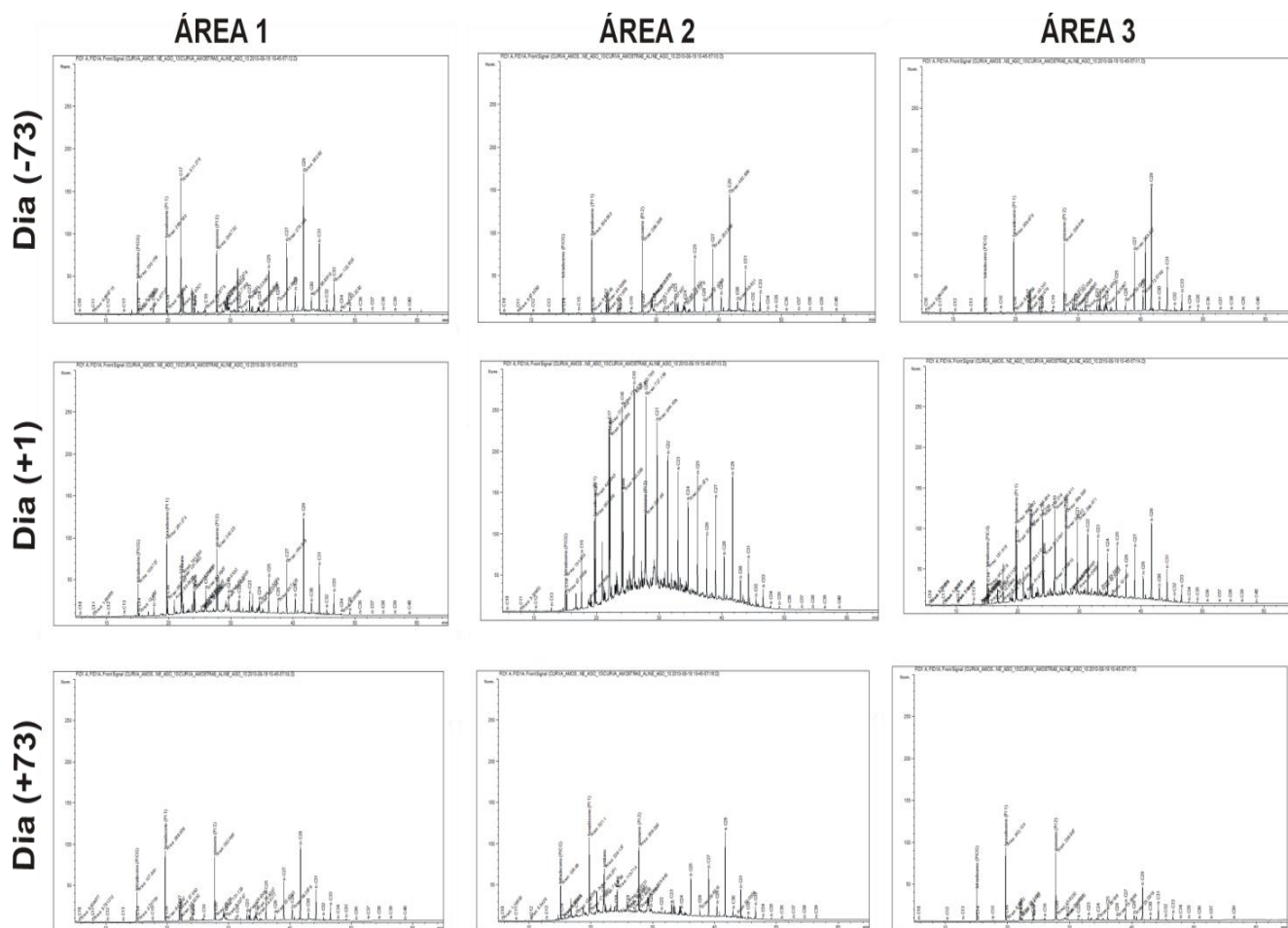
322



323

324 **Fig.4.** Concentrações de alifáticos totais ($\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$) nos tratamentos impactados (I) e controles (C) nas três áreas de
 325 estudo: A1 (Maciel); A2 (Ilha Rasa); A3 (Guaraguaçu). Amostragens: (-73), primeiro dia; (+1), um dia pós o
 326 impacto; e (+73) último dia do experimento.

327



328

329 **Fig.5.** Cromatogramas de alifáticos totais de sedimentos dos tratamentos impactados mostrando a presença de
 330 MCNR nas áreas de estudo no primeiro (-73), um dia pós-impacto (+1) e último dia (+73) do experimento.

331 3.3. Macroinvertebrados

332 Foram registrados 21 870 indivíduos pertencentes a 90 táxons ou morfotipos da
333 macrofauna bêntica distribuídos entre poliquetas (91,7%), crustáceos (6,03%), moluscos
334 (1,73%), e insetos (0,59%). Os táxons dominantes foram dois morfotipos de oligoquetas
335 (25,1%), um morfotipo de ostracoda (21,2%), os gastrópodes *Heleobia australis* (10,6%) e
336 *Bulla striata* (5,1%), os poliquetas *Glycinde multicens* (4,1%), *Mediomastus* sp. (3,7%) e
337 *Heterocamastus* sp. (3,2%) que contribuíram com 73,3% da densidade total de organismos.

338 3.4. Efeitos do derrame experimental

339 Não foram detectadas diferenças significativas na densidade total da macrofauna, no
340 número de espécies e na densidade dos táxons numericamente dominantes entre os
341 tratamentos impactos e controles antes e depois do derrame experimental (Tr*Pe, $p < 0,05$,
342 Tabela 3). No entanto, ocorreram diferenças significativas na densidade total, número de
343 espécies e nas densidades de *Glycinde multicens* e Ostracoda entre os tratamentos de tempo
344 para tempo dentro de cada período (Tr*Te(Pe), $p < 0,05$, Tabela 3). As densidades de
345 oligoquetas variaram significativamente entre os locais (i.e. baixios) dentro de cada
346 tratamento e antes e depois do derrame de óleo (Lo(Tr)*Pe $< 0,05$, Tabela 3 e Fig. 6F).

347 Os efeitos do óleo sobre as densidades de *Bulla striata*, *Heleobia australis*,
348 *Mediomastus* sp. se manifestaram na interação das menores escalas espaciais e temporais
349 analisadas, com variações ao longo do tempo de um local para outro (Lo(Tr)*Te(Pe), $p < 0,05$,
350 Tabela 3 e Figs. 6C, 6E e 6H).

351 Mortalidade em massa da macrofauna foi registrada um dia após a adição do óleo. No
352 entanto, uma rápida recuperação dos níveis populacionais pré-impacto foi observada nas
353 amostragens subsequentes (Figs. 6A-6I). Embora o poliqueta *Glycinde multicens* tenha se
354 mostrado sensível, com elevadas taxas de mortalidade após o impacto, sua densidade pré-
355 impacto foi recuperada a partir do dia 15 (Fig. 6D). O poliqueta *Heteromastus* sp. não

356 registrou variações significativas para nenhuma das interações (Tabela 3 e Fig. 6I). Houve
357 uma queda na densidade de oligoquetas logo após o impacto e uma tendência de recuperação
358 com um aumento progressivo já partir do dia 2 principalmente na área 1 (Fig. 6F).

359 A análise de similaridade apontou uma relativa similaridade das associações bênticas
360 nos tratamentos impactados e nos controles, exceto no primeiro dia após o derrame. Mais do
361 que entre tratamentos, diferenças maiores foram visualizadas na distribuição das réplicas
362 amostrais antes e depois do impacto, indicando marcada variabilidade temporal durante o
363 experimento (Fig. 7). A PERMANOVA indicou diferenças significativas na interação das
364 menores escalas espaciais e temporais (Tabela 4), indicando que as associações bênticas
365 variaram antes e depois do impacto e entre os tempos nos diferentes locais.

366 Um dia após o impacto, os poucos organismos encontrados permaneciam vivos, porém
367 em grande parte pouco ativos. Alterações comportamentais foram pouco evidentes, mas
368 poliquetas da família Capitellidae apresentaram sinais evidentes de hemólise (obs. pess.).

369

370

371

372

373

374

375

376

377

378

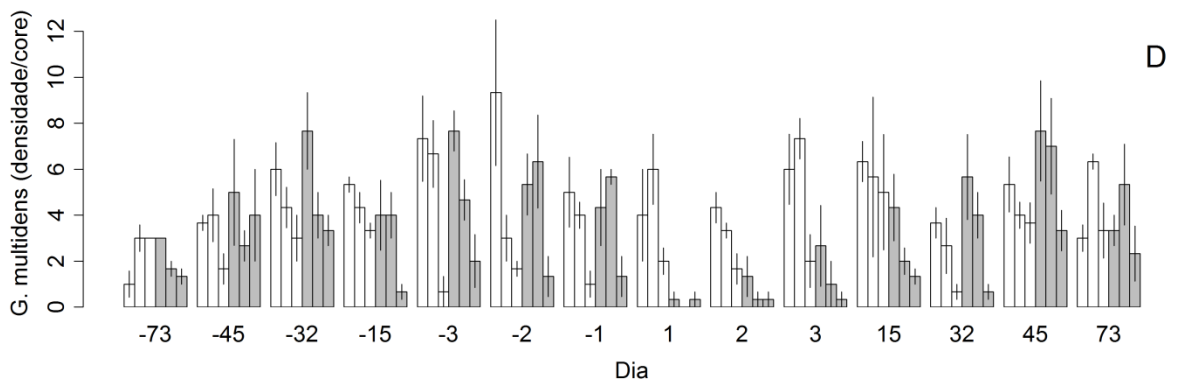
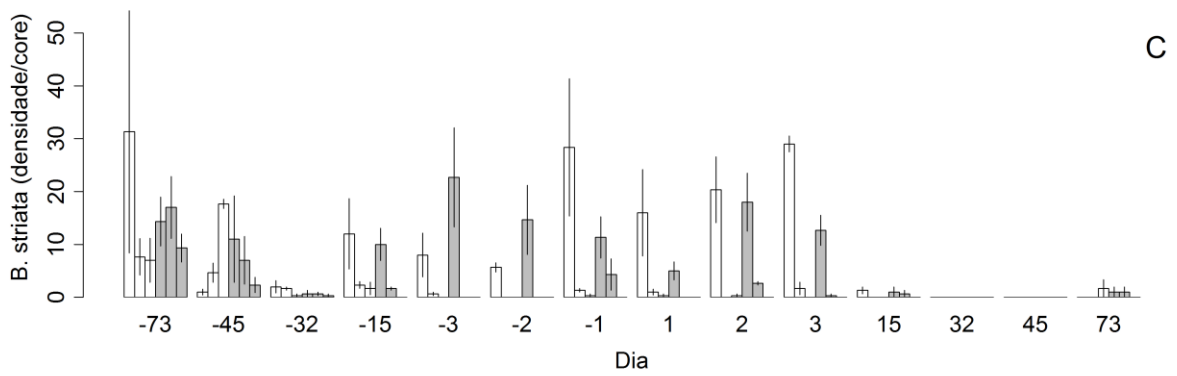
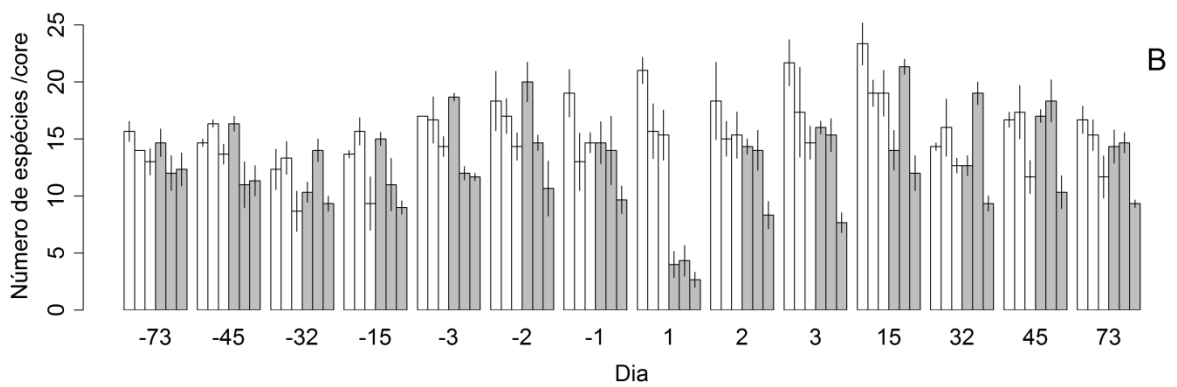
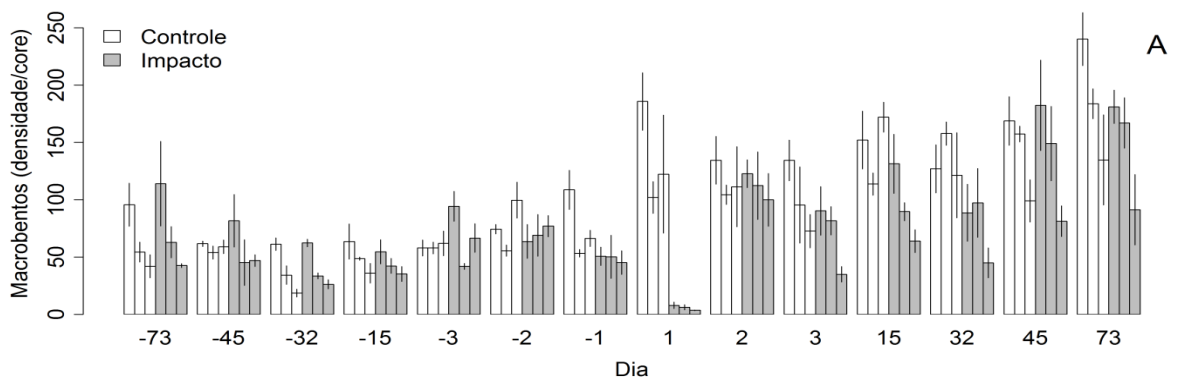
379

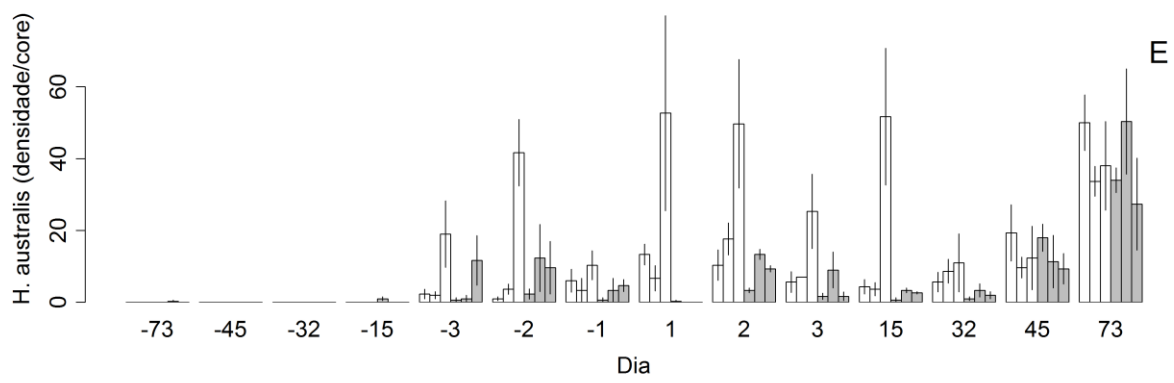
380

381 **Tabela 3**
 382 Sumário dos resultados das ANOVAs do modelo M-BACI para os descritores biológicos e para as espécies
 383 dominantes. Interações significativas ($p < 0,05$) indicadas com *.

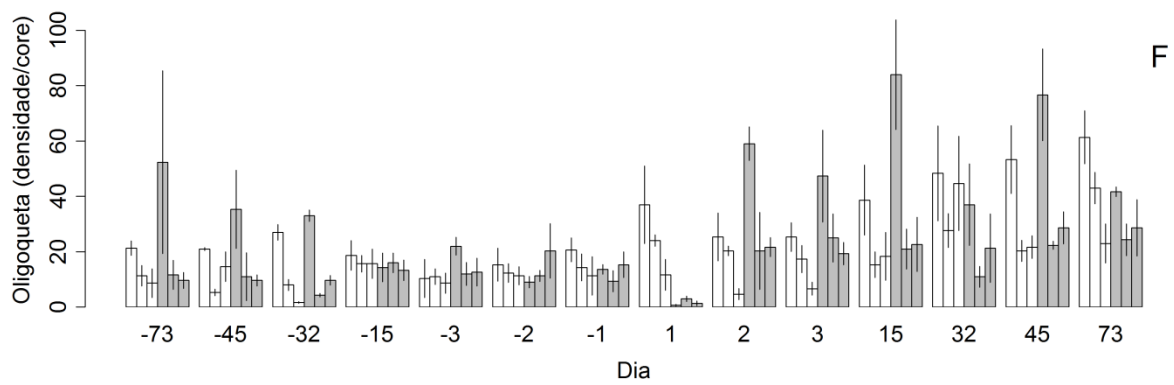
	Atributo	df	Sq médio	F valor	P valor
387	<i>N</i>				
388	Tr*Pe	1	29143,25	9,734763	0,035525
389	Tr*Te(Pe)	12	4481,411	3,48322	0,00098*
390	Lo(Tr)*Pe	4	2993,73	2,326906	0,069616
391	Lo(Tr)*Te(Pe)	48	1286,571	1,28812	0,123258
392	<i>S</i>				
393	Tr*Pe	1	114,6825	2,496545	0,189247
394	Tr*Te(Pe)	12	48,80423	4,780823	4,32E-05*
395	Lo(Tr)*Pe	4	45,93651	4,499903	0,003618
396	Lo(Tr)*Te(Pe)	48	10,20833	1,431553	0,05066
398	<i>Bulla striata</i>				
	Tr*Pe	1	18,89286	0,532193	0,506109
399	Tr*Te(Pe)	12	36,6627	0,328619	0,980103
	Lo(Tr)*Pe	4	35,5	0,318197	0,864413
400	Lo(Tr)*Te(Pe)	48	111,5661	2,45822	1,28E-05*
	<i>Glycinde multidentis</i>				
401	Tr*Pe	1	35,06349	7,33887	0,053591
	Tr*Te(Pe)	12	13,11905	2,125134	0,032665*
402	Lo(Tr)*Pe	4	4,777778	0,773945	0,547574
	Lo(Tr)*Te(Pe)	48	6,17328	1,409118	0,058649
	<i>Heleobia australis</i>				
403	Tr*Pe	1	1325,73	4,315606	0,106335
	Tr*Te(Pe)	12	185,4563	0,876424	0,575495
404	Lo(Tr)*Pe	4	307,1944	1,45173	0,231624
	Lo(Tr)*Te(Pe)	48	211,6058	1,972796	0,000838*
405	<i>Oligochaeta</i>				
	Tr*Pe	1	38,11111	0,052423	0,830129
406	Tr*Te(Pe)	12	743,5807	2,743372	0,006522
	Lo(Tr)*Pe	4	726,9921	2,682169	0,042513*
407	Lo(Tr)*Te(Pe)	48	271,0463	1,346655	0,086954
	<i>Ostracoda</i>				
408	Tr*Pe	1	8285,813	19,27058	0,011784
	Tr*Te(Pe)	12	665,4153	3,720993	0,000541*
409	Lo(Tr)*Pe	4	429,9722	2,404398	0,062513
	Lo(Tr)*Te(Pe)	48	178,8274	1,419488	0,054828
	<i>Heteromastus sp.</i>				
410	Tr*Pe	1	0,142857	0,026686	0,878157
	Tr*Te(Pe)	12	7,205026	1,674197	0,102936
411	Lo(Tr)*Pe	4	5,353175	1,243891	0,305077
	Lo(Tr)*Te(Pe)	48	4,303571	0,985909	0,507231
	<i>Mediomastus sp.</i>				
412	Tr*Pe	1	3,813492	0,23577	0,652675
413	Tr*Te(Pe)	12	13,60053	1,069538	0,405706
	Lo(Tr)*Pe	4	16,1746	1,271961	0,294061
414	Lo(Tr)*Te(Pe)	48	12,71627	1,544337	0,02341*

415

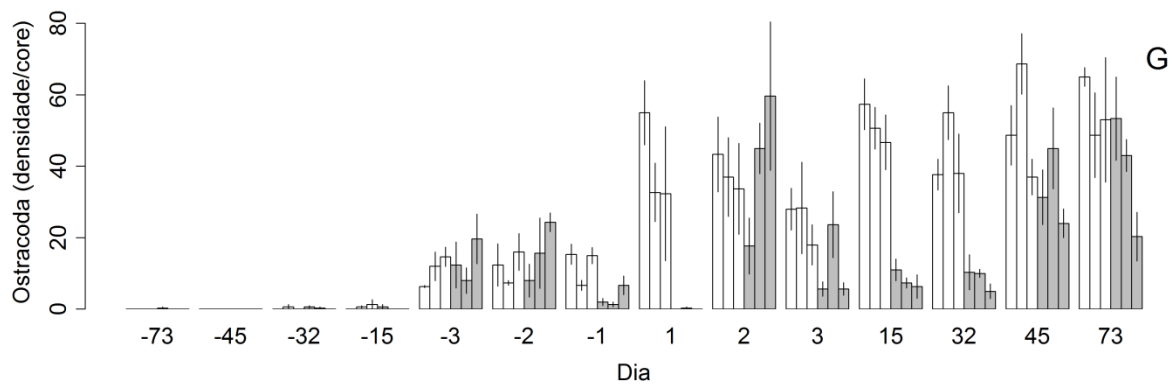




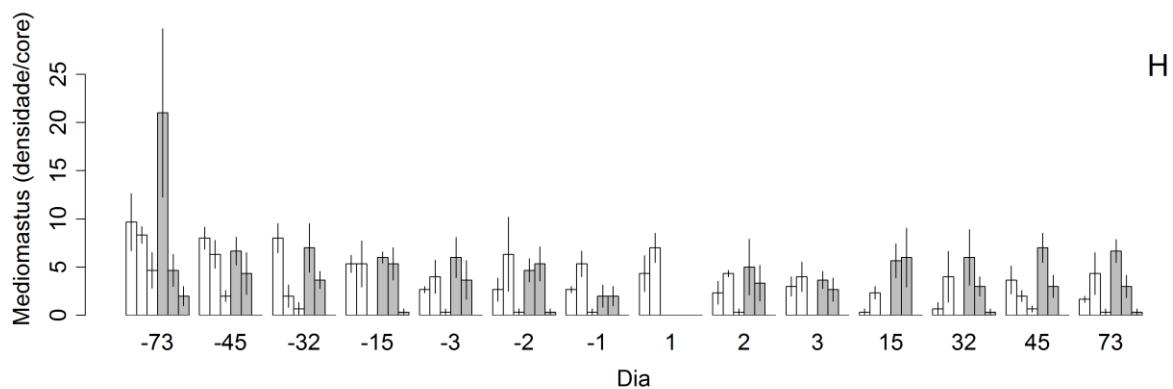
420



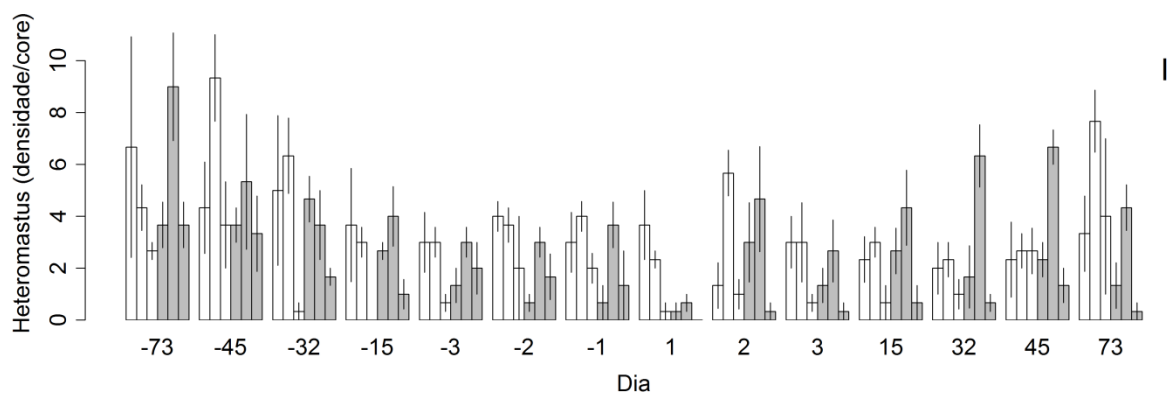
421



422

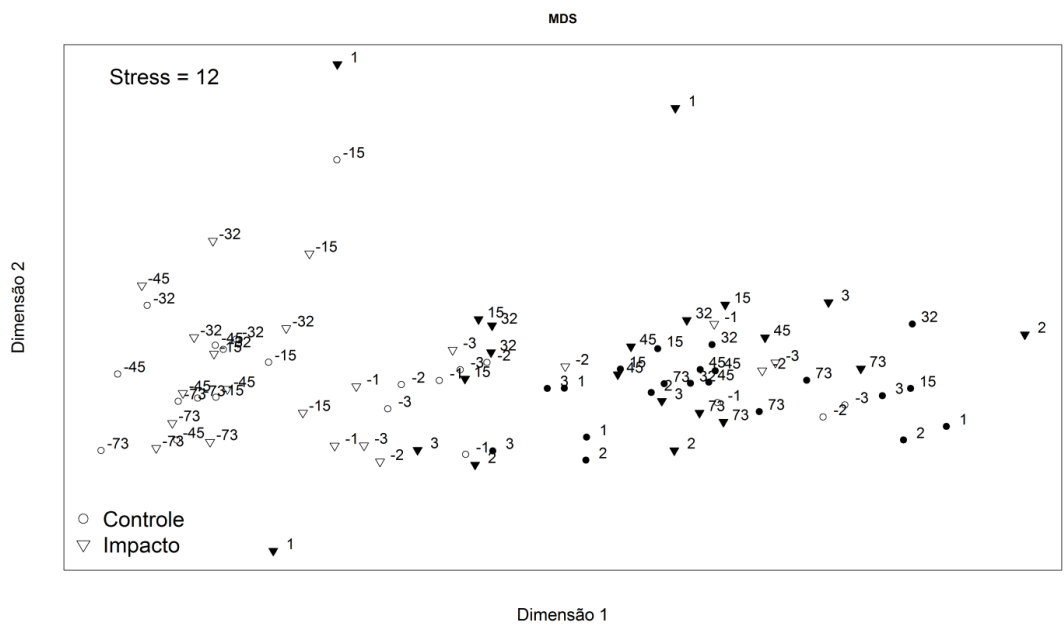


423



424

425 **Fig. 6.** Variabilidade temporal das médias de (A) densidade total, (B) número de espécies da macrofauna bêntica
 426 e densidade de (C) *Bulla striata*, (D) *Glycinde multidentis*, (E) *Heleobia australis*, (F) Oligoqueta, (G) Ostracoda ,
 427 (H) *Mediomastus* sp. e (I) *Heteromastus* sp. antes (-73, -45, -32, -15, -3, -2, -1) e após o impacto (1, 2, 3, 15, 32,
 428 45, 73) por óleo diesel nos tratamentos (impacto e controle).



429

430 **Fig. 7.** Análise de proximidade (MDS) das densidades médias da macrofauna bêntica nos tratamentos impacto e
 431 controle, antes (cor branca) e depois (cor preta) do impacto experimental.

432

433 **Tabela 4**
 434 PERMANOVA baseado nas dissimilaridades de Bray-Curtis, sem a transformação dos dados. *p*- valores foram
 435 obtidos de 9999 permutações utilizadas.
 436

	g	MQ	F	<i>p</i> (MC)
PexTr	1	2016.4709	0.7012	0.6237
PexLo(tr)	4	2875.7472	4.0654	1 0.0001
Te(Pe)xTr	12	2064.2548	1.3488	0.0723
Te(Pe)xLo(Tr)	48	1530.4526	2.1636	0.0001
Residual	168	707.3747	-	-
Total	251	-	-	-

437

438 4. Discussão

439 A abordagem experimental *in situ* permitiu o acompanhamento consistente da relação
 440 entre a presença do óleo diesel e as variações da densidade de indivíduos, número de espécies
 441 e composição do macrobentos entremarés. O modelo manipulativo M-BACI (Keough e
 442 Mapstone 1997, Underwood 2000, Downes et al., 2004) mostrou que as alterações observadas
 443 se deveram mais à variabilidade temporal natural na estrutura da comunidade bêntica do que
 444 ao impacto propriamente dito.

445 As escalas temporais adotadas em impactos planejados devem ser baseadas nas escalas
 446 em que as populações locais variam naturalmente. Caso contrário, variações nas associações
 447 macrobênticas podem eventualmente mascarar o reconhecimento adequado da variabilidade
 448 causada pela presença do óleo (Spellerberg, 2005). Neste sentido, a escala temporal de 147
 449 dias adotada no experimento incorporou processos associados à dinâmica temporal das
 450 associações. O aumento na densidade total da comunidade bêntica após a perturbação se
 451 deveu a um claro aumento nas densidades de *Heleobia australis*, oligoquetas e ostrácodes,
 452 observado tanto nos tratamentos impactos como nos controles, como claro reflexo de uma
 453 variabilidade natural e não da presença do contaminante.

454 O experimento revelou um efeito imediato do derrame de óleo sobre a macrofauna
 455 bêntica, evidenciado pela elevada mortalidade dos organismos, um dia após a contaminação.
 456 Por outro lado, a recuperação dos níveis populacionais pré-impacto foi extremamente rápida e

457 a recolonização já estava completa a partir do dia 2, evidenciado pelo elevado valor da
458 densidade total de organismos. Este padrão de resposta é definido por Glasby e Underwood
459 (2006) como uma perturbação “pulse”, ou seja, um efeito de curto prazo, com uma repentina
460 queda na densidade seguida por uma rápida recuperação na ausência de novas perturbações.

461 Padrão similar foi registrado em outros estudos experimentais., Chung et al., (2004),
462 através de mesocosmos experimentais, observaram que organismos comedores de depósitos
463 (superficiais e escavadores) diminuíram logo após o derrame de óleo. Somente após o 42º
464 dia, algumas espécies começaram a recuperar suas densidades ao mesmo nível do tratamento
465 controle. Lu & Wu (2006), registraram uma rápida recolonização em sedimentos
466 contaminados com óleo diesel. No entanto, as espécies dominantes nos primeiros cinco meses
467 eram muito distintas dos sedimentos controles. Lu (2005) encontrou uma forte correlação
468 negativa entre abundância, número de espécie e diversidade de macrobentos e a concentração
469 total de hidrocarbonetos em sedimentos de Singapura.

470 A rápida recuperação das associações bênticas após distúrbios de pequena escala é
471 reconhecida na literatura (Negrello Filho et al., 2006) e também reportada em experimentos
472 na Baía de Paranaguá (Faraco & Lana, 2003). Esta rápida recolonização tem sido associada à
473 migração dos juvenis e adultos de populações presentes no entorno do experimento (Negrello
474 Filho et al., 2006), recrutamento larval (Carman et al., 2000) e à tolerância a compostos
475 tóxicos pelas espécies recolonizadoras (Schratzberger et al., 2003). Neste trabalho, o principal
476 vetor de recolonização foi a migração ativa de adultos dos sedimentos adjacentes, pois já no
477 segundo dia após o impacto a densidade e o número de espécies começaram a aumentar.

478 Este padrão acelerado de recolonização de espécies macrobênticas entremarés em um
479 estuário subtropical está provavelmente associado à história evolutiva de adaptação a tensores
480 naturais como dessecação, elevadas temperaturas, redução de tempo de alimentação e de

481 trocas respiratórias (Bolan et al., 2004). A rápida recolonização também resulta da pequena
482 escala espacial adotada para o experimento.

483 Em geral, a macrofauna local mostrou-se resiliente a este tipo de perturbação, nas
484 escalas espaciais e temporais consideradas. A variabilidade temporal não esteve relacionada
485 com mudanças na densidade e composição de espécies tolerantes ou sensíveis, como relatado
486 em estudos similares (Chung et al., 2004; Lu & Wu, 2006), pois os táxons dominantes foram
487 praticamente os mesmos do início ao fim do experimento. No estudo realizado por Lu e Wu
488 (2006), a colonização inicial e a subsequente sucessão da comunidade bêntica foi retardada
489 nos sedimentos contaminados com óleo diesel, resultando na significativa redução na
490 abundância e no número de espécies assim como em mudanças na composição das espécies e
491 estrutura da comunidade.

492 Embora o derrame de óleo diesel não tenha causado mudanças significativas na
493 estrutura geral das associações bênticas, foram registradas variações no padrão de resposta de
494 espécies individuais. Por exemplo, o poliqueta *Glycinde multidentis* mostrou-se inicialmente
495 sensível ao óleo, com queda pronunciada das densidades populacionais após o derrame
496 experimental, seguida de recuperação aos níveis pré-perturbação somente a partir do dia 15.
497 Essa sensibilidade inicial ao óleo já foi constatado nas proximidades da área de estudo
498 (Faraco e Lana, 2003). Peso-Aguiar et al. (2000) relataram a ausência desta mesma espécie
499 em uma área contaminada adjacente a uma refinaria de óleo na Baía de Todos os Santos
500 (Bahia), sugerindo sua baixa tolerância a áreas perturbadas. Por outro lado, Venturini &
501 Tommasi (2004) observaram que *Glycinde multidentis* era numericamente dominante em
502 sedimentos com elevadas concentrações de PAHs neste mesmo estuário. Venturini et al.
503 (2008), também registraram elevadas abundâncias de *Glycinde multidentis* em locais
504 moderadamente contaminados por alifáticos totais e presença de MCNR. Apesar da
505 inconsistência destes resultados, o fato é que populações de uma mesma espécie podem

506 responder de forma distinta aos mesmos contaminantes em áreas distintas possivelmente
507 como uma resposta aos diferentes históricos de exposição à contaminação (Carman et al.,
508 2000).

509 Os dois morfotipos de oligoquetas mostraram-se tolerantes ao impacto, com o
510 aparecimento de um elevado número de indivíduos a partir do dia 2 nos tratamentos
511 impactados. Resultados similares foram reportados por Gomez Gesteira e Dauvin (2000) e
512 Ocon et al., (2008) que registraram elevadas densidades de oligoquetas e baixas densidades de
513 espécies consideradas sensíveis à contaminação em áreas afetadas por óleo

514 Estudos de campo e laboratório indicaram que ostrácodes apresentam elevada
515 sensibilidade ao óleo, expressa por altas taxas de mortalidade em sedimentos contaminados
516 (Ruiz et al., 2005). Resposta similar foi registrada por Carman et al., (2000) em um
517 microcosmo experimental, com mortalidade inicial seguida por mudança posterior na
518 estrutura trófica. No presente estudo, nenhum ostrácodo vivo foi encontrado nos tratamentos
519 impactados logo após o derrame, porém elevadas densidades já foram registradas a partir do
520 dia 2. Para os demais táxons analisados, os padrões de recolonização variaram muito e de
521 forma inconsistente entre os tratamentos, tornando difícil definir com clareza os processos
522 que efetivamente regularam a sua distribuição.

523 Fundos entremarés inconsolidados são retrabalhados por ondas e correntes,
524 aumentando a probabilidade de diluição e dispersão de contaminantes. Todos os sedimentos
525 impactados mostraram uma clara tendência de decréscimo da concentração total de
526 hidrocarbonetos alifáticos durante o experimento. A mesma tendência, atribuída a processos
527 físicos e biológicos, que contribuem para a degradação do óleo, foi relatada por Schratzberger
528 (2003), Zenetos et al., (2004), Morales-Caselles et al., (2008). Segundo Puente et al. (2009), a
529 natureza do substrato, composto de grãos finos, baixa permeabilidade e sedimento saturado,
530 impede substancialmente a penetração do óleo.

531 Ocon et al. (2008) observaram que áreas com elevada influência das marés
532 apresentavam sinais de recuperação, indicada pela presença de um elevado número de
533 organismos sensíveis. Ao final do experimento, a área 2, situada em um local menos exposto
534 e diretamente margeada por manguezais, ainda continha alifáticos totais. Apesar destas
535 diferenças ambientais e na persistência do óleo, não foram registradas variações significativas
536 da fauna entre as três áreas.

537 A abordagem experimental mostrou que os impactos de óleo diesel sobre as
538 associações macrobênticas de baixos não vegetados do Complexo estuarino da Baía de
539 Paranaguá foram pouco significativos. Variações significativas da estrutura das associações
540 locais estiveram mais relacionadas com a variabilidade temporal do que com a presença do
541 contaminante no sedimento. Contudo, deve-se considerar que os padrões e tendências de
542 variação descritas aplicam-se apenas às escalas de tempo e de espaço adotadas no
543 experimento.

544

545

546

547

548

549

550

551

552

553

554

555

556 **5. Referências bibliográficas**

557 Andersen, L.E., Melville, F., Jolley, D., 2008. An assessment of an oil spill in Gladstone,
558 Australia – Impacts on intertidal areas at one month post-spill. *Marine Pollution Bulletin*, 57,
559 607–615.

560 Anderson, M.J., 2005. Permanova: a Fortran computer program for permutational
561 multivariate analysis of variance. Department of Statistics, University of Auckland, New
562 Zealand.

563 Belan, T.A., 2003. Benthos abundance pattern and species composition in conditions of
564 pollution in Amursky Bay (the Peter the Great Bay, the Sea of Japan). *Marine Pollution*
565 *Bulletin*, 46, 1111-1119.

566 Bhattacharyya, S., Klerks, P.L., Nyman, J.A., 2003. Toxicity to freshwater organisms
567 from oils and oil spill chemical treatments in laboratory microcosms. *Environmental*
568 *Pollution*, 122, 205–215.

569 Bolam, S.G., Whomersley, P., Schratzberger, M., 2004. Macrofaunal recolonization on
570 intertidal mudflats: Effect of sediment organic and sand content. *Journal of Experimental*
571 *Marine Biology and Ecology*. 306, 157-180.

572 Carman, K.R., Fleeger, J.W., Pomarico, S.M., 2000. Does historical exposure to
573 hydrocarbon contamination alter the response of benthic communities to diesel
574 contamination? *Marine Environmental Research*. 49, 255-278.

575 Chung, I.Y., Cho, K.J., Kiyonori, H., Mukai, T., Nishijima, W., Takimoto K., Okada,
576 M., 2004. Effects of oil spill on seawater infiltration and macrobenthic community in tidal
577 flats. *Marine Pollution Bulletin*. 49, 959–963.

578 DEAN, W.E., 1974. Determination of carbonate and organic matter in calcareous
579 sediments and sediments rocks by loss of ignition: comparison with other methods. *Journal*
580 *of Sedimentary Petrology*. 44, 242-248.

581 Downes, B.J., Barmuta, L.A., Fairweather, P.G., Faith, D.P., Keough, M.J., Lake, P.S.,
582 Mapstone, B.D., Quinn, GP., 2004. Monitoring Ecological Impacts: Concepts and practice in
583 flowing Waters. Cambridge University Press. UK.

584 Edgar, G.J., Kerrison, L., Shepherd, S.A., Toral-Granda, M.V., 2003. Impacts of the
585 Jessica oil spill on intertidal and shallow subtidal plants and animals. Marine Pollution
586 Bulletin. 47, 276-283.

587 Faraco, L.F.D., Lana, P.C., 2003. Response of polychaetes to oil spills in natural and
588 defaunated subtropical mangrove sediments from Paranaguá bay (SE Brazil). Hydrobiologia.
589 496, 321-328.

590 Faraco, L.F.D., Lana, P.C., 2004. Macrobenthic recolonization processes in mangroves of
591 southern Brazil. Journal of Coastal Research. 39, 1853-1858.

592 FINGAS, M. F.. 2001. The basics of oil spill cleanup. 2 ed. Boca Raton, FL : Lewis
593 Publishers.

594 Glasby, T.M., Underwood, A.J., 1996. Sampling to differentiate between pulse and press
595 perturbations. Environmental Monitoring and Assessment. 42, 241-252.

596 Gomez Gesteira, J.L., Dauvin, J.C., 2000. Amphipods are Good Bioindicators of the
597 Impact of Oil Spills on Soft-Bottom Macrobenthic Communities. Marine Pollution Bulletin.
598 40, 1017-1027.

599 Goodsell, P.J., Underwood, A.J., Chapman, M.G., 2009. Evidence necessary for taxa to
600 be reliable indicators of environmental conditions or impacts. Marine Pollution Bulletin. 58,
601 323–331.

602 Hyland, J., Balthis, L., Karakassi, I., Magni, P., Petrov, A., Shine, J., Vestergaard, O.,
603 Warwick, R., 2005. Organic carbon content of sediments as an indicator of stress in the
604 marine benthos. Marine Ecology Progress Series. 295, 91–103.

605 Jensen, B.K., Bodennec, G., Desmarquest, J.P., 1986. Microbial changes in an intertidal
606 sediment after an experimental oil spill. *Ophelia* 26, 255-267.

607 Keough, M.J., Mapstone, B.D., 1997. Designing environmental monitoring for pulp mills
608 in Australia. *Water Science and Technology*. 35, 397–404.

609 Lana, P.C., Guiss, C., 1992. Macrofauna-plant biomass interactions in a euhaline salt
610 marsh in Paranagua Bay (Se Brazil). *Marine Ecology Progress Series*. 80, 57-64.

611 Lana, P.C., Marone, R.M.L., Machado, E.C., 2001. The subtropical estuarine complex of
612 Paranaguá Bay, Brazil. *Coastal Marine Ecosystems of Latin America*.144, 131-145.

613 Lana, P.C., 2003. As marismas da baía de Paranaguá: características gerais, modos de
614 apropriação e implicações para a legislação ambiental. *Desenvolvimento e Meio Ambiente*. 8,
615 11-23.

616 Lytle, D., Peckarsky, B., 2001. Spatial and temporal impacts of a diesel fuel spill on
617 stream invertebrates. *Freshwater Biology*. 46, 693-704.

618 Lu, L., Wu, R.S.S., 2006. A field experimental study on recolonization and succession of
619 macrobenthic infauna in defaunated sediment contaminated with petroleum hydrocarbons.
620 *Estuarine, Coastal and Shelf Science*. 68, 627-634.

621 Mantovanelli, A., Marone E., Silva, E.T., Lautert L.F., Klingenfuss, M.S., Prata Jr, V.P.,
622 Noernberg, M.A., Knoppers, B.A., Angulo, R.J., 2004. Combined tidal velocity and duration
623 asymmetries as a determinant of water transport and residual flow in Paranagua´ Bay estuary.
624 *Estuarine, Coastal and Shelf Science* . 59, 523-537.

625 Martins, C.C., Bicego, M.C., Taniguchi, S., Montone, R.C., 2004. Aliphatic and
626 polycyclic aromatic hydrocarbons in surface sediments of Admiralty Bay, King George Island,
627 Antarctica. *Antarctic Science*. 16,117-122.

628 Martins, C.C., Braun, J.A.F., Seyffert, B.H., Machado, E.C., Filmann, G., 2010.
629 Anthropogenic organic matter inputs indicated by sedimentary fecal steroids in a large South

630 American tropical estuary (Paranaguá estuarine system, Brazil). *Marine Pollution Bulletin*.
631 60, 2137-2146. .

632 Mazurek, M., Simoneit, B.R.T., 1983. Characterization of biogenic and petroleum
633 derived organic matter in aerosols, over remote, rural and urban areas. In: L. H. Keith
634 (Editor), *Identification and Analysis of Organic Pollutants in Air*. Ann Arbor Science
635 /Butterworth, Woburn, MA, 353-370.

636 Morales-Caselles, C., Kalman, J., Micaelo, C., Ferreira, A.M., Vale, C., Riba, I.,
637 DelValls, T.A., 2008. Sediment contamination, bioavailability and toxicity of sediments
638 affected by an acute oil spill: Four years after the sinking of the tanker Prestige (2002).
639 *Chemosphere*. 71, 1207–1213.

640 Morales-Caselles, C., Martín-Díaz, M.L., Riba, I., Sarasquete, C., DelValls, A.T., 2008.
641 Sublethal responses in caged organisms exposed to sediments affected by oil spills. *Marine*
642 *Pollution Bulletin*. 72, 819–825.

643 Netto, S.A., Lana, P.C., 1994. Effects of sediment disturbance on the structure of benthic
644 fauna in a subtropical tidal creek of southeastern Brazil. *Marine Ecology Progress Series*. 106,
645 239-247.

646 Negrello Filho, O.A., Underwood, A.J., Chapman, M.G., 2006. Recolonization of
647 infauna on a tidal flat: An experimental analysis of modes of dispersal. *Journal of*
648 *Experimental Marine Biology and Ecology*. 328, 240– 250.

649 Noernberg, M. A.; Lana, P.C. 2003. A sensibilidade de manguezais e marismas a
650 impactos por óleo: fato ou mito? Uma ferramenta para a avaliação da vulnerabilidade de
651 sistemas costeiros a derrames de óleo. *Geographares*. 3, 108-122.

652 Ocon, C.S., Capítulo, A., Paggi, A.C., 2008. Evaluation of zoobenthic assemblages and
653 recovery following petroleum spill in a coastal area of Rio de la Plata estuarine system, South
654 America. *Environmental Pollution*. 156, 82-89.

655 Poulton, B.C., Finger, S.E., Humphrey, S.A., 1997. Effects of a Crude Oil Spill on the
656 Benthic Invertebrate Community in the Gasconade River, Missouri. *Environmental*
657 *Contamination and Toxicology*. 33. 268-276.

658 Peso-Aguiar, M.C., Smith, D.H., Assis, R.C.F., Santa-Isabel, LM, Peixinho, S., Gouveia,
659 E.P., Almeida, T.C.A., Andrade, W.S., Carqueija, C.R.G., Kelmo, F., Carrozo, G., Rodrigues,
660 C.V., Carvalho, G.C., Jesus, A.C.S., 2000. Effects of petroleum and its derivatives in benthic
661 communities at Baía de Todos os Santos/Todos os Santos Bay, Bahia, Brazil. *Aquatic*
662 *Ecosystem Health*. 3, 459-470.

663 Puente, A., Juanes, J.A., Caldéron, G., Echavarrri-Erasun, B., García, A., García-
664 Castrilho, G., 2009. Medium-term assessment of the effects of the Prestige oil spill on
665 estuarine benthic communities in Cantabria (Northern Spain, Bay of Biscay). *Marine*
666 *Pollution Bulletin*. 58,487-495.

667 Readman, J.W., Fillmann, G., Tolosa, I., Bartocci, J., Villeneuve, J.P., Catinni, C., Mee,
668 L.D., 2002. Petroleum and PAH contamination of the Black Sea. *Marine Pollution Bulletin*.
669 44, 48-62.

670 Ruiz, F., Abad, M., Bodergat, A.M., Carbonel, P., Rodríguez-Lázaro, J., Yasuhara, M.,
671 2005. Marine and brackish-water ostracods as sentinels of anthropogenic impacts. *Earth-*
672 *Science Reviews*. 72, 89-101.

673 Sanders, H.L., Grassle, J.F., Hampson, G.R., Morse, L.S., Garner_Price, S., Jones, C.C.,
674 1980. Anatomy of an oil spill: long-term effects from the barge Florida off West Falmouth,
675 Massachusetts. *Journal of Marine Research*. 38, 265-381.

676 Sanz-Lázaro, C., Marín, A., 2009. A manipulative field experiment to evaluate an
677 integrative methodology for assessing sediment pollution in estuarine ecosystems. *Science of*
678 *the Total Environment* .407, 3510–3517.

679 Santos, D.M., Araújo, I.P., Machado, E.C., Carvalho-Filho, M.A.S., Fernandez, M.A.,
680 Marchi, M.R.R., Godoi, A.F.L., 2009. Organotin compounds in the Paranaguá Estuarine
681 Complex, Paraná, Brazil: Evaluation of biological effects, surface sediment, and suspended
682 particulate matter. *Marine Pollution Bulletin*. 58, 1922–1952.

683 Schratzberger, M., Fabien, D., Wall, C.M., Kilbride, R., Macnaughton, S.J., Boyd, S.E.,
684 Rees, H.L., Lee, K., Swannell, R.P.J., 2003. Response of estuarine meio- and macrofauna to
685 in situ bioremediation of oil-contaminated sediment. *Marine Pollution Bulletin*. 46 , 430–443.

686 Sibley, P.K., Benoit, D.A., Balcer, M.D., Phipps, G.L., West, C.W., Hoke, R.A., Ankley,
687 G.T., 1999. In situ bioassay chamber for assessment of sediment toxicity and bioaccumulation
688 using benthic invertebrates. *Environmental Toxicology and Chemistry*. 18, 23-25.

689 Suguio, K. 1973. *Introdução à sedimentologia*. Universidade de São Paulo.1.

690 Underwood, A.J., 2000. Importance of experimental design in detecting and measuring
691 stresses in marine populations. *Journal of Aquatic Ecosystem Stress and Recovery*. 7, 3-24.

692 UNEP (United Environment Programme). 1991. *Determinations of petroleum*
693 *hydrocarbons in sediments, reference methods for marine pollution studies*. 97p.

694 Zenetos, A., Hatzianestis, J., Lantzouni, M., Simboura, M., Sklivagou, E., Arvanitakis,
695 G., 2004. The Eurobulker oil spill: mid-term changes of some ecosystem indicators. *Marine*
696 *Pollution Bulletin*. 48, 122–131.

697

698

699

700

701

702

703

Tabela 1- Lista dos 90 táxons identificados

No.	Grupo taxonômico	No.	Grupo taxonômico
	Crustacea		Polychaeta
1	<i>Alpheus heterochaelis</i>	44	<i>Alitta succinea</i>
2	Amphipoda sp.1	45	<i>Aricidea catherinae</i>
3	Amphipoda sp.2	46	<i>Aricidea taylori</i>
4	Amphipoda sp.3	47	<i>Capitella</i> sp.
5	Amphipoda sp.4	48	<i>Ceratocephale minyami</i>
6	<i>Caprella</i> sp.	49	<i>Ceratonereis longicirrata</i>
7	<i>Callinectes</i> sp.	50	<i>Clymenella dalesi</i>
8	Cumacea	51	<i>Diopatra dextrognatha</i>
9	Euphasiacea	52	<i>Dorvillea articulata</i>
10	<i>Eurytium limosum</i>	53	<i>Eunoe serrata</i>
11	Gammaridae	54	<i>Exogone</i> sp.
12	<i>Monocorophium acherusicum</i>	55	<i>Gyptis</i> sp.
13	Ostracoda	56	<i>Glycinde multidentis</i>
14	<i>Ogyrides</i> sp.	57	<i>Heteromastus</i> sp.
15	<i>Pleoticus mulleri</i>	58	<i>Hesione</i> sp.
	Mollusca	59	<i>Hypereteone alba</i>
16	<i>Acteocina</i> sp.	60	<i>Isolda pulchella</i>
17	<i>Anomalocardia brasiliiana</i>	61	<i>Laeonerieis culveri</i>
18	<i>Bulla striata</i>	62	<i>Loandalia tricuspis</i>
19	Cephalospidae	63	<i>Magelona papillicornis</i>
20	<i>Heleobia australis</i>	64	<i>Mediomastus</i> sp.
21	<i>Lucina pectinata</i>	65	<i>Ninoe</i> sp.
22	<i>Macoma uruguayensis</i>	66	<i>Neanthes bruaca</i>
23	<i>Macoma constricta</i>	67	<i>Odontosyllis hetero-falcheta</i>
24	<i>Melanella</i> sp.	68	<i>Paranaitis</i> sp.1
25	<i>Mytella guyanensis</i>	69	
26	<i>Mytella</i> sp.	70	<i>Prionospio cirrifera</i>
27	<i>Nucula semiornata</i>	71	<i>Paraprionospio pinnata</i>
28	<i>Sphenia</i> sp.	72	<i>Paraprionospio steenstrupi</i>
29	<i>Tagelus divisus</i>	73	<i>Prionospio heterobranchia</i>
30	<i>Tagelus plebeius</i>	74	<i>Phyllodoce</i> sp.1
31	<i>Tagelus</i> sp.	75	<i>Polydora socialis</i>
32	<i>Tellina versicolor</i>	76	<i>Scoloplos capensis</i>
33	<i>Tellina lineata</i>	77	<i>Scoloplos ohlini</i>
34	Tellinidae	78	<i>Scoloplos rubra</i>
35	<i>Tellina</i> sp.	79	<i>Sigambra grubei</i>
36	Bivalves não identificados	80	<i>Sigambra tentaculata</i>
37	<i>Steliger tallis</i>	81	<i>Spirographis</i> sp.
38	Echiura	82	<i>Spiophanes duplex</i>
	Chordata	83	<i>Sthenelais lamacula</i>
39	<i>Branchiostoma caribaeum</i>	84	<i>Streblospio benedicti</i>
	Insecta	85	<i>Syllis</i> sp.
40	Insecta	86	
	Ceratopogonidae	87	<i>Terebellides anguicomus</i>
41	Ophichtus sp.	88	Nemertinea
42	Turbellaria		Oligochaeta
43	Sipuncula	89	Echinodermata
		90	Ophiuroidea
			<i>Edwardsia fusca</i>

Anexo 2. Licença emitida pelo IBAMA para a realização do derrame experimental



Ministério do Meio Ambiente - MMA

Instituto Brasileiro do Meio Ambiente e dos Recursos Naturais Renováveis - IBAMA

Instituto Chico Mendes de Conservação da Biodiversidade - ICMBio

Sistema de Autorização e Informação em Biodiversidade - SISBIO

Autorização para atividades com finalidade científica

Número: 20000-1	Data da Emissão: 15/07/2009 16:31	Data de Validade: 15/07/2010
Dados do titular		
Registro no Ibama: 4061061	Nome: Aline Gonzalez Egres	CPF: 025.216.949-24
Título do Projeto: Avaliação experimental dos efeitos do óleo diesel sobre a macrofauna bentica no entre-marés da Baía de Paranaguá		
Nome da Instituição : UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ		CNPJ: 75.095.679/0001-49

Observações, ressalvas e condicionantes

1	As atividades de campo exercidas por pessoa natural ou jurídica estrangeira, em todo o território nacional, que impliquem o deslocamento de recursos humanos e materiais, tendo por objeto coletar dados, materiais, espécimes biológicos e minerais, peças integrantes da cultura nativa e cultura popular, presente e passa da, obtidos por meio de recursos e técnicas que se destinem ao estudo, à difusão ou à pesquisa, estão sujeitas a autorização do Ministério de Ciência e Tecnologia.
2	Esta autorização não exige o titular e a sua equipe da necessidade de obter as anuências previstas em outros instrumentos legais, bem como do consentimento do responsável pela área, pública ou privada, onde será realizada a atividade.
3	Esta autorização não poderá ser utilizada para fins comerciais, industriais, esportivos ou para realização de atividades inerentes ao processo de licenciamento ambiental de empreendimentos. O material biológico coletado deverá ser utilizado para atividades científicas ou didáticas no âmbito do ensino superior.
4	A autorização para envio ao exterior de material biológico não consignado deverá ser requerida por meio do endereço eletrônico www.ibama.gov.br (Serviços on-line - Licença para importação ou exportação de flora e fauna - CITES e não CITES). Em caso de material consignado, consulte www.ibama.gov.br/sisbio - menu Exportação.
5	O titular de licença ou autorização e os membros da sua equipe deverão optar por métodos de coleta e instrumentos de captura direcionados, sempre que possível, ao grupo taxonômico de interesse, evitando a morte ou dano significativo a outros grupos; e empregar esforço de coleta ou captura que não comprometa a viabilidade de populações do grupo taxonômico de interesse em condição in situ.
6	Este documento não dispensa o cumprimento da legislação que dispõe sobre acesso a componente do patrimônio genético existente no território nacional, na plataforma continental e na zona econômica exclusiva, ou ao conhecimento tradicional associado ao patrimônio genético, para fins de pesquisa científica, bioprospeção e desenvolvimento tecnológico.
7	Em caso de pesquisa em Unidade de Conservação Federal, o pesquisador titular deverá contactar a administração dessa unidade a fim de CONFIRMAR AS DATAS das expedições, as condições para realização das coletas e de uso da infra-estrutura da unidade.
8	As atividades contempladas nesta autorização NÃO abrangem espécies brasileiras constante de listas oficiais (de abrangência nacional, estadual ou municipal) de espécies ameaçadas de extinção, sobreexplotadas ou ameaçadas de sobreexplotação.

Locais onde as atividades de campo serão executadas

#	Município	UF	Descrição do local	Tipo
1		PR	BaA-a de Paranaguá ₁	Fora de UC

Atividades X Táxons

#	Atividade	Táxons
1	Coleta/transporte de espécimes da fauna silvestre in situ	Cnidaria (*Qtde: 10), Nemertea (*Qtde: 10), Bivalvia (*Qtde: 100), Polychaeta (*Qtde: 1000), Malacostraca (*Qtde: 100), Maxillopoda (*Qtde: 100), Gastropoda (*Qtde: 100)

* Qtde. de indivíduos por espécie/localidade/unidade de conservação, a serem coletados durante um ano.

Material e métodos

1	Método de captura/coleta (Invertebrados Aquáticos)	Coleta manual
---	--	---------------

Destino do material biológico coletado

#	Nome local destino	Tipo Destino
1	UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ	criadouro científico

Este documento (Autorização para atividades com finalidade científica) foi expedido com base na Instrução Normativa Ibama nº154/2007. Através do código de autenticação abaixo, qualquer cidadão poderá verificar a autenticidade ou regularidade deste documento, por meio da página do Ibama/Sisbio na internet (www.ibama.gov.br/sisbio).

Código de autenticação: 79632483



Página 1/2