

UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ

ELIANDRO RONAEL GILBERT

**EFEITOS DO ÓLEO DIESEL SOBRE ASSOCIAÇÕES MACROBÊNTICAS:
UMA ABORDAGEM EM LABORATÓRIO**

PONTAL DO PARANÁ

2012

ELIANDRO RONAEL GILBERT

**EFEITOS DO ÓLEO DIESEL SOBRE ASSOCIAÇÕES MACROBÊNTICAS:
UMA ABORDAGEM EM LABORATÓRIO**

Monografia apresentada como requisito parcial para obtenção do grau de bacharel em Oceanografia do Curso de Oceanografia, Setor de Ciências da Terra da Universidade Federal do Paraná.

Orientador: Prof. Dr. Maurício Garcia de Camargo.

PONTAL DO PARANÁ

2012

CATALOGAÇÃO NA FONTE:
UFPR / SIBI - Biblioteca do Centro de Estudos do Mar

G372e Gilbert, Eliandro Ronael
Efeitos do óleo diesel sobre associações macrobênticas: uma abordagem em
laboratório. / Eliandro Ronael Gilbert. – Pontal do Paraná, 2012.
52 f.; 29 cm.

Orientador: Dr. Maurício Garcia de Camargo

Monografia (Graduação) – Curso de Oceanografia, Centro de Estudos do Mar, Setor
de Ciências da Terra, Universidade Federal do Paraná.

1. Impacto ambiental. 2. Bentos - macrofauna. 3. Oleo Diesel. I. Título.
II. Maurício Garcia de Camargo. III. Universidade Federal do Paraná.

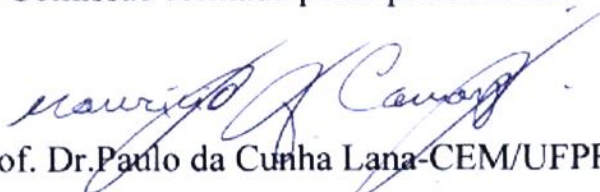
CDD 333.7

TERMO DE APROVAÇÃO

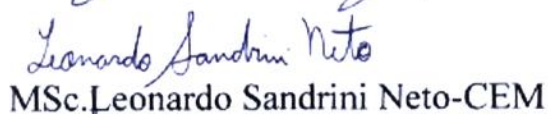
Eliandro Ronael Gilbert

“Efeitos do óleo diesel sobre associações macrobênticas: uma abordagem em laboratório.”

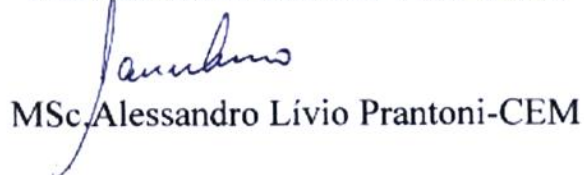
Monografia aprovada como requisito parcial para a obtenção do grau de Bacharel em Oceanografia, da Universidade Federal do Paraná, pela Comissão formada pelos professores:



Prof. Dr. Paulo da Cunha Lana-CEM/UFPR



MSc. Leonardo Sandrini Neto-CEM



MSc. Alessandro Lívio Prantoni-CEM



Prof. Dr. Maurício Garcia de Camargo-CEM/UFPR
Presidente

Pontal do Paraná, 04 de dezembro de 2012.

AGRADECIMENTOS

À minha família, pelo apoio irrestrito ao longo de todo o curso.

Ao meu orientador, o Prof. Dr. Maurício Garcia de Camargo, pela orientação, liberdade e suporte em todos os aspectos.

Ao Prof. Dr. César de Castro Martins, por ter aceitado analisar minhas amostras de hidrocarbonetos aos 45 do segundo tempo. À Prof. Dra. Eunice da Costa Machado, pela ajuda e paciência com as amostras de nutrientes.

A todos os funcionários do CEM, em especial ao Abraão, sempre otimista e disposto a ajudar.

À Transpetro de Paranaguá, em especial à Suelen Rufino Abdo, pelo fornecimento da amostra de óleo diesel para a execução deste trabalho.

À Paranaguá Pilots e à Associação Atlantis, pelo suporte financeiro.

Ao pessoal do laboratório, sempre pacientes esperando o dia em que eu desocupasse mais da metade do espaço com meus aquários, aeradores, vidros, etc. acreditando na minha promessa de que “ia ser rápido”.

À Fernanda, por ter sido minha companheira inseparável desde o primeiro ano, sempre me apoiando, mesmo se eu estivesse fazendo besteira.

À Ana Lúcia, por largar tudo e me ajudar a processar as amostras de hidrocarbonetos, e responder todas as perguntas bestas que eu fazia. À Luana Mocelin, pela ajuda com os nutrientes. Ao Mihael e Felipe (Pira), pelos cafés e cervejas em momentos essenciais. Ao Rafael, sempre disposto a fazer um frete ou ir a uma coleta, desde que tenha uma cervejada ou churrasco depois!

RESUMO

Derrames de petróleo estão entre as principais fontes de contaminação orgânica nas zonas costeiras, podendo causar efeitos negativos sobre a biota em seus diferentes níveis de organização. Este estudo avaliou em laboratório os efeitos de um derrame de óleo diesel sobre a estrutura de associações macrofaunais, analisando a mortalidade da fauna em diferentes concentrações de óleo diesel ao longo do tempo e identificando espécies particularmente tolerantes ou sensíveis ao contaminante. Para isso, associações macrobênticas coletadas em campo foram mantidas em laboratório e submetidas a diferentes concentrações de óleo diesel marítimo. Foram utilizadas concentrações relativas de 0,5 e 1 litro de óleo por metro quadrado e a mortalidade da fauna foi avaliada 01, 07 e 14 dias após a exposição aguda. As concentrações de hidrocarbonetos alifáticos totais foram $992 \mu\text{g.g}^{-1}$, no tratamento de baixa concentração, e $1.944 \mu\text{g.g}^{-1}$ no tratamento de alta concentração. As concentrações de hidrocarbonetos policíclicos aromáticos totais foram $26,6 \mu\text{g.g}^{-1}$ no tratamento de baixa concentração, e $48,50 \mu\text{g.g}^{-1}$ no tratamento de alta concentração. O experimento demonstrou que a exposição ao óleo diesel causou modificações na estrutura das associações macrobênticas. O tempo de exposição intensificou os efeitos do contaminante, levando à redução da densidade, riqueza de espécies e diversidade nos tratamentos que receberam adição de óleo. Os organismos mais afetados foram *Anomalocardia brasiliana*, *Macoma constricta*, *Sphenia fragilis*, *Bulla striata*, *Glycinde multidentis*, *Laeonereis culveri* e Syllidae. Capitellidae, *Prionospio steenstrupi* e o gênero de oligoqueta *Tectidrilus* apresentaram tolerância ao tratamento de baixa concentração. *Sigambra* sp. e os demais oligoquetas Tubificinae não foram afetados pela exposição ao óleo diesel nas concentrações adotadas no experimento.

Palavras-chave: Impacto ambiental; Óleo diesel; Macrofauna bêntica; Experimento em laboratório; Hidrocarbonetos alifáticos; Hidrocarbonetos policíclicos aromáticos.

ABSTRACT

Oil spills are among the main sources of organic contaminations on coastal environments, causing adverse effects at different levels of biological organization. This study aims to evaluate in a laboratory bioassay the effects of an oil spill on the macrobenthic structure, analyzing faunal mortality at different concentrations along time and identifying species particularly sensitive or tolerant to the exposure. For that, a laboratory bioassay was designed testing the effects of different concentrations of diesel oil on benthic macrofaunal associations. Concentrations of 0.5 and 1 liter of oil per square meter were used and the mortality was assessed 01, 07 and 14 days after the bioassay start. Total aliphatic hydrocarbons were $992 \mu\text{g.g}^{-1}$ on low concentration treatment and $1944 \mu\text{g.g}^{-1}$ on high concentration treatment. Total polycyclic aromatic hydrocarbons were $26.6 \mu\text{g.g}^{-1}$ on low concentration treatment and $48.5 \mu\text{g.g}^{-1}$ on high concentration treatment. The bioassay revealed that diesel oil changed the structure of the macrobenthic associations. The exposure time intensified the effects, leading to reduction on density, species richness and diversity in oil treatments. The most affected organisms were *Anomalocardia brasiliiana*, *Macoma constricta*, *Sphenia fragilis*, *Bulla striata*, *Glycinde multidentis*, *Laeonereis culveri* and Syllidae. Capitellidae, *Prionospio steenstrupi* and the oligochaete *Tectidrilus* sp. showed tolerance to low concentration treatment. *Sigambra* sp. and the remaining Tubificinae oligochaetes were not affected by oil exposure at the concentrations used on this study.

Key-words: Environmental impact; Diesel oil; Benthic macrofauna; Laboratory bioassay; Aliphatic hydrocarbons; Polycyclic aromatic hydrocarbons.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1: Complexo Estuarino de Paranaguá. Em destaque o sub-estuário da Cotinga e o Baixio dos Papagaios.....	15
Figura 2: Imagens registradas no momento da coleta.	16
Figura 3: Frascos tampados, recebendo aeração individual e parcialmente submersos em água.	17
Figura 4: A: Detalhe do óleo diesel e pipeta dosadora utilizada no experimento. B: Frasco sem água, após ser impactado com óleo.....	18
Figura 5: A e B: Poliquetas fora dos sedimentos no tratamento de alta concentração 01 dia após a exposição ao óleo.....	25
Figura 6: Vista de cima e de perfil dos frascos 01 dia após a exposição ao óleo. A: Controle; B: Baixa Concentração; C: Alta Concentração.	25
Figura 7: Vista de cima e de perfil dos frascos 07 dias após a exposição ao óleo. A: Controle; B: Baixa Concentração; C: Alta Concentração. ..	26
Figura 8: Vista de cima e de perfil dos frascos 14 dias após a exposição ao óleo. A: Controle; B: Baixa Concentração; C: Alta Concentração. ..	26
Figura 9: : Concentrações de HA Totais e HPA Totais entre tratamentos ao longo dos três tempos de amostragem.	29
Figura 10: Densidade total, riqueza de espécies e diversidade H' encontrada em campo e nos tratamentos experimentais.	31
Figura 11: nMDS mostrando a separação de grupos formados pelos tratamentos ao longo do estudo.	33
Figura 12: Densidades médias de Tubificinae, <i>Sigambra</i> sp. e <i>H. australis</i> encontradas em campo e nos tratamentos experimentais..	35
Figura 13: Densidades médias de <i>A. brasiliiana</i> , <i>S. fragilis</i> , <i>M. constricta</i> , <i>B. striata</i> e <i>L. culveri</i> encontradas em campo e nos tratamentos experimentais.	38
Figura 14: Densidades médias de <i>Tectidrilus</i> sp., Capitellidae e <i>P. steenstrupi</i> encontradas em campo e nos tratamentos experimentais.	40

LISTA DE TABELAS

Tabela 1: Concentrações estabelecidas para HPAs Totais em diretrizes de qualidades de sedimentos (<i>Sediments Quality Guidelines – SQL</i>) para águas costeiras e marinhas.....	23
Tabela 2: Concentrações de Hidrocarbonetos Alifáticos ($\mu\text{g.g}^{-1}$) nos sedimentos superficiais coletados no campo e ao longo do estudo.	27
Tabela 3: Concentrações de Hidrocarbonetos Policíclicos Aromáticos ($\mu\text{g.g}^{-1}$) nos sedimentos superficiais coletados no campo e ao longo do estudo.....	288
Tabela 4: Teores de Carbono Orgânico Total (COT), Nitrogênio Total (NT), Fósforo Total (PT) e Matéria Orgânica (MO) nos sedimentos superficiais coletados no campo e ao longo do estudo. Todos os descritores estão em porcentagem.	30
Tabela 5: Sumário dos resultados da ANOVA unifatorial para densidade total, riqueza de espécies, diversidade H' entre o campo (tempo zero) e os três tempos amostrais do tratamento Controle.....	30
Tabela 6: Sumário dos resultados da ANOVA bifatorial e teste SNK para densidade total, riqueza de espécies, diversidade H'	32
Tabela 7: Resultados da ANOSIM entre os tratamentos para os três tempos amostrais.....	33
Tabela 8: Resultados de dissimilaridade da análise SIMPER, indicando quais táxons foram responsáveis pelas diferenças entre os tratamentos.	34
Tabela 9: Sumário dos resultados da ANOVA bifatorial e teste SNK para os táxons mais representativos, separados pelo grau de sensibilidade às concentrações adotada.	36

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	11
2 METODOLOGIA.....	15
2.1 LOCAL DE COLETA DAS AMOSTRAS.....	15
2.2 COLETA DAS AMOSTRAS.....	15
2.3 MANUTENÇÃO DOS ORGANISMOS EM LABORATÓRIO	17
2.4 DELINEAMENTO EXPERIMENTAL	17
2.5 PROCESSAMENTO DAS AMOSTRAS	19
2.5.1 GRANULOMETRIA E NUTRIENTES.....	19
2.5.2 HIDROCARBONETOS ALIFÁTICOS E POLICÍCLICOS AROMÁTICOS	19
2.5.3 MACROFAUNA	20
2.6 ANÁLISES ESTATÍSTICAS	20
3 RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	22
3.1 CARACTERIZAÇÃO DO CAMPO.....	22
3.2 ANÁLISE VISUAL	24
3.3 HIDROCARBONETOS.....	27
3.4 NUTRIENTES E MATÉRIA ORGÂNICA	29
3.5 COMPARAÇÃO ENTRE A FAUNA EM CAMPO E O TRATAMENTO CONTROLE	30
3.6 EFEITOS DO ÓLEO DIESEL NA FAUNA	31
4 CONCLUSÃO.....	42
5 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	43
6 ANEXOS	49

1 INTRODUÇÃO

O manejo da qualidade ambiental de regiões costeiras e estuarinas tem sido um desafio para os governantes de todas as nações. Devido à proximidade com grandes centros urbanos, os estuários são áreas sujeitas a grande variabilidade ambiental, sofrendo com as consequências de atividades recreativas, portuárias, industriais, pesqueiras e desmatamentos que acabam por modificar qualidade da água e os ciclos biogeoquímicos. Os aportes antropogênicos mais comumente encontrados nestas regiões referem-se ao despejo de efluentes urbanos, industriais e de material dragado, derrames acidentais de petróleo, lixiviação de áreas rurais e aportes atmosféricos, os quais podem ocasionar a contaminação ambiental (Clark, 2001; Kennish, 2002).

Combustíveis fósseis são a principal fonte de energia da civilização atual. O aumento do consumo mundial de petróleo e derivados nas últimas décadas foi acompanhado por uma expansão nas atividades marinhas de produção, transporte e desembarque de óleo, aumentando as chances de ocorrer acidentes no ambiente marinho e regiões costeiras. 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). Regiões próximas a portos são as mais ameaçadas devido a vazamentos frequentes nas atividades de carga, descarga e transporte. O combustível mais utilizado por embarcações é o óleo diesel marítimo que, apesar de persistir menos tempo no ambiente devido à sua elevada volatilidade (Fingas, 2001), apresenta alto grau de toxicidade (Lytle & Peckarsky, 2001).

Os hidrocarbonetos do petróleo compreendem, entre outras classes de compostos, os hidrocarbonetos alifáticos (n-alcanos, alcanos isoprenoídes, compostos cíclicos e de cadeia ramificada) e hidrocarbonetos policíclicos aromáticos. Sua análise pode fornecer informações sobre a fonte da contaminação e o grau de degradação destes compostos no ambiente (NRC, 2003). Uma vez no ambiente aquático, os hidrocarbonetos do petróleo passam por diferentes processos, como a perda por evaporação, dissolução na água,

absorção pela biota, adsorção no material particulado em suspensão e nos sedimentos, ou degradação física ou biológica. Por estarem em ambientes confinados e com pouca circulação, os sedimentos de áreas estuarinas tendem a reter e acumular as substâncias tóxicas do petróleo e seus derivados (Sanz-Lázaro & Marín, 2009). Este processo permite que os compostos presentes nos sedimentos sejam utilizados como indicadores da qualidade ambiental desses ecossistemas, produzindo dados importantes para a tomada de decisões no que diz respeito ao gerenciamento global das águas.

A qualidade ambiental pode ser determinada pela análise direta dos compostos químicos presentes na água ou sedimento (porcentagem de oxigênio, poluentes orgânicos, metais, nutrientes, etc.) ou através de indicadores biológicos como uma alternativa para avaliar a saúde do ambiente no qual eles se encontram (Dauvin *et al.*, 2010). Por refletir as alterações dos parâmetros físicos e químicos do ambiente, a fauna bêntica tem sido frequentemente empregada nas avaliações da intensidade e extensão dos danos causados por derrames de óleo (Ocon *et al.*, 2008).

As comunidades bênticas possuem um papel central na ciclagem de nutrientes no ambiente marinho, através dos processos de bioturbação e de alimentação na interface sedimento-água. Esta fauna é composta por organismos com baixa mobilidade e ciclos de vida relativamente longos, com graus de sensibilidade às perturbações e modos de vida distintos. Sua natureza relativamente sedentária torna difícil para estes organismos evitar a exposição aos poluentes e outras condições adversas em seu entorno (Hyland *et al.*, 2005). Além disso, estes organismos podem responder a perturbações mesmo em níveis taxonômicos supra específicos, como gêneros, famílias e mesmo classes, integrando a história recente de distúrbios ambientais, que podem não ser detectados nos demais compartimentos biológicos, tais como as comunidades pelágicas (Salas *et al.*, 2006; Borja *et al.*, 2008; Patrício *et al.*, 2009). Os poluentes tendem a modificar a estrutura das associações bênticas alterando sua diversidade, biomassa relativa, abundância de espécies tolerantes e sensíveis ao agente estressor, além de mudanças na estrutura trófica ou funcional da comunidade (Pearson & Rosenberg, 1978; Warwick & Clarke, 1994).

Nos últimos anos o interesse em usar indicadores bênticos para avaliar a qualidade dos ambientes marinhos aumentou significativamente, após um longo período de estagnação, devido principalmente à necessidade de novos métodos para avaliar a qualidade das águas marinhas, requerido por legislações como o WFD (*Water Framework Directive*) na Europa e CWA (*Clean Water Act*) nos Estados Unidos (Dauvin *et al.*, 2010; Dauvin *et al.*, 2012).

Entre as categorias de indicadores bênticos de qualidade ambiental estão as espécies características ou indicadoras de uma dada condição ambiental (Dauvin *et al.*, 2010). Tais organismos podem estar ausentes nos locais impactados, ser mais abundantes em locais impactados ou mesmo exibir alguma resposta mensurável, como mudanças comportamentais, morfológicas e/ou fisiológicas (Goodsell *et al.*, 2009). Na literatura é possível encontrar diversos termos para qualificar as espécies indicadoras, de acordo com sua resposta a um determinado agente estressor, como espécies sensíveis, tolerantes, oportunistas, indiferentes, etc. (Dauvin *et al.*, 2010).

De acordo com Goodsell *et al.* (2009), a ideia de que uma espécie ou grupo taxonômico representa uma determinada condição ambiental deve ser inicialmente tratada como uma hipótese a ser testada. Indicadores confiáveis da qualidade ambiental devem estabelecer conexões lógicas entre suas respostas e as variáveis de interesse. Para que um táxon, ou grupo de táxons, seja considerado um indicador eficaz é preciso que exista uma correlação consistente entre as alterações da variável de interesse e a sua resposta, e estabelecendo uma clara relação de causalidade. Além disso, é necessário que a relação seja direta e previsível para diferentes níveis do agente estressor (Dale & Beyeler, 2001). Desta forma, a mera observação da correlação entre a resposta do organismo e a variável que ele deveria indicar não satisfaz estas premissas, sendo necessários experimentos manipulativos e abordagens toxicológicas para o claro estabelecimento de relações de causalidade (Underwood & Peterson, 1988).

Experimentos manipulativos em campo geralmente enfrentam limitações quanto à variabilidade natural do ambiente, dispersão lateral do contaminante de interesse e reduzida magnitude de impacto, devido às pequenas escalas utilizadas. Entretanto, nos últimos anos a complexidade

destes experimentos vem crescendo, buscando contornar estas limitações (Lindgarth & Underwood, 2002; Johnston *et al.*, 2005; Fukunaga *et al.*, 2011). Experimentos em laboratório utilizando micro ou mesocosmos são úteis para o entendimento de processos que ocorrem no ambiente, principalmente processos que já tenham sido investigados em experimentos manipulativos de campo, pois permitem excluir variáveis ambientais que não são relevantes a uma questão específica (Stark, 1998).

Abordagens toxicológicas em laboratório têm sido amplamente utilizadas para avaliação de riscos ambientais (Carman *et al.*, 2000; Bhattacharyya *et al.*, 2003). Geralmente estudos em laboratório fornecem maior controle sobre a dispersão do contaminante e escala de impacto, possibilitando o estabelecimento de relações de causalidade. Entretanto, tais estudos pecam pela falta de realismo e sua extrapolação para o ambiente natural deve ser realizada com cautela (Vignati *et al.*, 2007; Wilkie *et al.*, 2010).

Grande parte dos estudos toxicológicos são monoespecíficos, abordando o efeito de contaminantes em espécies selecionadas, sob condições estritamente controladas (Burgos & Rainbow, 1998; Lyytikäinen *et al.*, 2007; Kalman *et al.*, 2010). Entretanto, muitos estudos utilizam comunidades biológicas, coletadas em campo e levadas para o ambiente controlado do laboratório. Associações macrobênticas têm sido utilizadas em estudos experimentais em micro e mesocosmos para avaliar os efeitos da exposição a pesticidas, nitrogênio, sulfetos, cobre, hidrocarbonetos policíclicos aromáticos, entre outros contaminantes (Flemer *et al.*, 1997; Stark, 1998; Shin *et al.*, 2006; Balthis *et al.*, 2010).

Este estudo avaliou em laboratório os efeitos de um derrame de óleo diesel sobre a estrutura de associações macrofaunais. A hipótese do estudo é que se a exposição ao óleo diesel causa efeitos deletérios na macrofauna bêntica, então haverá diferenças na estrutura das populações submetidas a diferentes concentrações de óleo e este efeito será diretamente proporcional ao tempo de exposição. Para isso, será analisada a mortalidade da macrofauna bêntica em diferentes concentrações de óleo diesel ao longo do tempo, identificando espécies particularmente tolerantes ou sensíveis ao contaminante.

2 METODOLOGIA

2.1 LOCAL DE COLETA DAS AMOSTRAS

O local escolhido para a coleta das amostras foi a planície de maré não vegetada na Ilha dos Papagaios (25°32'56S 48°26'8W) localizada entre as desembocaduras dos rios Guaraguaçu e Maciel, no Canal da Cotinga, Complexo Estuarino de Paranaguá (Figura 1). Pelo Canal da Cotinga trafegam apenas embarcações de pesca e lazer. Apesar da relativa proximidade com a cidade e porto de Paranaguá, estudos realizados na região não observaram sinais de contaminação por hidrocarbonetos ou efluentes urbanos (Seyffert, 2008; Martins *et al.*, 2010; Egres *et al.*, 2012; Faller, 2012), apresentando fauna diversificada e baixos níveis de perturbação ecológica (Lana *et al.*, 2001; Contente *et al.*, 2010; Souza, 2012).

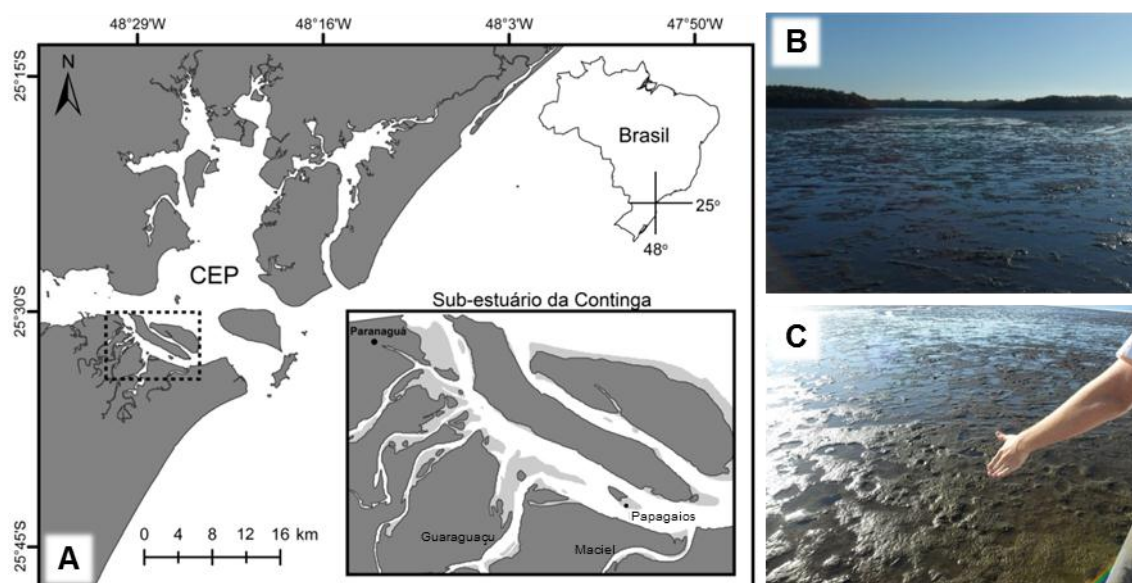


Figura 1: A: Complexo Estuarino de Paranaguá. Em destaque o sub-estuário da Cotinga e o Baixio dos Papagaios, onde foram coletadas as amostras. B e C: Imagens do baixio, obtidas no momento da coleta.

2.2 COLETA DAS AMOSTRAS

As amostras foram coletadas durante a maré baixa de sizígia utilizando um amostrador cilíndrico de área 0,01 m², enterrado 7 cm no sedimento. Para

reduzir o estresse na fauna pela perturbação física, no momento da coleta o sedimento do entorno do amostrador era escavado e o amostrador retirado lateralmente. O conteúdo de cada amostrador era, então, cuidadosamente transferido para frascos de vidro de 2 litros com área 0,012 m², somando 54 frascos (Figura 2).

Adicionalmente, quatro amostras foram coletadas para caracterizar a fauna em campo para comparação com os resultados do experimento. Foram realizadas medições de temperatura do sedimento, salinidade e pH da água intersticial, e coletado sedimento para caracterização textural, análise de hidrocarbonetos alifáticos e hidrocarbonetos policíclicos aromáticos, e teores de carbonato de cálcio, matéria orgânica, carbono orgânico total, nitrogênio total e fósforo total.



Figura 2: Imagens registradas no momento da coleta. A e B: Amostra sendo retirada lateralmente e transferida para um frasco de vidro. C: Frascos com amostras. D: Área total em que as amostras foram coletadas (aproximadamente 1 m²).

Todas as amostras foram coletadas dentro de uma área restrita (1 m²) com características aparentemente homogêneas, de forma a minimizar a variabilidade espacial de pequena escala, muito observada em estudos com macrobentos (Morrissey *et al.*, 1992; Chapman *et al.*, 2010). Além das amostras

de sedimento, foram coletados 120 litros de água, para utilização ao longo do experimento.

2.3 MANUTENÇÃO DOS ORGANISMOS EM LABORATÓRIO

Em laboratório a água coletada foi filtrada em malha de 63 μm e mantida com aeração constante. A salinidade medida na água coletada foi 31 UPS. Cada frasco recebeu 600 ml de água e aeração constante por meio de compressores de ar. Os frascos foram tampados com plástico para minimizar a evaporação causada pela aeração e mantidos parcialmente submersos em aquários, para minimizar as oscilações de temperatura (Figura 3).

As amostras passaram por um período de aclimação de 48 horas após a coleta. Durante este período os frascos foram observados para a retirada de eventuais predadores como crustáceos e peixes. A temperatura do ar foi mantida próxima do valor observado nos sedimentos no momento da coleta das amostras (em torno de 22° C).

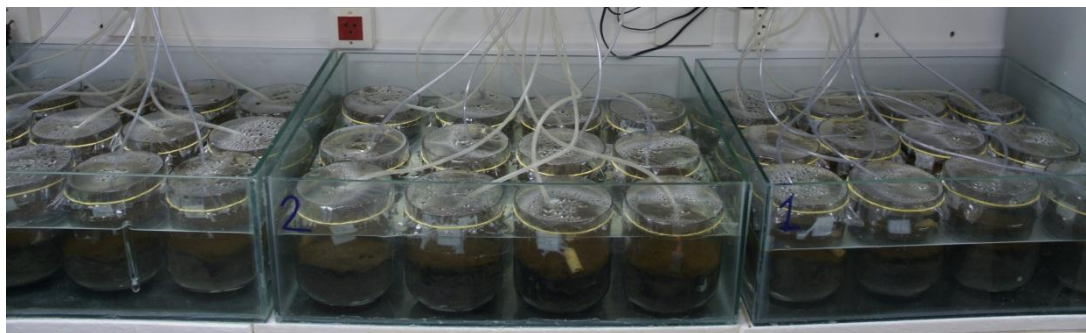


Figura 3: Frascos tampados, recebendo aeração individual e parcialmente submersos em água.

2.4 DELINEAMENTO EXPERIMENTAL

O experimento foi composto de três tratamentos: Controle (C) sem adição de óleo diesel; Baixa Concentração (BC) com adição de 6 ml de diesel em cada frasco, equivalente a 0,5 litro de óleo diesel derramado por m^2 ; Alta

Concentração (AC) com adição de 12 ml de diesel em cada frasco, equivalente a 1 litro de óleo diesel derramado por m².

A relação volume de óleo por metro quadrado foi calculada levando em consideração a área dos frascos. O experimento teve início com o sifonamento da água dos frascos e adição de óleo diesel marítimo não intemperizado, em quantidades de acordo com cada tratamento, diretamente no sedimento exposto. Uma hora após a exposição ao óleo foram, lentamente, adicionados 600 ml de água do local em cada frasco. Não houve troca ou reposição de água ao longo do experimento (Figura 4).

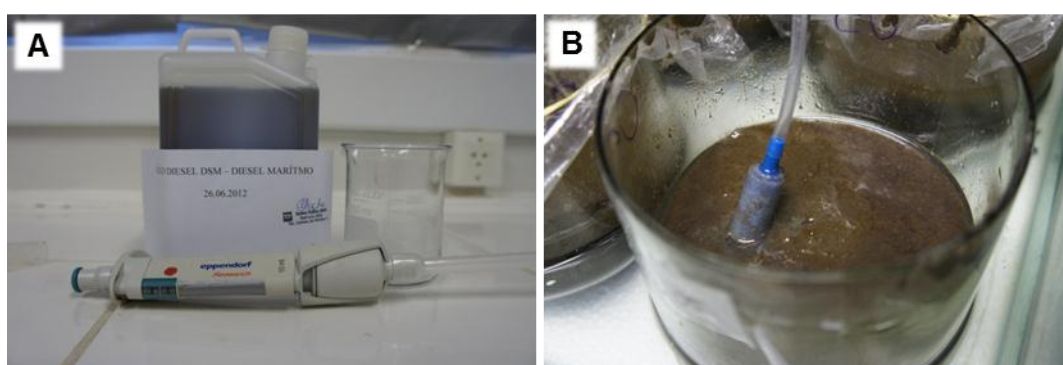


Figura 4: A: Detalhe do óleo diesel e pipeta dosadora utilizada no experimento. B: Frasco sem água, após ser impactado com óleo.

Os tratamentos foram atribuídos aos frascos de maneira aleatória. Foram definidos três tempos de amostragem: 01 dia, 07 dias e 14 dias após o contato com óleo. Em cada tempo de amostragem foram selecionadas aleatoriamente seis réplicas de cada tratamento. Das seis réplicas de cada combinação tratamento e tempo, quatro foram destinadas para a análise da macrofauna, uma para análise de matéria orgânica, carbono orgânico total, nitrogênio total e fósforo total, e outra para análise de hidrocarbonetos. Os frascos destinados às amostras de nutrientes e hidrocarbonetos foram lentamente transbordados pela adição de água corrente, de forma a retirar a camada de óleo presente na superfície da água. Somente a camada superficial (<2 cm) do sedimento foi considerada para estas análises.

2.5 PROCESSAMENTO DAS AMOSTRAS

2.5.1 GRANULOMETRIA E NUTRIENTES

A análise granulométrica foi realizada utilizando um granulômetro MICROTRAC Bluewave através de difratometria laser. O diâmetro médio e o grau de seleção foram calculados segundo a metodologia proposta por Folk & Ward (1957). Os teores de carbonato de cálcio e matéria orgânica foram obtidos pela diferença entre o peso inicial e final de cada amostra após ataque químico com ácido clorídrico e peróxido de hidrogênio, respectivamente. As concentrações de nitrogênio total e fósforo total foram determinadas pelo método de Grasshoff *et al.* (1983), e as concentrações de carbono orgânico total pelo método de Strickland & Parsons (1972).

2.5.2 HIDROCARBONETOS ALIFÁTICOS E POLICÍCLICOS AROMÁTICOS

A determinação das concentrações de Hidrocarbonetos Alifáticos (HAs) e Hidrocarbonetos Policíclicos Aromáticos (HPAs) foi realizada através de subamostras de 15 g de sedimento seco extraídos em Soxhlet com 80 ml de uma mistura contendo 50 % em volume de n-hexano e diclorometano (DCM) por 8 horas. Em cada frasco de extração foram adicionados padrões substituídos contendo hexadeceno e eicoseno (50 ng/μL) para a determinação de HAs, e policíclicos aromáticos deuterados (naftaleno-d8, acenafteno-d10, fenantreno-d10, criseno-d12 e perileno-d12(5 ng/μL)) para a determinação de HPAs. Os extratos resultantes foram concentrados em evaporador rotativo a vácuo até um volume aproximado de 2 ml.

Os extratos concentrados foram submetidos à cromatografia de adsorção contendo 3,2 g de sílica e 1,8 g de alumina, ambas desativadas a 5% com água extraída 5 vezes, e sulfato de sódio. Os hidrocarbonetos alifáticos foram obtidos através de eluição com 10 mL de n-hexano, formando a fração F1. Os HPAs foram obtidos com 15 mL de uma solução com 30% de DCM em n-hexano, formando a fração F2. Os extratos das frações F1 e F2 foram

novamente concentrados até 0,5 mL em vapor rotativo, transferidos para ampolas de vidro âmbar e a eles adicionado um padrão interno cromatográfico, sendo tetradeceno (50 ng/ μ L) para F1 e benzo(b)fluoranteno-d12 (5 ng/ μ L) para F2.

Os HAs foram identificados e quantificados através da injeção de 2 μ L do extrato final em um cromatógrafo a gás (Agilent GC 7890A), equipado com um detector de ionização de chama (GC-FID). As concentrações de HPAs foram obtidos através da injeção de 2 μ L da amostra em um cromatógrafo a gás (Agilent GC 7890) acoplado a um espectrômetro de massa (Agilent 5975C inert MSD with Triple-Axis Detector) no modo SIM (System Ion Monitoring). Não foram observadas contaminações no branco de extração e as recuperações dos padrões mantiveram-se dentro da faixa recomendada (40 – 150%).

2.5.3 MACROFAUNA

O conteúdo de cada frasco destinado para a análise da macrofauna foi fixado em solução de formol a 8% por 72 horas, lavado em peneira com malha de 0,5 mm de abertura e preservado em álcool a 70%. Somente os organismos em bom estado de conservação foram selecionados, com auxílio de estereomicroscópio, e identificados ao menor nível taxonômico possível. Considerou-se que os organismos em mal estado de conservação estavam mortos no momento da fixação.

2.6 ANÁLISES ESTATÍSTICAS

Para verificar a ocorrência de um eventual impacto na macrofauna em decorrência do método de coleta e manipulação em laboratório, foram realizadas análises de variância (ANOVA) unifatorial para a densidade total, riqueza de espécies e diversidade H'. Os dados do Campo foram tratados como tempo zero e comparados com os três tempos amostrais do Controle.

Para testar diferenças nas associações macrofaunais entre tratamentos e tempos foram aplicadas as análises multivariadas de escalonamento multidimensional não-métrico (nMDS), de similaridade (ANOSIM) e de percentual de similaridade (SIMPER). A análise nMDS foi realizada com uma matriz de dissimilaridade de Bray-Curtis, calculada sobre a matriz de abundância da macrofauna, transformada com $\log(x+1)$. A verificação das diferenças entre os grupos formados na visualização por nMDS foi realizada por uma ANOSIM de dois fatores ortogonais (Tratamento e Tempo). Quando houve diferença significativa entre grupos, revelado pela ANOSIM, foi calculado o percentual de dissimilaridade para determinar quais táxons mais contribuíram para a separação destes grupos.

A densidade total, riqueza de espécies e diversidade H' (Shannon-Wiener), e densidade dos principais táxons, revelados pela SIMPER foram separadamente testadas por uma análise de variância (ANOVA) bifatorial, utilizando os fatores Tratamento e Tempo como fixos e ortogonais. Os pressupostos da normalidade e homogeneidade dos dados foram analisados pelos testes de Shapiro-Wilk e Cochran, respectivamente, aplicando transformações quando necessário. O teste *post-hoc* de Student-Newman-Keuls (SNK) foi aplicado para verificar quais níveis foram responsáveis pela variabilidade resultante da ANOVA.

Os dados foram analisados nos *softwares* Primer (Clarke & Warwick, 2001), para a ANOSIM e SIMPER, e R (*R Development Core Team*, 2012), utilizando os pacotes *rysgran* (Gilbert *et al.*, 2011) para a análises granulométricas, *vegan* (Oksanen *et al.*, 2011) para nMDS, e GAD (Sandrini-Netto & Camargo, 2011) para ANOVA, Cochran e SNK.

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1 CARACTERIZAÇÃO DO CAMPO

A análise granulométrica mostrou que os sedimentos do Baixio dos Papagaios são moderadamente bem selecionados, com predomínio de areias finas. O teor de sedimentos finos (fração de silte e argila somadas) representou 5,6% dos sedimentos analisados. Os teores de matéria orgânica e carbonato de cálcio foram de 1,46% e 3,41%, respectivamente. Os baixos teores de sedimentos finos e matéria orgânica indicam que os fluxos hidrodinâmicos atuando sobre o baixio, nos momentos de marés enchente e vazante, são competentes para o transporte de sedimentos de granulometria mais fina. No momento da coleta das amostras, a água intersticial apresentava salinidade de 30 UPS, próximo do encontrado na água coletada para uso em laboratório (31 UPS). A temperatura do sedimento foi de 21,3 °C.

A concentração de hidrocarbonetos alifáticos totais (HAs totais) nos sedimentos do local de coleta foi de 37,45 $\mu\text{g.g}^{-1}$, valor superior ao encontrado por Egres *et al.* (2012) em planícies entremarés próximas (<5 $\mu\text{g.g}^{-1}$) e ao observado por Seyffert (2008) na região de sublitoral no entorno do Baixio dos Papagaios (20,71 $\mu\text{g.g}^{-1}$). Os valores encontrados no presente estudo são comparáveis aos observados por Egres *et al.* (2012) um dia após um impacto simulado com óleo diesel (máximos de 30 $\mu\text{g.g}^{-1}$). Em sedimentos estuarinos, concentrações de HAs totais inferiores a 10 $\mu\text{g.g}^{-1}$ indicam locais livres de contaminação, podendo atingir valores 2 a 3 vezes superiores quando há contribuição significativa de plantas superiores. Sedimentos ricos em matéria orgânica podem apresentar valores de hidrocarbonetos alifáticos totais próximos a 100 $\mu\text{g.g}^{-1}$, porém concentrações superiores podem indicar contaminação de origem antrópica (Volkman *et al.*, 1992; Bouloubassi & Saliot, 1993).

O Índice Preferencial de Carbono (IPC) foi de 4,77, indicando que os *n*-alcanos presentes no sedimento são de origem natural. Valores acima de 4 indicam *n*-alcanos de origem biogênica e terrígena, enquanto valores em torno de 1 indicam *n*-alcanos de origem antrópica (Didyk *et al.*, 2000). Apesar de a

região onde as amostras foram coletadas ser próxima à vegetação de mangue, a razão *Terrigenous Aquatic Ratio* (TAR) foi de 0,26, indicando predomínio de cadeias carbônicas de origem marinha sobre cadeias de vegetais superiores, possivelmente devido ao filme de microfítobentos presente na camada superficial do sedimento.

Embora o IPC e a razão TAR tenham indicado aporte de hidrocarbonetos de origem natural, a concentração de hidrocarbonetos policíclicos aromáticos totais (HPAs totais) nos sedimentos do local de coleta foi de $1,41 \mu\text{g.g}^{-1}$. Segundo Notar *et al.* (2001), sedimentos marinhos com concentrações de HPAs totais superiores a $0,5 \mu\text{g.g}^{-1}$ são considerados poluídos, enquanto valores entre $0,25$ e $0,5 \mu\text{g.g}^{-1}$ são considerados moderadamente poluídos. A maior parte dos HPAs totais analisada é composta por HPAs alquilados ($1,31 \mu\text{g.g}^{-1}$), indicando contaminação petrogênica. Estes valores são muito superiores aos encontrados por Seyffert (2008) na região de sublitoral, no entorno do baixio ($0,034 \mu\text{g.g}^{-1}$ para HPAs totais e $0,004 \mu\text{g.g}^{-1}$ para HPAs alquilados totais no ano de 2005). Não há relatos de derrames de óleo entre o estudo de Seyffert (2008) e a coleta das amostras para este estudo. Estes valores altos podem estar relacionados a algum aporte recente de pequena escala, oriundo de embarcações de pesca ou lazer.

Mesmo com o sinal de contaminação observado pela análise de hidrocarbonetos, os valores de HPAs totais observados não ultrapassaram o nível de atenção para organismos bênticos das diretrizes de qualidade de sedimentos adotadas pela NOAA (ERL de $4,022 \mu\text{g.g}^{-1}$), proposto por Long *et al.* (1995) (Tabela 1).

Tabela 1: Concentrações estabelecidas para HPAs Totais em diretrizes de qualidades de sedimentos (*Sediments Quality Guidelines – SQL*) para águas costeiras e marinhas.

	HPAs Totais ($\mu\text{g.g}^{-1}$)	Descrição
ERL	4,022	<i>Effects Range-Low</i> . Nível a partir do qual efeitos deletérios poderão ser observados na fauna.
ERM	44,792	<i>Effects Range-Median</i> . Nível a partir do qual efeitos deletérios serão frequentemente observados na fauna.

O índice de diversidade H' observado para a macrofauna local foi de 1,99 ($\pm 0,09$, $n=4$) e a riqueza de espécies foi de 20,25 ($\pm 1,65$, $n=4$). Estes valores são condizentes para a macrofauna de baixios não vegetados, observado em estudos anteriores realizados na região (Egres *et al.*, 2012; Faller, 2012; Souza, 2012). Desta forma, é possível sugerir que os níveis de HPAs totais observados não caracterizam uma contaminação forte suficiente para causar alterações na estrutura da comunidade macrobêntica.

Dentre os táxons mais abundantes encontrados no local de coleta, oligoquetas representaram 52,9% (representados pela subfamília Tubificinae e gênero *Tectidrilus*), bivalves 22% (*Anomalocardia brasiliiana*, *Macoma constricta* e *Sphenia fragilis*), poliquetas 17,8% (*Sigambra* sp., *Laeonereis culveri*, *Prionospio steenstrupi*, *Glycinde multidentis* e as famílias Capitellidae e Syllidae) e gastrópodes 6,6% (*Heleobia australis* e *Bulla striata*). A tabela com a densidade média (\pm erro padrão) dos principais organismos encontrados está no Anexo 1.

3.2 ANÁLISE VISUAL

Vinte e quatro horas após o início do experimento foram observados vários organismos na superfície do sedimento, a maioria poliquetas *Glycinde multidentis* e *Laeonereis culveri*, apresentando baixa mobilidade e resposta ao contato e iluminação. Este comportamento não foi observado no tratamento Controle (C), sendo mais evidente no tratamento com alta concentração (AC) de óleo diesel (Figura 5 e Figura 6). Indivíduos adultos da macrofauna são capazes de migrar para a coluna d'água de forma a utilizar as correntes para se deslocar lateralmente por grandes distâncias. A transição entre o compartimento sedimentar e a coluna d'água pode ser uma estratégia para a reprodução sexual, busca por alimento ou evitar perturbações, como derrames de óleo, enriquecimento orgânico ou deficiência de oxigênio (Günther, 1992).

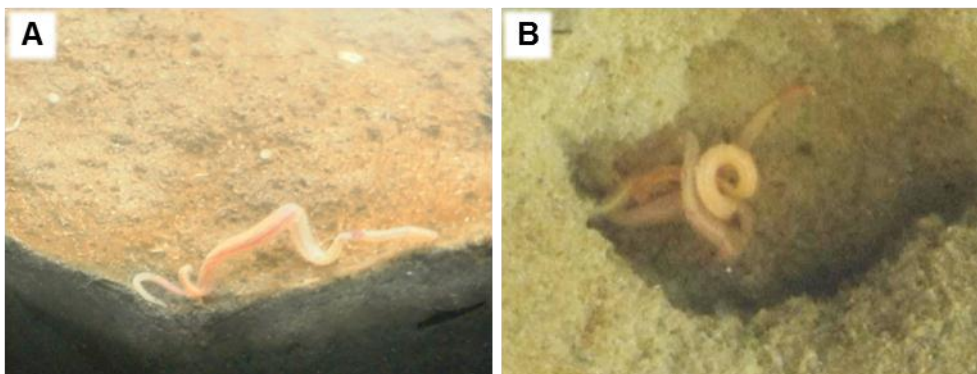


Figura 5: A e B: Poliquetas fora dos sedimentos no tratamento de alta concentração 01 dia após a exposição ao óleo.

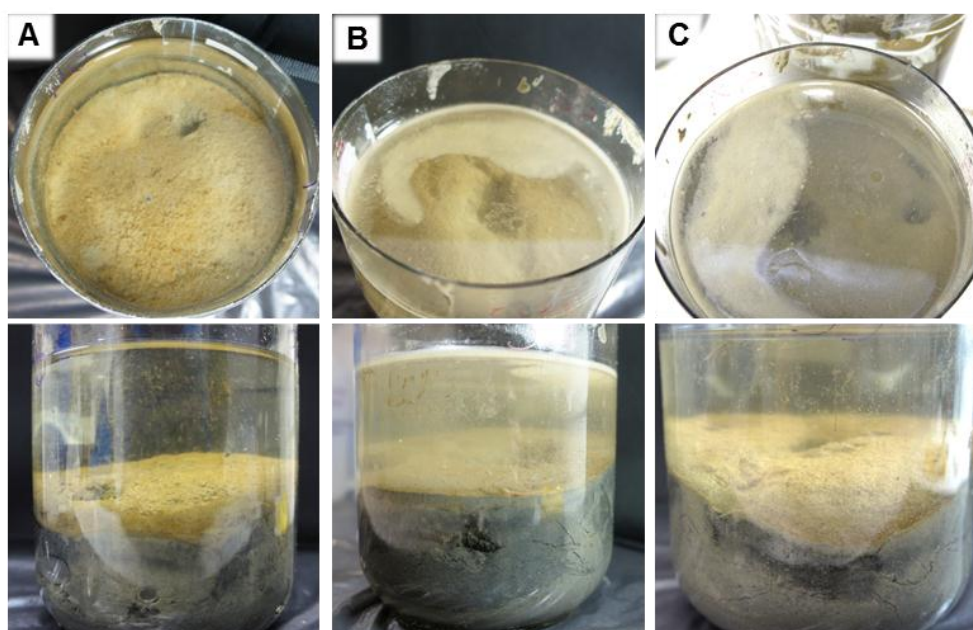


Figura 6: Vista de cima e de perfil dos frascos 01 dia após a exposição ao óleo. A: Controle; B: Baixa Concentração; C: Alta Concentração.

Foi possível observar grande evaporação dos compostos voláteis presentes no óleo diesel nos primeiros dias de experimento, evidenciado pelo odor característico.

Após sete dias, os frascos do tratamento de baixa concentração (BC) apresentavam manchas de óleo em processo de emulsificação, formando agregados. O óleo do tratamento AC não apresentava a mesma consistência, mantendo-se espalhado pela camada d'água superficial (Figura 7).

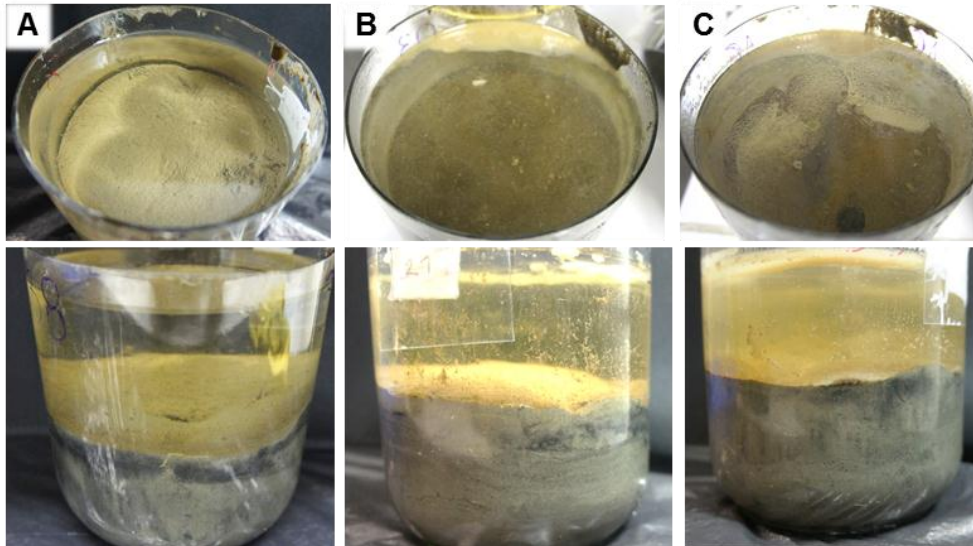


Figura 7: Vista de cima e de perfil dos frascos 07 dias após a exposição ao óleo. A: Controle; B: Baixa Concentração; C: Alta Concentração.

Duas semanas após a exposição ao óleo, os frascos do tratamento Controle continuaram apresentando organismos ativos e formando tubos, enquanto nos dois tratamentos com adição de óleo foi notada baixa atividade e sedimento parcialmente reduzido. O óleo do tratamento AC apresentou o processo de emulsificação visto em BC no tempo 07 e sedimentos mais reduzidos (Figura 8).

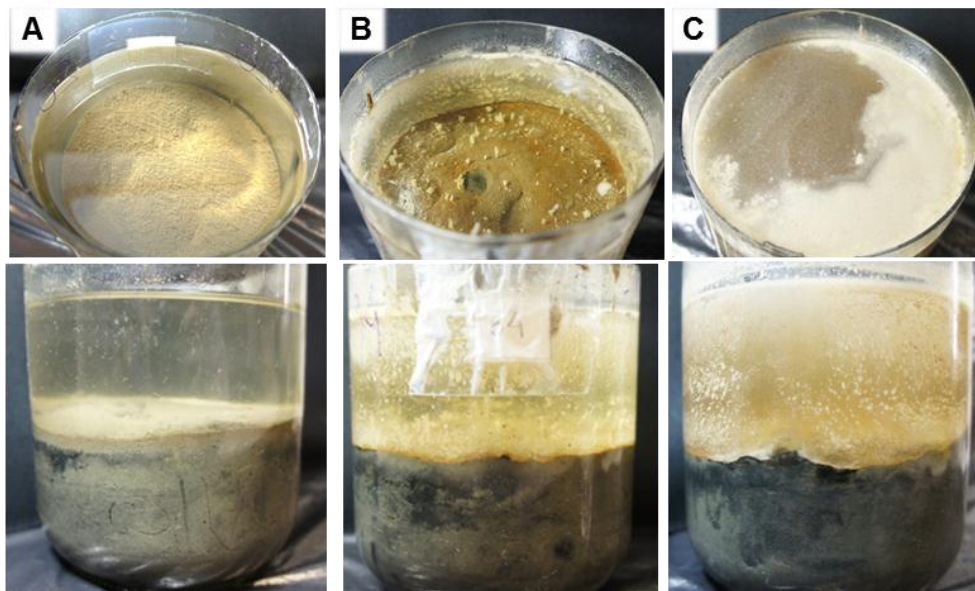


Figura 8: Vista de cima e de perfil dos frascos 14 dias após a exposição ao óleo. A: Controle; B: Baixa Concentração; C: Alta Concentração.

Pode-se observar a mudança progressiva na coloração dos sedimentos. Frascos do tratamento Controle apresentaram sedimentos mais claros e bem oxigenados, enquanto AC apresentou sedimentos escuros, característicos de ambientes reduzidos. A mortalidade causada pela exposição ao óleo diesel aumentou a matéria orgânica disponível para degradação bacteriana, levando ao consumo do oxigênio nas camadas superficiais dos sedimentos e predominância do metabolismo anaeróbico.

3.3 HIDROCARBONETOS

As análises de Hidrocarbonetos Alifáticos (HA) e Hidrocarbonetos Policíclicos Aromáticos (HPA) revelaram que, um dia após o início do experimento, os sedimentos dos tratamentos que receberam adição de óleo já apresentavam concentrações superiores aos limites de contaminação estabelecidos na literatura.

Nos sedimentos do tratamento BC, as concentrações de HAs e HPAs totais atingiram um patamar estável após sete dias de exposição ($952,7 \mu\text{g.g}^{-1}$ para HAs e $28,0 \mu\text{g.g}^{-1}$ para HPAs) (Tabela 2 e Tabela 3). Nos sedimentos do tratamento AC, as concentrações de HAs e HPAs totais continuaram aumentando, chegando a $1944,0 \mu\text{g.g}^{-1}$ para HAs e $48,5 \mu\text{g.g}^{-1}$ para HPAs ao término do experimento (Figura 9).

Tabela 2: Concentrações de Hidrocarbonetos Alifáticos ($\mu\text{g.g}^{-1}$) nos sedimentos superficiais coletados no campo e ao longo do estudo.

Tratamento	Campo	Controle			Baixa Concentração			Alta Concentração		
		01	07	14	01	07	14	01	07	14
Tempo (dias)										
Alifáticos Totais	37,45	34,62	118,60	227,20	163,30	952,70	992,00	267,20	847,30	1944,00
Σn -Alcanos	5,37	5,13	16,88	34,64	23,55	118,70	107,80	39,86	100,70	225,00
$\Sigma C_{15}+C_{17}+C_{19}$	1,77	1,28	7,70	15,80	7,70	38,90	36,40	15,30	34,30	74,40
$\Sigma C_{27}+C_{29}+C_{31}$	0,46	0,71	0,41	0,69	1,14	3,76	3,60	1,29	3,20	7,16
TAR	0,26	0,55	0,05	0,04	0,15	0,10	0,10	0,08	0,09	0,10
IPC	4,77	5,08	5,33	4,62	1,85	1,21	1,25	2,00	1,28	1,09

A taxa de adsorção de hidrocarbonetos tende a ser mais rápida em sedimentos finos quando comparada a sedimentos arenosos (Stepanova *et al.*, 2011). No presente estudo, os sedimentos utilizados foram predominantemente compostos por areias finas, com baixo teor de sedimentos finos e matéria orgânica.

Tabela 3: Concentrações de Hidrocarbonetos Policíclicos Aromáticos ($\mu\text{g.g}^{-1}$) nos sedimentos superficiais coletados no campo e ao longo do estudo.

Tratamento	Campo	Controle			Baixa Concentração			Alta Concentração		
		01	07	14	01	07	14	01	07	14
Tempo (dias)										
HPAs Totais*	1,41	1,29	6,03	10,20	7,55	28,00	26,60	15,90	31,70	48,50
Σ Alquilados HPAs	1,31	1,17	5,79	9,80	6,98	25,70	24,90	14,70	29,50	43,50
Σ HPAs (2-3 anéis)	0,09	0,12	0,24	0,34	0,53	1,99	1,41	1,06	1,95	4,07
Σ HPAs (4-6 anéis)*	0,01	0,01	0,01	0,02	0,04	0,31	0,30	0,12	0,24	0,87

*Sem os naturais.

Foi observada a ocorrência de contaminação cruzada nos frascos do tratamento Controle. Um dia após o início do experimento o tratamento Controle apresentava valores de HAs totais e HPAs totais semelhantes aos níveis encontrados em campo. Entretanto, nos tempos 07 e 14 dias, os níveis de HAs totais subiram para $118,6 \mu\text{g.g}^{-1}$ e $227,2 \mu\text{g.g}^{-1}$, respectivamente. O mesmo padrão foi observado para os HPAs totais, com concentrações de $6,03 \mu\text{g.g}^{-1}$ após 07 dias e $10,20 \mu\text{g.g}^{-1}$ após 14 dias.

A contaminação cruzada pode ser atribuída à evaporação dos compostos voláteis nos frascos impactados. Estes compostos teriam sido injetados na água dos frascos Controle através dos compressores de ar, contaminando os sedimentos. De acordo com Neubauer Filho (2009), a evaporação é o primeiro processo que atua na intemperização do petróleo na superfície da água, sendo o mais importante neste aspecto durante as primeiras 24 a 48 horas. Neste período, até 30 % dos compostos podem ser volatilizados, dependendo das condições ambientais.

As concentrações dos compostos individuais de hidrocarbonetos alifáticos e policíclicos aromáticos podem ser encontradas no Anexo 2 e Anexo 3.

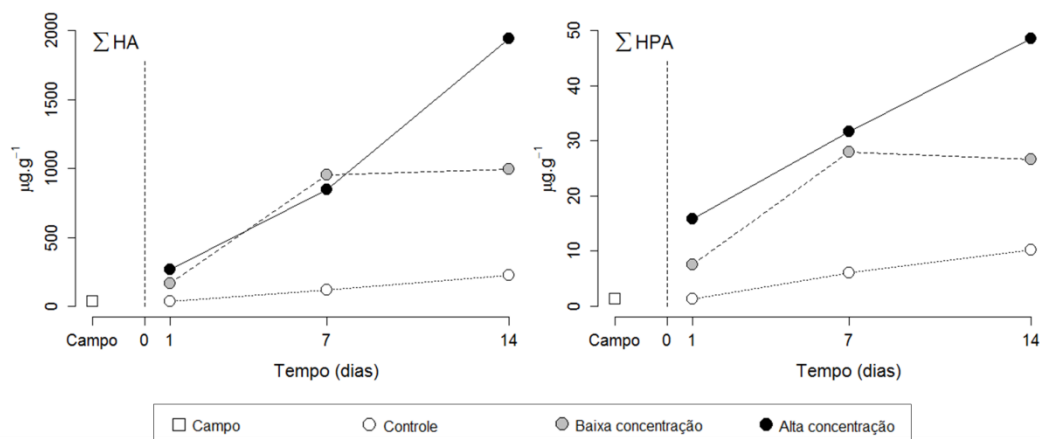


Figura 9: Concentrações de Hidrocarbonetos Alifáticos Totais (Σ HA) e Policíclicos Aromáticos Totais (Σ HPA) entre tratamentos ao longo dos três tempos de amostragem.

3.4 NUTRIENTES E MATÉRIA ORGÂNICA

As análises de carbono orgânico total (COT), nitrogênio total (NT), fósforo total (PT) e matéria orgânica (MO) revelaram que, após 14 dias de experimento, os teores de COT e MO aumentaram nos tratamentos que receberam adição de óleo. Em campo os teores de COT foram 0,85 %, aumentando para 1,28 % em BC e 1,31 % em AC, após 14 dias de exposição. No mesmo período, MO aumentou de 1,46 % para 2,20 % em BC e 2,25 % em AC. Não foram observadas variações significativas no Controle (Tabela 4).

Por outro lado, os teores de NT apresentaram redução ao longo do experimento, proporcional à quantidade de óleo administrada. Em campo os teores de NT foram 0,25 %, reduzindo para 0,03 % em BC e AC, e 0,09 % no Controle após 14 dias de exposição. Os teores de PT não apresentaram diferenças entre tratamentos, mas diminuíram ao longo do experimento (0,17 % em campo e 0,14 % após 14 dias, nos três tratamentos).

A biodegradação do petróleo por populações naturais de microrganismos representa um dos mecanismos primários de eliminação destes compostos do ambiente (Bento, 2005). Entre os fatores ambientais conhecidos por limitar a biodegradação dos hidrocarbonetos do petróleo, a temperatura e a disponibilidade de nutrientes são os mais importantes (Mohn & Stewart, 2000). A adição de óleo diesel representou uma fonte de carbono nos frascos impactados, justificando o aumento dos teores de COT e MO nos

sedimentos. Entretanto, a adição de óleo não forneceu outros nutrientes como nitrogênio e fósforo, utilizados pelos microrganismos para funções metabólicas. Desta forma, NT se mostrou limitante na biodegradação dos hidrocarbonetos, atingindo valores muito inferiores aos encontrados em campo.

Tabela 4: Teores de Carbono Orgânico Total (COT), Nitrogênio Total (NT), Fósforo Total (PT) e Matéria Orgânica (MO) nos sedimentos superficiais coletados no campo e ao longo do estudo. Todos os descritores estão em porcentagem.

Tratamentos	Campo	Controle			Baixa Concentração			Alta Concentração		
	-	01	07	14	01	07	14	01	07	14
COT	0,85	0,95	0,78	0,83	1,00	1,04	1,28	0,53	0,86	1,31
NT	0,25	0,22	0,11	0,09	0,07	0,04	0,03	0,01	0,01	0,03
PT	0,17	0,18	0,14	0,14	0,15	0,12	0,13	0,08	0,13	0,14
MO	1,46	1,64	1,34	1,43	1,72	1,79	2,20	0,90	1,48	2,25

3.5 COMPARAÇÃO ENTRE A FAUNA EM CAMPO E O TRATAMENTO CONTROLE

A observação da contaminação cruzada no tratamento Controle tornou ainda mais importante a comparação entre a fauna dos frascos Controle e a fauna encontrada em campo. Os resultados das análises de variância unifatorial para a densidade total, riqueza de espécies e diversidade H' entre o Campo e o Controle são mostrados na Tabela 5. Os dados do Campo foram tratados como tempo zero e comparados com os três tempos amostrais do Controle. Não foram encontradas diferenças significativas para nenhum dos três descritores, indicando que a coleta e manipulação experimental, além da aparente contaminação cruzada dos Controles, não causaram efeitos deletérios na fauna.

Tabela 5: Sumário dos resultados da ANOVA unifatorial para densidade total, riqueza de espécies, diversidade H' entre o campo (tempo zero) e os três tempos amostrais do tratamento Controle.

	Densidade total			Riqueza de espécies			Diversidade H'		
	<i>df</i>	<i>F</i>	<i>p</i>	<i>df</i>	<i>F</i>	<i>p</i>	<i>df</i>	<i>F</i>	<i>p</i>
Tempo	3	0,70	0,56	3	0,18	0,90	3	0,40	0,74
Resíduo	12			12			12		

3.6 EFEITOS DO ÓLEO DIESEL NA FAUNA

Os efeitos da exposição ao óleo foram evidentes na redução da densidade total, riqueza de espécies e, por consequência, diversidade H' (Figura 10). Para estas três variáveis, a ANOVA bifatorial mostrou diferenças significativas na interação Tratamento-Tempo (Tabela 6). O teste de SNK revelou que somente após sete dias de experimento os tratamentos com óleo sofreram redução na densidade total, riqueza de espécies e diversidade H' , com BC apresentando médias superiores a AC. O Controle não apresentou variação significativa entre os tempos.

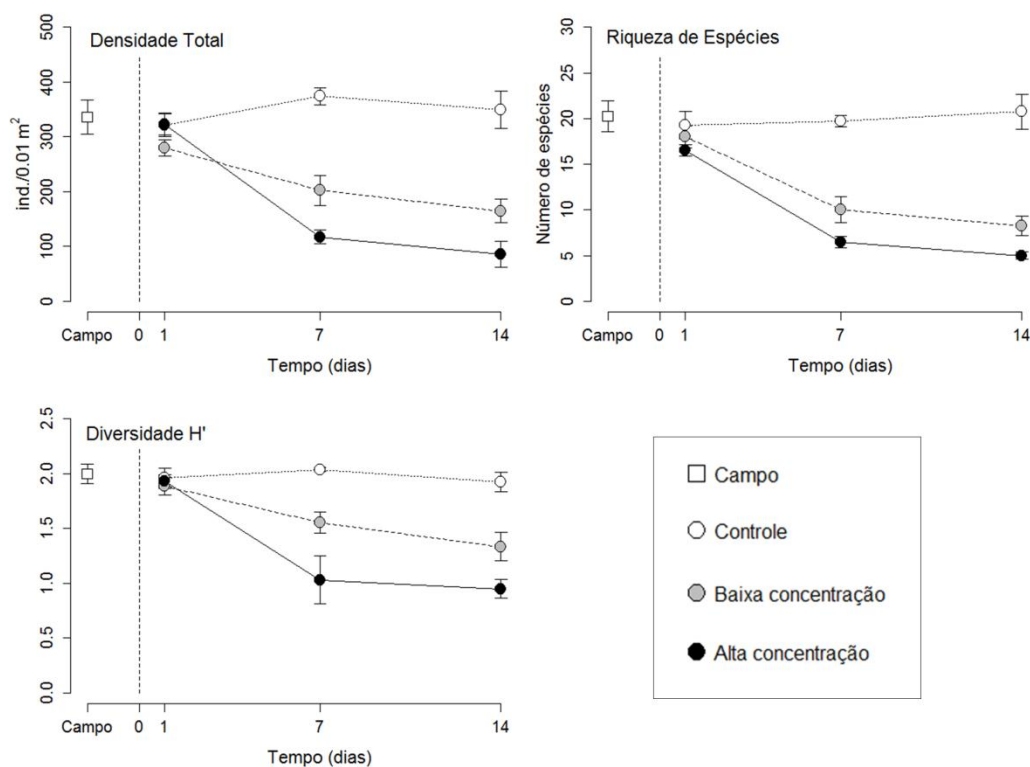


Figura 10: Densidade total, riqueza de espécies e diversidade H' (\pm erro padrão, $n=4$) encontrada em campo e nos tratamentos experimentais ao longo do experimento. O eixo x mostra o tempo de exposição ao óleo, em dias, a partir do início do experimento (Tempo 0).

Tabela 6: Sumário dos resultados da ANOVA bifatorial e teste SNK para densidade total, riqueza de espécies, diversidade H'. Diferenças significativas ($p < 0,05$) são mostradas em negrito. Os testes SNK foram realizados para os três níveis do tratamento: Controle (C), Baixa Concentração (BC) e Alta Concentração (AC) e para os três tempos de exposição: 01, 07 e 14 dias. Níveis sublinhados juntos não apresentaram diferenças significativas. Quando a interação Tratamento-Tempo (Tr*Te) foi significativa, o teste de SNK foi realizado comparando cada nível de tratamento entre os tempos e cada tempo entre os níveis de tratamento. Para todas as ANOVA os graus de liberdade do resíduo foram = 27.

	Tratamentos (Tr) <i>df</i> = 2		Tempos (Te) <i>df</i> = 2		Tr*Te <i>df</i> = 4		SNK test ¹	
	<i>F</i>	<i>p</i>	<i>F</i>	<i>p</i>	<i>F</i>	<i>p</i>	Tr	Te
Densidade total	50,88	0,000	19,00	0,000	11,73	0,000	Te-07,14: <u>C</u> <u>BC</u> <u>AC</u>	Tr-BC,AC: <u>01</u> <u>07</u> <u>14</u>
Riqueza de espécies	69,29	0,000	29,84	0,000	10,61	0,000	Te-07: <u>C</u> <u>BC</u> <u>AC</u> Te-14: <u>C</u> <u>BC</u> <u>AC</u>	Tr-BC,AC: <u>01</u> <u>07</u> <u>14</u>
Diversidade H'	28,67	0,000	18,61	0,000	6,49	0,000	Te-07,14: <u>C</u> <u>BC</u> <u>AC</u>	Tr-BC,AC: <u>01</u> <u>07</u> <u>14</u>

¹ Apenas são mostradas comparações que apresentaram diferenças significativas entre níveis.

No nMDS foi possível observar a formação de grupos entre os três níveis do fator experimental (Controle, BC e AC), indicando que o grau de exposição ao óleo foi o fator principal para formação dos grupos. Além disso, o tempo de exposição mostrou-se determinante na intensidade da separação dos grupos formados pelos tratamentos. As amostras do grupo Controle não apresentaram diferenças entre os tempos. Quando observados os três tratamentos e tempos amostrais no mesmo nMDS percebe-se que, após 01 dia de exposição, os tratamentos não apresentaram diferenças em relação ao Controle. Entretanto, após 07 dias de exposição, BC e AC formaram grupos distintos (Figura 11).

A Tabela 7 sumariza os resultados da análise de similaridade (ANOSIM) realizada entre os tratamentos para os três tempos amostrais. Os altos valores da estatística R, corroborados pelos baixos valores de significância ($p < 0,05$), demonstram que os tratamentos diferem entre si a partir de 07 dias, justificando a formação dos grupos observados na análise nMDS.

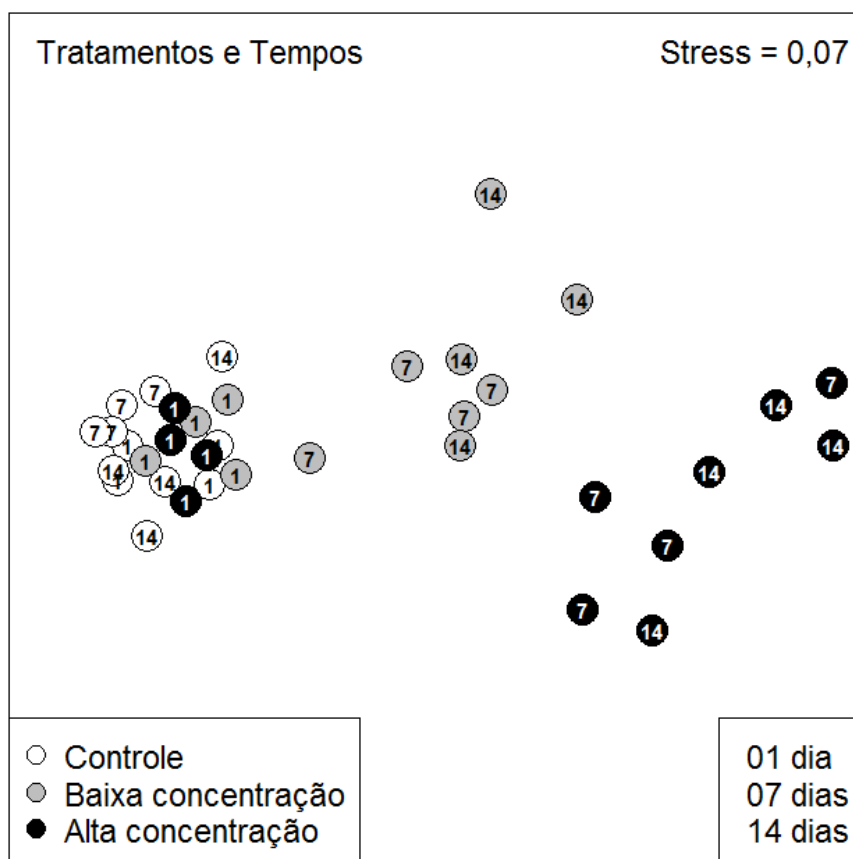


Figura 11: nMDS mostrando a separação de grupos formados pelos tratamentos ao longo do estudo. Os dados foram transformados utilizando $\log(x+1)$.

Tabela 7: Resultados da ANOSIM entre os tratamentos para os três tempos amostrais. Diferenças significativas ($p < 0,05$) são mostradas em negrito. Global = valor global do teste, C = Controle, BC = Baixa concentração, AC = Alta concentração. N = número de permutações executadas (valores abaixo de 999 indicam o número máximo de combinações possíveis).

Grupos	01 dia			07 dias			14 dias			Cruzado		
	R	p	N	R	p	N	R	p	N	R	p	N
Global	-0,33	0,99	999	0,88	0,000	999	0,94	0,000	999	0,49	0,001	999
C X BC	-0,33	1,00	35	0,95	0,029	35	0,96	0,029	35	0,53	0,003	999
C X AC	-0,33	0,94	35	1,00	0,029	35	1,00	0,029	35	0,55	0,001	999
BC X AC	-0,27	0,91	35	0,72	0,029	35	0,83	0,029	35	0,42	0,004	999

A rotina SIMPER foi utilizada para verificar quais organismos foram responsáveis pela dissimilaridade que separou os grupos visualizados no nMDS e validados pela ANOSIM. A maior dissimilaridade média encontrada foi entre Controle e AC, com 43% e a menor foi entre BC e AC (29,3%) (Tabela 8).

Tabela 8: Resultados de dissimilaridade da análise SIMPER, indicando quais táxons foram responsáveis pelas diferenças entre os tratamentos. Apenas os principais táxons são mostrados. % Diss = % de dissimilaridade do táxon; % Cum = % de dissimilaridade cumulativa. C= Controle, BC= Baixa concentração, AC= Alta concentração.

C X BC			C X AC			BC X AC		
Dissimilaridade média: 30,8%			Dissimilaridade média: 43%			Dissimilaridade média: 29,3%		
Táxons	% Diss	% Cum	Táxons	% Diss	% Cum	Táxons	% Diss	% Cum
<i>A. brasiliana</i>	9,04	9,04	<i>Tectidrilus</i> sp.	12,28	12,28	<i>Tectidrilus</i> sp.	23,50	23,50
<i>L. culveri</i>	8,74	17,78	<i>A. brasiliana</i>	10,61	22,89	<i>A. brasiliana</i>	10,00	33,51
<i>G. multidentis</i>	6,50	24,28	<i>L. culveri</i>	6,92	29,81	Capitellidae	9,64	43,14
Syllidae	6,28	30,56	Capitellidae	6,37	36,18	<i>P. steenstrupi</i>	7,56	50,71
<i>B. striata</i>	5,96	36,51	<i>P. steenstrupi</i>	6,25	42,43	<i>B. striata</i>	6,14	56,85
<i>S. fragilis</i>	5,31	41,82	<i>G. multidentis</i>	5,61	48,04	<i>H. australis</i>	5,60	62,44
<i>M. constricta</i>	4,42	46,24	Syllidae	4,71	52,75	Tubificinae	5,15	67,60

Os bivalves *A. brasiliana*, *S. fragilis* e *M. constricta*, os poliquetas *L. culveri*, *G. multidentis* e Syllidae, e o gastrópode *B. striata* foram os principais responsáveis pela separação entre Controle e BC com 46,24% de dissimilaridade acumulada. Na separação entre Controle e AC, os táxons mais representativos foram o oligoqueta *Tectidrilus* sp., o bivalve *A. brasiliana*, e os poliquetas *L. culveri*, Capitellidae, *P. steenstrupi*, *G. multidentis* e Syllidae, com 52,75% de dissimilaridade acumulada. A separação entre BC e AC ocorreu principalmente devido a *Tectidrilus* sp., *A. brasiliana*, Capitellidae e *P. steenstrupi*, que juntos acumularam 50,7% da dissimilaridade.

Adicionalmente, a rotina SIMPER foi utilizada para verificar quais organismos foram responsáveis pela similaridade do tratamento AC. Tubificinae e *Sigambra* sp. acumularam 52,4% da similaridade total, um indicativo de que são organismos tolerantes às concentrações analisadas.

Com base nos resultados da rotina SIMPER, foram realizadas análises de variância para os táxons responsáveis pela dissimilaridade entre os tratamentos e pela similaridade do tratamento AC (Tabela 9). Os organismos foram agrupados em (i) sensíveis, organismos que apresentaram alta mortalidade nas duas concentrações de óleo utilizadas; (ii) moderadamente tolerantes, organismos que apresentaram alta mortalidade no tratamento AC e relativa tolerância no tratamento BC; e (iii) tolerantes, organismos que não apresentaram mortalidade significativa quando expostos às concentrações de óleo utilizadas. Tubificinae e *Sigambra* sp. foram os únicos táxons que não apresentaram variabilidade significativa entre tratamentos nem tempos,

mostrando-se indiferentes às concentrações utilizadas neste estudo (Figura 12).

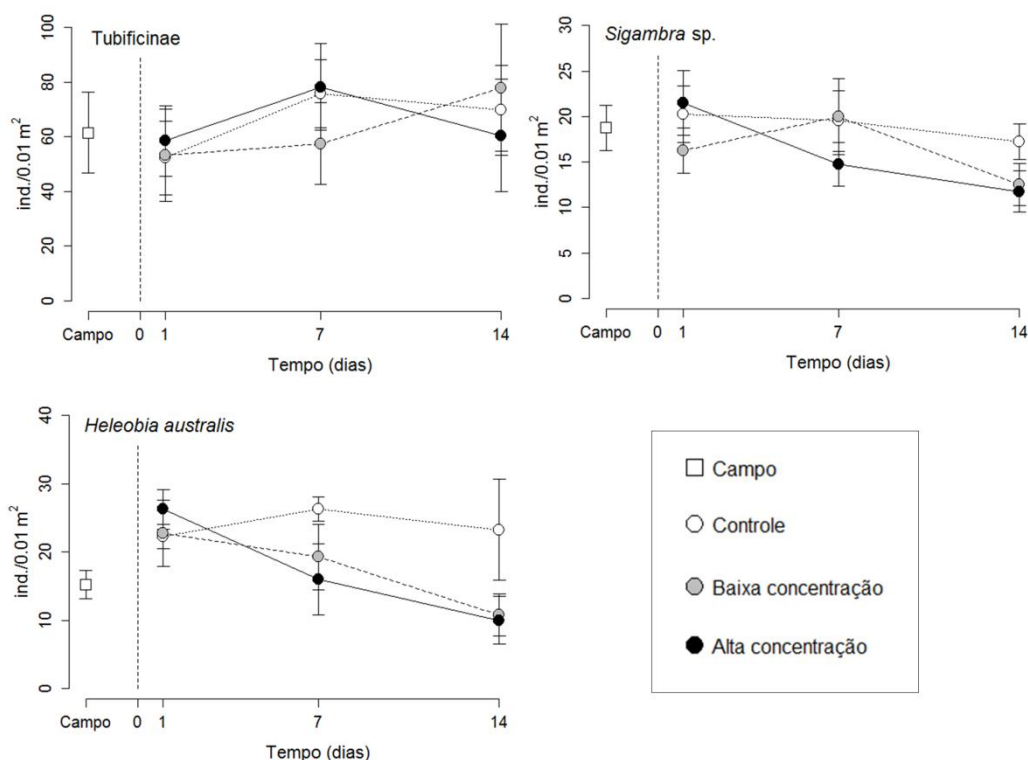


Figura 12: Densidades médias (\pm erro padrão, $n=4$) de Tubificinae, *Sigambra* sp. e *H. australis* encontradas em campo e nos tratamentos experimentais ao longo do estudo. O eixo x mostra o tempo de exposição ao óleo, em dias, a partir do início do experimento (Tempo 0).

Organismos da Subclasse Oligochaeta são conhecidos como oportunistas e tolerantes a contaminação e enriquecimento orgânico (Pearson & Rosenberg, 1978). Diversos autores observaram tolerância de oligoquetas à contaminação por óleo em ambientes marinhos (Gomez Gesteira & Dauvin, 2000; Ocon *et al.*, 2008). Estudos de toxicidade com oligoquetas de água doce demonstram que estes organismos apresentam mecanismos de detoxificação eficientes, podendo desenvolver rapidamente resistência a cádmio (Klerks & Levinton, 1989; Bouché *et al.*, 2000), e mecanismos de excreção de HPAs (Lyytikäinen *et al.*, 2007).

Poliquetas do gênero *Sigambra* são comumente encontrados em ambientes impactados por óleo (Peso-Aguiar *et al.*, 2000; Venturini & Tommasi, 2004; Venturini *et al.*, 2008). Sua tolerância às concentrações de óleo diesel utilizadas neste estudo sugere que estes organismos apresentam alguma capacidade de degradar e excretar os compostos tóxicos presentes no óleo,

semelhante ao demonstrado por Forbes *et al.* (1996) para poliquetas do gênero *Capitella*. Em um experimento manipulativo em campo, Faraco & Lana (2003) não observaram redução na densidade de *Sigambra grubii* em sedimentos de manguezal impactados com diesel, embora a densidade relativa destes organismos tenha sido baixa.

Tabela 9: Sumário dos resultados da ANOVA bifatorial e teste SNK para os táxons mais representativos, separados pelo grau de sensibilidade às concentrações adotadas. Diferenças significativas ($p < 0,05$) são mostradas em negrito. Os testes SNK foram realizados para os três níveis do tratamento: controle (C), baixa concentração (BC) e alta concentração (AC) e para os três tempos de exposição: 01, 07 e 14 dias. Níveis sublinhados juntos não apresentaram diferenças significativas. Quando a interação Tratamento-Tempo (Tr*Te) foi significativa, o teste de SNK foi realizado comparando cada nível de tratamento entre os tempos e cada tempo entre os níveis de tratamento. Para todas as ANOVA os graus de liberdade do resíduo foram = 27.

Sensíveis	Tratamentos (Tr) $df = 2$		Tempos (Te) $df = 2$		Tr*Te $df = 4$		SNK test ¹	
	F	p	F	p	F	p	Tr	Te
<i>A. brasiliiana</i> ²	39,37	0,000	29,83	0,000	9,46	0,000	Te-07,14: <u>C BC AC</u>	Tr-BC: <u>01 07 14</u> Tr-AC: <u>01 07 14</u>
<i>B. striata</i>	9,38	0,000	3,54	0,043	1,94	0,132	<u>C BC AC</u>	
<i>G. multidentis</i> ²	18,97	0,000	9,07	0,000	5,41	0,002	Te-07,14: <u>C BC AC</u>	Tr-BC,AC: <u>01 07 14</u>
<i>L. culveri</i> ²	56,37	0,000	53,91	0,000	9,21	0,000	Te-07,14: <u>C BC AC</u>	Tr-BC, AC: <u>01 07 14</u>
<i>M. constricta</i> ²	12,17	0,000	9,84	0,000	2,28	0,086	<u>C BC AC</u>	<u>01 07 14</u>
<i>S. fragilis</i>	7,44	0,002	5,66	0,008	1,16	0,346	<u>C BC AC</u>	<u>01 07 14</u>
Syllidae	6,45	0,005	8,32	0,001	4,02	0,010	Te-07,14: <u>C BC AC</u>	Tr-BC, AC: <u>01 07 14</u>
Mod. tolerantes								
Capitellidae	4,89	0,015	0,76	0,473	3,8	0,014	Te-07: <u>C BC AC</u> Te-14: <u>C BC AC</u>	Tr-AC: <u>01 07 14</u>
<i>P. steenstrupi</i>	18,22	0,000	1,25	0,300	1,21	0,326	<u>C BC AC</u>	
<i>Tectidrilus</i> sp.	23,7	0,000	11,5	0,000	5,78	0,001	Te-07: <u>C BC AC</u> Te-14: <u>C BC AC</u>	Tr-AC: <u>01 07 14</u>
Tolerantes								
<i>H. australis</i>	2,25	0,124	3,47	0,045	1,26	0,307		
<i>Sigambra</i> sp.	0,96	0,392	2,9	0,071	0,96	0,444		
Tubificinae	0,03	0,969	0,84	0,440	0,37	0,825		

¹ Apenas são mostradas comparações que apresentaram diferenças significativas entre níveis.

² Transformado com $\log(x+1)$ para atender normalidade e homogeneidade.

Os resultados sugerem que os táxons Tubificinae e *Sigambra* sp. são tolerantes à contaminação por óleo diesel, não apresentando mortalidade significativa ao longo de 14 dias submetidos a concentrações de HPAs Totais de até $48,50 \mu\text{g.g}^{-1}$.

H. australis foi o único táxon que apresentou diferença significativa entre os tempos de exposição, mas não entre tratamentos. Observando a Figura 12, nota-se que a densidade média do gastrópode em campo foi muito

inferior à encontrada em laboratório. Esta particularidade pode ser atribuída à distribuição agregada do organismo, refletindo em grande variabilidade entre réplicas no momento da coleta das amostras em campo (Muniz et al., 2012; Souza, 2012), mascarando qualquer possível efeito do tratamento experimental.

As densidades dos bivalves *M. constricta* e *S. fragilis* e do gastrópode *B. striata* variaram significativamente tanto entre os tratamentos quanto entre os tempos de exposição. O bivalve *A. brasiliana* e os poliquetas *G. multidentis*, *L. culveri*, e Syllidae apresentaram diferenças significativas na interação Tratamento-Tempo. Estas interações ocorreram porque a densidade destes organismos não variou significativamente entre os tratamentos no primeiro dia de experimento. Na Figura 13 é possível observar que, mesmo no tratamento BC, após 07 dias de experimento estes organismos já haviam morrido ou ocorriam em densidades muito inferiores às observadas no tratamento Controle, indicando alta sensibilidade a concentrações de HPAs Totais superiores a $28 \mu\text{g.g}^{-1}$.

Bivalves filtradores tendem a bioacumular os compostos presentes dissolvidos na água e no material particulado em suspensão, sendo mais suscetíveis aos efeitos nocivos de contaminantes como metais e hidrocarbonetos (Menon & Menon, 1999; Salas et al., 2006). Esta característica torna os bivalves bons monitores ambientais de regiões impactadas com derrames de óleo (Silva et al., 1997; Colombo et al., 2005, Carro et al., 2006). *Macoma constricta* foi sugerida por Peso-Aguiar (1995) como organismo biomonitor de contaminação por petróleo na Baía de Todos os Santos. Jewett et al. (1999) observaram que, mesmo seis anos após o derrame de óleo do petroleiro Exxon Valdez no Alasca, as densidades de bivalves infaunais eram superiores nas áreas de referência do que na região impactada. Grande mortalidade de bivalves também foi observada em estudos toxicológicos com metais (Stark, 1998), embora algumas espécies sejam consideradas tolerantes e concentrações experimentais de cobre e zinco (Fukunaga et al., 2010 e 2011).

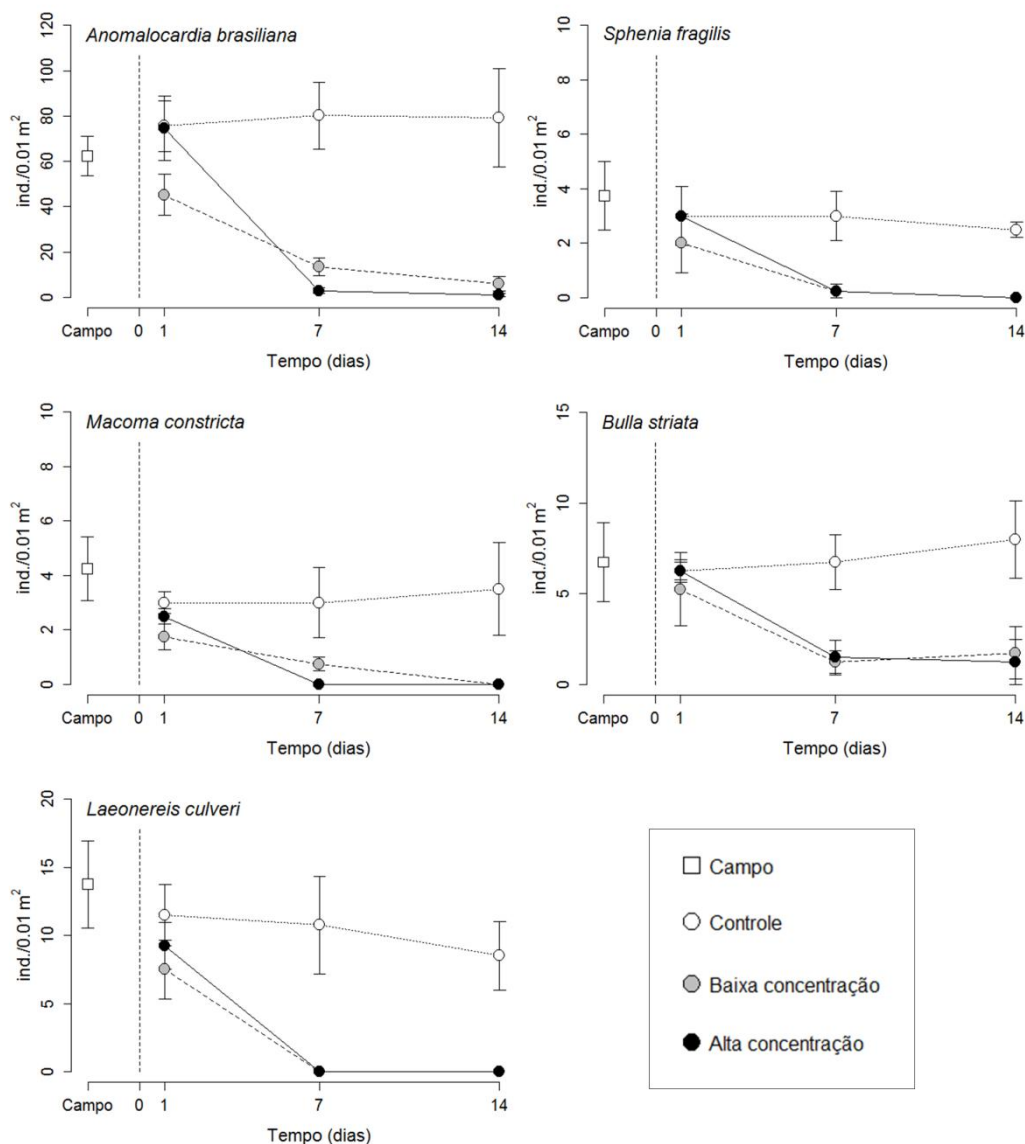


Figura 13: Densidades médias (\pm erro padrão, $n=4$) de *A. brasiliana*, *S. fragilis*, *M. constricta*, *B. striata* e *L. culveri* encontradas em campo e nos tratamentos experimentais ao longo do estudo. O eixo x mostra o tempo de exposição ao óleo, em dias, a partir do início do experimento (Tempo 0).

A alta mortalidade de *G. multidentis*, *L. culveri* e Syllidae após 07 dias de exposição ao óleo indica que seus mecanismos de detoxificação são menos eficientes que o observado em Tubificinae e *Sigambra* sp., tornando estes organismos sensíveis aos efeitos tóxicos da exposição aguda ao óleo. Entretanto, a literatura sugere que estes organismos são oportunistas, abundantes em regiões cronicamente impactadas, o que indica certo grau de tolerância (Dean, 2008; Venturini & Tommasi, 2004; Venturini *et al.*, 2008).

Estudos manipulativos em campo com simulação de derrame de óleo diesel observaram grande mortalidade de *G. multidentis* e *L. culveri*

imediatamente após o impacto, seguido de rápida recolonização destes organismos (Egres *et al.*, 2012). Além disso, Wolinski (2005) observou que a densidade de *L. culveri* ao final do experimento era cerca de 80% superior ao observado nas áreas de referência. Por serem carnívoros e necrófagos, estes poliquetas poderiam se beneficiar da mortalidade causada por impactos desta natureza.

A família Capitellidae (excluindo o gênero *Capitella* sp.), *P. steenstrupi* e *Tectidrilus* sp. apresentaram elevada mortalidade no tratamento AC, porém relativa tolerância ao tratamento BC. Não foram encontrados representantes destes táxons no tratamento AC do dia 07 em diante. Entretanto, no tratamento BC a densidade de Capitellidae permaneceu inalterada ao longo do experimento, enquanto as densidades de *P. steenstrupi* e *Tectidrilus* sp. foram reduzidas à metade após 14 dias de exposição.

Observando a evolução de transferência de hidrocarbonetos para os sedimentos (Figura 9) percebe-se que, após 07 dias de exposição, as concentrações de HPAs nos sedimentos eram praticamente iguais entre os tratamentos BC e AC. Entretanto, estes organismos apresentaram respostas diferentes entre os tratamentos (Figura 14). É importante considerar que as análises de hidrocarbonetos foram realizadas apenas no sedimento, não contemplando a fração de óleo dissolvida na água. Observando as concentrações de HPAs após 14 dias de exposição, nota-se que as concentrações de HPAs em BC se mantiveram estáveis, enquanto em AC houve aumento progressivo. Desta forma, a mortalidade diferenciada observada entre os tratamentos após 07 dias ocorreu provavelmente devido à maior toxicidade da água em AC.

Spionidae e Capitellidae são famílias de poliquetas oportunistas, capazes de colonizar ambientes impactados, e são consideradas indicadores positivos de poluição (Giangrande *et al.*, 2005; Dean, 2008). Em áreas impactadas, o aumento da população de microrganismos que degradam os hidrocarbonetos beneficia organismos oportunistas, através da maior disponibilidade de alimento (Gomez Gestera *et al.*, 2005). Lu & Wu (2006) observaram que capitelídeos são capazes de colonizar rapidamente sedimentos defaunados impactados com óleo diesel em concentrações de 5 $\mu\text{g.g}^{-1}$.

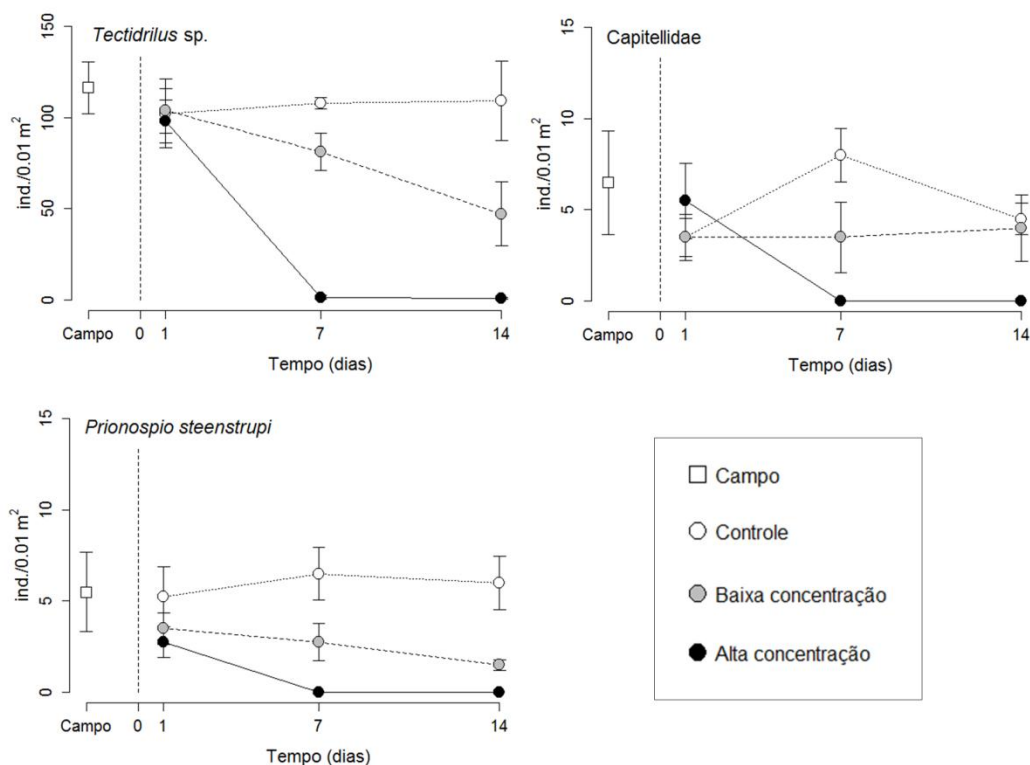


Figura 14: Densidades médias (\pm erro padrão, $n=4$) de *Tectidrilus* sp., *Capitellidae* e *P. steenstrupi* encontradas em campo e nos tratamentos experimentais ao longo do estudo. O eixo x mostra o tempo de exposição ao óleo, em dias, a partir do início do experimento (Tempo 0).

De acordo com Valença *et al.* (2012), oligoquetas do gênero *Tectidrilus* são associados a ambientes não impactados em estuários da região nordeste do Brasil. O gênero está inserido no Grupo Ecológico II do índice AMBI (Borja *et al.*, 2000), composto por espécies indiferentes ao enriquecimento orgânico. Em um extenso trabalho comparando a tolerância de 12 espécies de oligoquetas a diversos contaminantes e fatores ambientais, Chapman *et al.* (1982) concluíram que o representante do gênero *Tectidrilus* (*Limnodriloides verrucosus*, revisto posteriormente como *Tectidrilus diversus*) apresentou maior sensibilidade. No presente estudo *Tectidrilus* sp. foi mais sensível que os outros oligoquetas, agrupados na subfamília Tubificinae. Entretanto, o gênero se mostrou mais tolerante que outros organismos macrobênticos, como bivalves e alguns poliquetas.

É importante considerar que a distribuição espacial do macrobentos de substratos inconsolidados é altamente heterogênea (Morrisey *et al.*, 1992; Chapman *et al.*, 2010). Desta forma, manipulações experimentais em laboratório ou campo estão sujeitas a variações naturais na densidade de

organismos entre réplicas e tratamentos, mascarando os efeitos das variáveis de interesse e levando a interpretações errôneas. Neste estudo, buscou-se minimizar a variabilidade espacial coletando todas as amostras em uma área restrita (aproximadamente um metro quadrado). Outro fator com potencial para mascarar os resultados foi o procedimento de fixação das amostras antes da triagem, que pode ter superestimado o número de organismos vivos no momento da fixação, principalmente no primeiro dia de experimento.

A ausência de variação de maré e fluxo contínuo de água nos frascos reduziu o realismo do estudo para comparações com experimentos manipulativos em campo ou derrames acidentais, uma vez que os organismos permaneceram confinados junto ao contaminante, expostos à fração tóxica dissolvida, concentrada no pequeno volume de água utilizado. Entretanto, o método adotado permitiu excluir os demais processos que influenciariam a análise dos efeitos do óleo diesel sobre a macrofauna bêntica em campo, como recrutamento, migração lateral e dispersão do poluente.

As elevadas concentrações de hidrocarbonetos alifáticos e policíclicos aromáticos observadas nos frascos Controle ocorreram, provavelmente, devido a contaminação cruzada entre tratamentos. Os compressores que aeravam os frascos podem ter injetado nos frascos Controle os compostos volatilizados a partir dos tratamentos experimentais. Entretanto, as análises demonstraram que a fauna não foi afetada pela contaminação cruzada. Este problema poderia ter sido evitado se os compressores ficassem alocados em uma área externa, ou se o óleo utilizado tivesse sido previamente intemperizado.

4 CONCLUSÃO

O experimento demonstrou que a exposição ao óleo diesel causou modificações na estrutura das associações macrobênticas de entremarés. O tempo de exposição intensificou os efeitos do contaminante, levando à redução da densidade, riqueza de espécies e diversidade nos tratamentos que receberam adição de óleo. A comparação entre a fauna encontrada em campo e o tratamento controle revelou que não houve um “efeito de laboratório” significativo, decorrente dos processos manipulativos realizados durante o experimento. Foi possível identificar espécies particularmente sensíveis ou tolerantes aos efeitos tóxicos do óleo diesel. Os organismos mais afetados foram os bivalves *Anomalocardia brasiliiana*, *Macoma constricta* e *Sphenia fragilis*, o gastrópode *Bulla striata* e os poliquetas *Glycinde multidentis*, *Laeonereis culveri* e Syllidae. Os poliquetas Capitellidae e *Prionospio steenstrupi* e o gênero de oligoqueta *Tectidrilus* apresentaram tolerância ao tratamento de baixa concentração. Os demais oligoquetas da subfamília Tubificinae e poliquetas *Sigambra* sp. não foram afetados pela exposição ao óleo diesel nas concentrações adotadas no experimento.

5 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

BALTHIS, W. L.; HYLAND, J. L.; FULTON, M. H.; PENNINGTON P. L.; COOKSEY, C.; KEY, P. B.; DELORENZO, M. E.; WIRTH, E. F. Effects of chemically spiked sediments on estuarine benthic communities: a controlled mesocosm study. **Environmental Monitoring and Assessment**, v. 161, n. 1-4, p. 191-203, 2010.

BENTO, D. **Análise química da degradação dos hidrocarbonetos de óleo diesel no estuário da lagoa dos patos–Rio Grande**. Dissertação (Mestrado). Universidade Federal do Rio Grande. 2005.

BHATTACHARYYA, S.; KLERKS, P. L.; NYMAN, J. A. Toxicity to freshwater organisms from oils and oil spill chemical treatments in laboratory microcosms. **Environmental Pollution**, v. 122, n. 2, p. 205-215, 2003.

BORJA, A.; DAUER, D. M. Assessing the environmental quality status in estuarine and coastal systems: Comparing methodologies and indices. **Ecological Indicators**, v. 8, n. 4, p. 331-337, 2008.

BORJA, A.; FRANCO, J.; PÉREZ, V. A marine biotic index to establish the ecological quality of soft-bottom benthos within European estuarine and coastal environments. **Marine Pollution Bulletin**, v. 40, n. 12, 2000.

BOUCHÉ, M. L.; HABETS, F.; BIAGIANTI-RISBOURG, S.; VERNET, G. Toxic effects and bioaccumulation of cadmium in the aquatic oligochaete *Tubifex tubifex*. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 46, n. 3, p. 246-251, 2000.

BOULOUBASSI, I.; SALIOT, A. Investigation of anthropogenic and natural organic inputs in estuarine sediments using hydrocarbon markers (NAH, LAB, PAH). **Oceanologica Acta**, v. 16, p. 145-161, 1993.

BURGOS, M. G.; RAINBOW, P. S. Uptake, Accumulation and Excretion by *Corophium volutator* (Crustacea: Amphipoda) of Zinc, Cadmium and Cobalt Added to Sewage Sludge. **Estuarine, Coastal and Shelf Science**, v. 1, p. 603-620, 1998.

CARMAN, K. R.; FLEEGER, J. W.; POMARICO, S. M. Does historical exposure to hydrocarbon contamination alter the response of benthic communities to diesel contamination? **Marine Environmental Research**, v. 49, n. 3, p. 255-278, 2000.

CARRO, N.; COBAS, J.; MANEIRO, J. Distribution of aliphatic compounds in bivalve mollusks from Galicia after the Prestige oil spill: spatial and temporal trends. **Environmental Research**, v. 100, n. 3, p. 339-348, 2006.

CHAPMAN, M. G.; TOLHURST, T. J.; MURPHY, R. J.; UNDERWOOD, A. J. Complex and inconsistent patterns of variation in benthos, micro-algae and sediment over multiple spatial scales. **Marine Ecology Progress Series**, v. 398, p. 33-47, 2010.

CHAPMAN, P. M.; FARRELL, M. A.; BRINKHURST, R. O. Relative tolerances of selected aquatic oligochaetes to individual pollutants and environmental factors. **Aquatic toxicology**, v. 2, p. 47-61, 1982.

CLARK, R. B. **Marine Pollution**. Oxford University Press, 5th ed. 2001.

CLARKE, K. R.; WARWICK, R. M. **Change in marine communities: an approach to statistical analysis and interpretation**, 2nd edition. PRIMER-E, Plymouth. 2001.

COLOMBO, J. C.; BARREDA, A.; BILOS, C.; CAPPELLETI, N.; DEMICHELIS, S.; Lombardi, P.; Migoya, M. C.; SKORUPKA, C.; SUÁREZ, G. Oil spill in the Rio de la Plata estuary, Argentina:

1. Biogeochemical assessment of waters, sediments, soils and biota. **Environmental Pollution**, v. 134, n. 2, p. 277-289, 2005.

CONTENTE, R. F.; STEFANONI, M. F.; SPACH, H. L. Fish assemblage structure in an estuary of the Atlantic Forest biodiversity hotspot (southern Brazil). **Ichthyological Research**, v. 58, n. 1, p. 38-50, 2010.

DALE, V. H.; BEYELER, S. C. Challenges in the development and use of ecological indicators. **Ecological Indicators**, v. 1, n. 1, p. 3-10, 2001.

DAUVIN, J. C.; ALIZIER, S.; ROLET, C.; BAKALEM, A.; BELLAN, G.; GOMEZ GESTEIRA, J. L.; GRIMES, S.; DE-LA-OSSA-CARRETERO, J. A.; DEL-PILAR-RUSO, Y. Response of different benthic indices to diverse human pressures. **Ecological Indicators**, v. 12, n. 1, p. 143-153, 2012.

DAUVIN, J. C.; BELLAN, G.; BELLAN-SANTINI, D. Benthic indicators: From subjectivity to objectivity - Where is the line? **Marine pollution bulletin**, v. 60, n. 7, p. 947-953, 2010.

DEAN, H. K. The use of polychaetes (Annelida) as indicator species of marine pollution: a review. **Revista de Biologia Tropical**, v. 56, p. 11-38, 2008.

DIDYK, B. M.; SIMONEIT, B. R. T.; ALVARO PEZOA, L.; LUIS RIVEROS, M.; ANSELMO FLORES, A. Urban aerosol particles of Santiago, Chile:: organic content and molecular characterization. **Atmospheric Environment**, v. 34, p. 1167-1179, 2000.

EGRES, A. G.; MARTINS, C. C.; OLIVEIRA, V. M.; LANA, P. C. Effects of an experimental in situ diesel oil spill on the benthic community of unvegetated tidal flats in a subtropical estuary (Paranaguá Bay, Brazil), **Marine Pollution Bulletin**, v. 64, n. 12, p. 2681-2691, 2012.

FALLER, D. G. Aplicação de modelos de inteligência artificial na predição e análise espacial da macrofauna bêntica. Dissertação (Mestrado). Universidade Federal do Paraná. Pontal do Paraná. 2012.

FARACO, L. F. D.; LANA, P. C. Response of polychaetes to oil spills in natural and defaunated subtropical mangrove sediments from Paranaguá bay (SE Brazil). **Hydrobiologia**, v. 496, p. 321-328, 2003.

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

FLEMER, D. A.; RUTH, B. F.; BUNDRICK, C. M.; MOORE, J. C. Laboratory effects of microcosm size and the pesticide chlorpyrifos on benthic macroinvertebrate colonization of soft estuarine sediments. **Marine Environmental Research**, v. 36, n. 96, p. 243-263, 1997.

FOLK, R.; WARD, W. Brazos River bar: a study in the significance of grain size parameters. **Journal of Sedimentary petrology**, v. 27, n. 1, p. 3-26, 1957.

FORBES, V. E.; FORBES, T. L.; HOLMER, M. Inducible metabolism of fluoranthene by the opportunistic polychaete *Capitella* sp. I. **Marine Ecology Progress Series**, v. 132, p. 63-70, 1996.

FUKUNAGA, A.; ANDERSON, M. J.; WEBSTER-BROWN, J. G. Assessing the nature of the combined effects of copper and zinc on estuarine infaunal communities. **Environmental Pollution**, v. 159, n. 1, p. 116-124, 2011.

FUKUNAGA, A., ANDERSON, M. J., WEBSTER-BROWN, J. G., FORD, R. B. Individual and combined effects of heavy metals on estuarine infaunal communities. **Marine Ecology Progress Series**. v. 402, p. 123-136. 2010.

GIANGRANDE, A.; LICCIANO, M.; MUSCO, L. Polychaetes as environmental indicators revisited. **Marine Pollution Bulletin**, v. 50, n. 11, p. 1153-1162, 2005.

- GILBERT, E. R.; CAMARGO, M. G.; SANDRINI-NETO, L. **rysgran: Grain size analysis, textural classifications and distribution of unconsolidated sediments**. R package version 2.0. <http://CRAN.R-project.org/package=rysgran>. 2012.
- GLASBY, T. M.; UNDERWOOD, A. J. Sampling to differentiate between pulse and press perturbations. **Environmental Monitoring and Assessment**, v. 42, p. 241-252, 1996.
- GOMEZ GESTEIRA, J. L.; DAUVIN, J. C. Impact of the Aegean Sea oil spill on the subtidal fine sand macrobenthic community of the Ares-Betanzos Ria (Northwest Spain). **Marine Environmental Research**, v. 60, n. 3, p. 289-316, 2005.
- GOMEZ GESTEIRA, J. L.; DAUVIN, J. C. Amphipods are good bioindicators of the impact of oil spills on soft-bottom macrobenthic communities. **Marine Pollution Bulletin**, v. 40, n. 11, p. 1017-1027, 2000.
- GOODSELL, P. J.; UNDERWOOD, A. J.; CHAPMAN, M. G. Evidence necessary for taxa to be reliable indicators of environmental conditions or impacts. **Marine pollution bulletin**, v. 58, n. 3, p. 323-331, 2009.
- GRASSHOFF, K.; EHRHARDT, M.; KREMLING, K. **Methods of seawater analysis**. 2nd ed. Weinheim, Verlag Chemie, 419p. 1983.
- GÜNTHER, C. Dispersal of intertidal invertebrates: a strategy to react to disturbance of different scales? **Netherlands Journal of Sea Research**, v. 56, p. 45-56, 1992.
- HYLAND, J.; BALTHIS, L.; KARAKASSIS, I.; MAGNI, P.; PETROV, A.; SHINE, J.; VESTERGAARD, O.; WARWICK, R. Organic carbon content of sediments as an indicator of stress in the marine benthos. **Marine Ecology Progress Series**, v. 295, p. 91-103, 2005.
- JEWETT, S. C.; DEAN, T. A.; SMITH, R. O.; BLANCHARDL, A. "Exxon Valdez" oil spill : impacts and recovery in the soft-bottom benthic community in and adjacent to eelgrass beds. **Marine Ecology Progress Series**, v. 185, p. 59-83, 1999.
- JOHNSTON, E. L.; KEOUGH, M. J. Reduction of pollution impacts through the control of toxicant release rate must be site- and season-specific. **Journal of Experimental Marine Biology and Ecology**, v. 320, n. 1, p. 9-33, 2005.
- KALMAN, J.; SMITH, B. D.; RIBA, I.; BLASCO, J.; RAINBOW, P. S. Biodynamic modelling of the accumulation of Ag, Cd and Zn by the deposit-feeding polychaete *Nereis diversicolor*: inter-population variability and a generalised predictive model. **Marine Environmental Research**, v. 69, n. 5, p. 363-373, 2010.
- KENNISH, M. J. Environmental threats and environmental future of estuaries. **Environmental Conservation**, v. 29, n. 01, p. 78-107, 2002.
- KLERKS, P. L.; LEVINTON, J. S. Rapid evolution of metal resistance in a benthic oligochaete inhabiting a metal-polluted site. **The Biological Bulletin**, v. 176, p. 135-141, 1989.
- LANA, P. C.; MARONE, E.; LOPES, R. M.; MACHADO, E. The Subtropical Estuarine Complex Of Paranagua Bay, Brazil.pdf. In: Seelinger, U.; Lacerda, L.; Kjerfve, B. (Eds.); **Coastal Marine Ecosystems of Latin America**. p.131-145, 2001.
- LINDEGARTH, M.; UNDERWOOD, A. J. A manipulative experiment to evaluate predicted changes in intertidal , macro-faunal assemblages after contamination by heavy metals. **Journal of Experimental Marine Biology and Ecology**, v. 274, p. 41-64, 2002.
- LONG, E. R.; MACDONALD, D. D.; SMITH, S. L.; CALDER, F. D. Incidence of Adverse Biological Effects Within Ranges of Chemical Concentrations in Marine and Estuarine Sediments. **Environmental Management**, v. 19, n. 1, p. 81-97, 1995.

- LU, L.; WU, R. S. S. A field experimental study on recolonization and succession of macrobenthic infauna in defaunated sediment contaminated with petroleum hydrocarbons. **Estuarine, Coastal and Shelf Science**, v. 68, n. 3-4, p. 627-634, 2006.
- LYTLE, D. A.; PECKARSKY, B. L. Spatial and temporal impacts of a diesel fuel spill on stream invertebrates. **Freshwater Biology**, v. 46, p. 693-704, 2001.
- LYYTIKÄINEN, M.; PEHKONEN, S.; AKKANEN, J.; LEPPÄNEN, M.; KUKKONEN, J. V. K. Bioaccumulation and biotransformation of polycyclic aromatic hydrocarbons during sediment tests with oligochaetes (*Lumbriculus variegatus*). **Environmental Toxicology and Chemistry**, v. 26, n. 12, p. 2660-2666, 2007.
- MARTINS, C. C.; BRAUN, J. A. F.; SEYFFERT, B. H.; MACHADO, E. C.; FILLMANN, G. Anthropogenic organic matter inputs indicated by sedimentary fecal steroids in a large South American tropical estuary (Paranaguá estuarine system, Brazil). **Marine Pollution Bulletin**, v. 60, n. 11, p. 2137-2143, 2010.
- MENON, N. N.; MENON, N. R. Uptake of polycyclic aromatic hydrocarbons from suspended oil borne sediments by the marine bivalve *Sunetta scripta*. **Aquatic Toxicology**, v. 45, n. 1, p. 63-69, 1999.
- MOHN, W. W.; STEWART, G. R. Limiting factors for hydrocarbon biodegradation at low temperature in Arctic soils. **Soil Biology and Biochemistry**, v. 32, n. 8-9, p. 1161-1172, 2000.
- MORRISEY, D. J.; HOWITT, L.; UNDERWOOD, A. J.; STARK, J. S. Spatial variation in soft-sediment benthos. **Marine Ecology Progress Series**, v. 81, p. 197-204, 1992.
- MUNIZ, P.; HUTTON, M.; KANDRATAVICIUS, N.; LANFRANCONI, A.; BRUGNOLI, E.; VENTURINI, N.; GIMENEZ, L. Performance of biotic indices in naturally stressed estuarine environments on the Southwestern Atlantic coast (Uruguay): A multiple scale approach. **Ecological Indicators**, v. 19, p. 89-97, 2012.
- NEUBAUER FILHO, A. **Valoração do impacto do derramamento de produtos químicos na Baía de Paranaguá**. Dissertação (Mestrado). Instituto de tecnologia para o Desenvolvimento. Curitiba. 2009.
- NOTAR, M.; LESKOVSEK, H.; FAGANELI, J. Composition, distribution and sources of polycyclic aromatic hydrocarbons in sediments of the Gulf of Trieste, Northern Adriatic Sea. **Marine Pollution Bulletin**, v. 42, n. 1, p. 36-44, 2001.
- NRC – NATIONAL RESEARCH CONCIL. **Oil in the Sea III, Inputs, Fates and Effects**. Washington DC. National Academy Press. 2003.
- OCÓN, C. S.; RODRIGUES CAPÍTULO, A.; PAGGI, A. C. Evaluation of zoobenthic assemblages and recovery following petroleum spill in a coastal area of Río de la Plata estuarine system, South America. **Environmental Pollution**, v. 156, n. 1, p. 82-89, 2008.
- OKSANEN, J.; GUILLAUME BLANCHET, F.; KINDT, R.; LEGENDRE, P.; MINCHIN, P. R.; O'HARA, R. B.; SIMPSON, G. L.; SOLYMOS, P.; HENRY, M.; STEVENS, H.; WAGNER, H. **vegan: Community Ecology Package**. R package version 2.0-5. <http://CRAN.R-project.org/package=vegan>. 2012.
- PATRÍCIO, J.; MAGALHÃES NETO, J.; TEIXEIRA, H.; SALAS, F.; MARQUES, J. C. The robustness of ecological indicators to detect long-term changes in the macrobenthos of estuarine systems. **Marine Environmental Research**, v. 68, n. 1, p. 25-36, 2009.
- PEARSON, T.H.; ROSENBERG, R. Macrobenthic succession in relation to organic enrichment and pollution of the marine environment. **Oceanography and Marine Biology: An Annual Review**. v.16, p.229–311. 1978.

PESO-AGUIAR, M. C.; SMITH, D. H.; ASSIS, R. C. F.; SANTA-ISABEL, L. M.; PEIXINHO, S.; GOUVEIA, E. P.; ALMEIDA, T. C. A., ANDRADE, W. S.; CARQUEIJA, C. R. G.; KELMO, F.; CARROZO, G.; RODRIGUES, C. V.; CARVALHO, G. C.; JESUS, A. C. S. Effects of petroleum and its derivatives in benthic communities at Baía de Todos os Santos/Todos os Santos Bay, Bahia, Brazil. **Aquatic Ecosystem Health & Management**. v.3, p.459-470. 2000.

PESO-AGUIAR, M. C. **Macoma constricta (Bruguière, 1792) (Bivalvia, Tellinidae) como biomonitor da presença crônica do petróleo na Baía de Todos os Santos (BA)**. Tese (doutorado). Universidade Federal de São Carlos. São Carlos. 1995.

R CORE TEAM. R: **A language and environment for statistical computing**. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. ISBN 3-900051-07-0, URL <http://www.R-project.org/>. 2012.

SALAS, F.; MARCOS, C.; NETO, J. M.; PATRÍCIO, J.; PÉREZ-RUZAFÁ, A.; MARQUES, J. C. User-friendly guide for using benthic ecological indicators in coastal and marine quality assessment. **Ocean & Coastal Management**, v. 49, n. 5-6, p. 308-331, 2006.

SANDRINI-NETO, L. & CAMARGO, M.G. **GAD: an R package for ANOVA designs from general principles**. R package version 1.1.1. <http://CRAN.R-project.org/package=GAD>. 2012.

SANZ-LÁZARO, C.; MARÍN, A. A manipulative field experiment to evaluate an integrative methodology for assessing sediment pollution in estuarine ecosystems. **Science of the Total Environment**, v. 407, n. 11, p. 3510-3517, 2009.

SEYFFERT, B. H. **Distribuição e identificação das principais fontes naturais e antrópicas de hidrocarbonetos e esteroides no Complexo Estuarino de Paranaguá (Paraná, BR)**. Tese (Doutorado). Universidade Federal do Rio Grande. 2008.

SHIN, P. K. S.; CHEUNG, C. K. C.; CHEUNG, S. G. Effects of nitrogen and sulphide on macroinfaunal community: a microcosm study. **Marine Pollution Bulletin**, v. 52, n. 11, p. 1333-1339, 2006.

SILVA, E. D.; PESO-AGUIAR, M. C.; NAVARRO, M. F. T.; CHASTINET, C. B. A. Impact of petroleum pollution on aquatic coastal ecosystems in Brazil. **Environmental Toxicology and Chemistry**, v. 16, n. 1, p. 112-118, 1997.

SOUZA, F. M. **Variabilidade espaço-temporal da Macrofauna Bêntica em Baixios Entremarés sob influência de efluentes urbanos**. Dissertação (Mestrado). Universidade Federal do Paraná. Pontal do Paraná. 2012.

STARK, J. S. Effects of copper on macrobenthic assemblages in soft sediments: a laboratory experimental study. **Ecotoxicology**, v. 7, p. 161-173, 1998.

STEPANOVA, N. Y.; LATYPOVA, V. Z.; Ratushnyak, A. A.; Trushin, M. V. The Effect of Sediment Type and Toxicity of Crude Oil-Spiked Sediments to *Paramecium caudatum*. **American-Eurasian Journal of Agricultural & Environmental Science**, v. 11, n. 4, p. 490-494, 2011.

STRICKLAND, J. D. H.; PARSONS, T. R. **A practical handbook of seawater analysis**. Bulletin of the Fisheries Research Board, Canada, v. 167, 310p. 1972.

UNDERWOOD, A. J.; PETERSON, C. H. Towards an ecological framework for investigating pollution. **Marine Ecology Progress Series**, v. 46, p. 227-234, 1988.

VALENÇA, A. P. M. C.; SANTOS, P. J. P. Macrobenthic community for assessment of estuarine health in tropical areas (Northeast, Brazil): review of macrofauna classification in ecological groups and application of AZTI Marine Biotic Index. **Marine pollution bulletin**, v. 64, n. 9, p. 1809-1820, 2012.

VENTURINI, N.; MUNIZ, P.; BÍCEGO, M. C.; MARTINS, C. C.; TOMMASI, L. R. Petroleum contamination impact on macrobenthic communities under the influence of an oil refinery: Integrating chemical and biological multivariate data. **Estuarine, Coastal and Shelf Science**, v. 78, n. 3, p. 457-467, 2008.

VENTURINI, N.; TOMMASI, L. R. Polycyclic aromatic hydrocarbons and changes in the trophic structure of polychaete assemblages in sediments of Todos os Santos Bay, Northeastern, Brazil. **Marine Pollution Bulletin**, v. 48, n. 1-2, p. 97-107, 2004.

VIGNATI, D.; FERRARI, B.; DOMINIK, J. Laboratory-to-field extrapolation in aquatic sciences. **Environmental Science & Technology** p. 1067-1073, 2007.

VOLKMAN, J. K.; HOLDSWORTH, D. G.; NEILL, G. P.; BAVOR, H. J. Identification of natural, anthropogenic and petroleum hydrocarbons in aquatic sediments. **The Science of the total environment**, v. 112, n. 2-3, p. 203-219, 1992.

WARWICK, R. M.; CLARKE, K. R. Relearning the ABC: taxonomic changes and abundance/biomass relationships in disturbed benthic communities. **Marine Biology**, v. 744, p. 739-744, 1994.

WILKIE, E. M.; ROACH, A. C.; MICEVSKA, T.; KELAHER, B. P.; BISHOP, M. J. Effects of a chelating resin on metal bioavailability and toxicity to estuarine invertebrates: divergent results of field and laboratory tests. **Environmental Pollution**, v. 158, n. 5, p. 1261-1269, 2010.

WOLINSKI, A. L. T. O. **Impactos do derrame de óleo bunker e óleo diesel sobre a macrofauna benthica de uma marisma**. Pontal do Paraná. Monografia (Bacharelado em Oceanografia). Universidade Federal do Paraná. Pontal do Paraná. 2005.

6 ANEXOS

Anexo 1: Densidade média (indivíduos/ 0,01m²) ± desvio padrão (n=4) dos táxons mais representativos no estudo (≈95% da abundância acumulada).

Tratamentos	Campo	Controle			Baixa Conc.			Alta Conc.		
	-	01	07	14	01	07	14	01	07	14
Tempos (dias)										
<i>Tectidrilus</i> sp.	116,50 ±14,15	102,25 ±18,82	108,00 ±3,08	109,25 ±21,62	103,75 ±12,26	81,25 ±10,11	47,25 ±17,68	98,00 ±11,85	1,50 ±1,19	1,00 ±0,41
<i>Anomalocardia brasiliiana</i>	62,25 ±8,63	75,50 ±11,06	80,25 ±14,75	79,25 ±21,63	45,25 ±9,00	13,50 ±3,95	6,00 ±3,16	74,50 ±14,23	3,00 ±1,22	1,00 ±0,71
Tubificinae	61,50 ±14,80	52,25 ±13,52	75,75 ±12,50	69,75 ±16,35	53,25 ±16,88	57,50 ±14,93	78,00 ±23,31	58,50 ±12,90	78,25 ±15,85	60,50 ±20,55
<i>Heleobia australis</i>	15,25 ±2,10	22,25 ±1,80	26,25 ±1,80	23,25 ±7,40	22,75 ±4,82	19,25 ±4,77	10,75 ±3,07	26,25 ±2,93	16,00 ±5,24	10,00 ±3,49
<i>Sigambra</i> sp.	18,75 ±2,50	20,25 ±3,15	19,50 ±3,30	17,25 ±1,93	16,25 ±2,50	20,00 ±4,18	12,50 ±2,33	21,50 ±3,52	14,75 ±2,43	11,75 ±2,29
<i>Laeonereis culveri</i>	13,75 ±3,20	11,50 ±2,25	10,75 ±3,57	8,50 ±2,53	7,50 ±2,18	-	-	9,25 ±1,70	-	-
<i>Bulla striata</i>	6,75 ±2,17	6,25 ±0,48	6,75 ±1,49	8,00 ±2,12	5,25 ±2,02	1,25 ±0,63	1,75 ±1,44	6,25 ±0,63	1,50 ±0,96	1,25 ±1,25
<i>Prionospio steenstrupi</i>	5,50 ±2,18	5,25 ±1,65	6,50 ±1,44	6,00 ±1,47	3,50 ±0,87	2,75 ±1,03	1,50 ±0,29	2,75 ±0,85	-	-
Capitellidae	6,50 ±2,84	3,50 ±1,26	8,00 ±1,47	4,50 ±0,87	3,50 ±1,04	3,50 ±1,94	4,00 ±1,83	5,50 ±2,06	-	-
<i>Glycinde multidens</i>	4,50 ±1,94	2,75 ±0,75	4,25 ±2,10	6,00 ±1,08	2,75 ±0,63	-	-	3,50 ±1,26	-	-
Syllidae	3,75 ±2,25	3,75 ±1,03	6,75 ±1,97	2,25 ±0,63	4,25 ±1,84	0,25 ±0,25	-	4,75 ±1,03	0,25 ±0,25	-
<i>Macoma constricta</i>	4,25 ±1,18	3,00 ±0,41	3,00 ±1,29	3,50 ±1,71	1,75 ±0,48	0,75 ±0,25	-	2,50 ±0,29	-	-
<i>Sphenia fragilis</i>	3,75 ±1,25	3,00 ±1,08	3,00 ±0,91	2,50 ±0,29	2,00 ±1,08	0,25 ±0,25	-	3,00 ±1,08	0,25 ±0,25	-

Anexo 2: Concentrações de Hidrocarbonetos Alifáticos (em $\mu\text{g.g}^{-1}$). <LDM = abaixo do limite de detecção.
(Continua na próxima página).

Tratamentos Tempos (dias)	Campo	Controle			Baixa Conc.			Alta Conc.		
	-	01	07	14	01	07	14	01	07	14
n-Alcanos										
n-C10	0,025	0,050	0,043	0,079	0,018	0,024	< LDM	0,078	0,060	< LDM
n-C11	0,061	0,146	0,100	0,132	0,063	0,054	0,006	0,171	0,102	0,013
n-C12	0,130	0,210	0,125	0,190	0,233	0,116	0,049	0,379	0,422	0,144
n-C13	0,597	0,664	0,706	1,230	1,444	0,940	0,484	1,585	2,398	0,820
n-C14	1,102	0,946	2,782	5,660	3,239	3,957	3,069	5,289	7,154	2,304
n-C15	1,252	0,851	5,181	11,00	3,974	9,725	11,09	9,009	13,07	6,144
n-C16	0,636	0,470	3,814	8,774	2,758	13,66	15,87	6,844	13,62	18,27
n-C17	0,442	0,368	2,222	4,183	2,506	16,67	15,45	4,449	13,07	39,24
n-C18	0,147	0,113	0,658	1,259	1,524	12,96	10,64	2,411	9,202	33,17
n-C19	0,079	0,057	0,301	0,572	1,212	12,47	9,818	1,850	8,129	29,06
n-C20	0,026	0,015	0,107	0,183	1,024	10,41	7,820	1,464	6,079	18,61
n-C21	0,045	0,035	0,081	0,127	0,962	8,392	7,077	1,160	5,587	16,90
n-C22	0,025	0,021	0,040	0,055	0,738	6,333	5,670	0,881	4,547	13,37
n-C23	0,041	0,044	0,043	0,066	0,667	5,762	5,019	0,770	3,960	11,50
n-C24	0,033	0,037	0,031	0,051	0,597	4,737	4,234	0,647	3,550	9,938
n-C25	0,071	0,105	0,068	0,099	0,553	3,616	3,309	0,565	2,626	7,364
n-C26	0,021	0,029	0,014	0,021	0,349	2,314	2,020	0,313	1,687	5,006
n-C27	0,114	0,180	0,109	0,174	0,416	1,774	1,768	0,398	1,411	3,636
n-C28	0,030	0,045	0,026	0,051	0,228	1,485	1,366	0,252	1,126	3,324
n-C29	0,228	0,350	0,211	0,339	0,518	1,396	1,257	0,595	1,212	2,363
n-C30	0,039	0,057	0,036	0,064	0,126	0,517	0,445	0,116	0,426	1,153
n-C31	0,120	0,180	0,092	0,174	0,205	0,586	0,576	0,297	0,573	1,160
n-C32	0,013	0,021	0,011	0,021	0,064	0,288	0,412	0,064	0,247	0,651
n-C33	0,062	0,089	0,054	0,084	0,127	0,220	0,256	0,136	0,238	0,377
n-C34	0,012	0,016	< LDM	0,015	< LDM	0,092	0,072	0,029	0,078	0,186
n-C35	0,026	0,035	0,022	0,033	< LDM	0,199	< LDM	0,059	0,130	0,315
n-C36	< LDM	< LDM	< LDM	< LDM	< LDM	< LDM	< LDM	0,023	< LDM	< LDM
n-C37	< LDM	< LDM	< LDM	< LDM	< LDM	< LDM	< LDM	0,024	< LDM	< LDM
n-C38	< LDM	< LDM	< LDM	< LDM	< LDM	< LDM	< LDM	< LDM	< LDM	< LDM
n-C39	< LDM	< LDM	< LDM	< LDM	< LDM	< LDM	< LDM	< LDM	< LDM	< LDM
n-C40	< LDM	< LDM	< LDM	< LDM	< LDM	< LDM	< LDM	< LDM	< LDM	< LDM
Isoprenóides										
pristano	0,701	0,542	3,972	7,158	3,337	25,40	25,31	6,410	20,59	48,11
fitano	0,225	0,203	1,031	1,925	1,706	15,89	14,44	2,629	11,60	36,14
Totais										
Alcanos Totais	5,377	5,134	16,88	34,64	23,55	118,7	107,8	39,86	100,7	225,0
Alifáticos Totais	37,45	34,62	118,6	227,2	163,3	952,7	992,0	267,2	847,3	1944,0
Razões										
C ₁₅₊₁₇₊₁₉	1,77	1,28	7,70	15,8	7,7	38,9	36,4	15,3	34,3	74,4
C ₂₇₊₂₉₊₃₁	0,46	0,71	0,41	0,69	1,14	3,76	3,60	1,29	3,20	7,16

(Continuação) Anexo 2: Concentrações de Hidrocarbonetos Alifáticos (em $\mu\text{g.g}^{-1}$). <LDM = abaixo do limite de detecção.

Tratamentos	Campo	Controle			Baixa Conc.			Alta Conc.		
		01	07	14	01	07	14	01	07	14
Tempos (dias)	-									
ímpar/par (< C ₂₄)	1,20	1,19	1,14	1,07	1,14	1,14	1,13	1,10	1,13	1,21
ímpar/par (> C ₂₃)	4,20	4,58	4,71	4,05	1,33	0,83	0,84	1,44	0,87	0,75
pristano/fitano	3,12	2,67	3,85	3,72	1,96	1,60	1,75	2,44	1,78	1,33
IPC	4,77	5,08	5,33	4,62	1,85	1,21	1,25	2,00	1,28	1,09
TAR	0,26	0,55	0,05	0,04	0,15	0,10	0,10	0,08	0,09	0,10

Anexo 3: Concentrações dos Hidrocarbonetos Policíclicos Aromáticos (HPA) em ng.g⁻¹. <LDM = abaixo do limite de detecção do método. (Continua na próxima página).

Tratamentos	Campo	Controle			Baixa Conc.			Alta Conc.		
	-	01	07	14	01	07	14	01	07	14
HPAs (2-3 anéis)										
naftaleno	47,83	87,45	56,83	55,99	108,1	45,54	26,50	308,1	153,7	10,55
bifenil	9,45	9,49	25,63	32,83	66,60	114,9	44,91	113,1	242,1	151,4
acenaftileno	8,16	< LDM	< LDM	< LDM	< LDM	< LDM	< LDM	< LDM	< LDM	< LDM
acenafteno	3,86	3,28	19,66	35,00	24,77	74,93	51,45	53,32	86,48	75,34
fluoreno	6,49	5,22	47,66	85,84	76,73	370,7	262,0	144,1	337,8	620,3
dibenzotiofeno	0,66	0,77	4,66	6,93	17,63	111,6	61,99	25,62	123,2	464,6
fenantreno	16,06	12,59	83,46	117,6	236,2	1246,0	935,5	407,8	983,5	2674,9
antraceno	< LDM	< LDM	1,03	3,91	3,55	26,33	25,20	9,13	23,24	76,67
HPAs (4-6 anéis)										
fluoranteno	0,82	1,38	1,80	2,33	3,94	28,20	18,32	37,29	20,97	199,8
pireno	1,02	1,41	2,51	3,87	9,57	73,67	77,09	21,13	56,10	233,2
benzo(c)fenantreno	< LDM	< LDM	< LDM	< LDM	1,03	6,39	6,13	4,43	17,27	10,02
benzo(a)antraceno	0,78	0,75	0,62	0,86	2,59	20,22	24,47	6,11	15,07	48,47
criseno	0,52	0,74	0,79	1,51	13,73	114,5	127,5	22,42	89,05	230,7
benzo(b)fluoranteno	0,91	1,22	0,83	1,44	2,07	6,87	7,73	4,88	6,60	14,49
benzo(j+k)fluoranteno	0,58	0,69	0,57	0,94	0,92	1,70	1,60	3,19	1,50	2,84
benzo(e)pireno	1,00	1,12	0,93	1,52	4,57	28,45	31,94	8,83	22,62	61,53
benzo(a)pireno	< LDM	< LDM	< LDM	0,88	1,05	29,52	5,02	4,02	4,22	60,31
indeno [1,2,3-c,d] pireno	< LDM	0,76	0,54	0,87	0,87	< LDM	0,91	2,16	1,03	0,77
dibenzo(a,h)antraceno	< LDM	< LDM	< LDM	< LDM	< LDM	0,72	0,86	< LDM	0,70	1,94
benzo(b)criseno	< LDM	< LDM	< LDM	< LDM	< LDM	< LDM	< LDM	< LDM	< LDM	< LDM
benzo(g,h,i)perileno	0,94	1,10	0,87	1,23	1,20	1,93	2,23	2,62	2,09	2,81
coroneno	< LDM	< LDM	< LDM	< LDM	< LDM	< LDM	< LDM	< LDM	< LDM	< LDM
Alquil HPAs										
Σ-C ₁ -naftaleno	265,5	339,4	260,5	364,5	868,6	713,1	203,4	1583,6	2472,8	497,6
Σ-C ₂ -naftaleno	701,1	582,7	2721,5	4463,2	3054,1	6548,0	4714,6	6391,1	11869,5	6128,5
Σ-C ₃ -naftaleno	273,0	176,6	2358,7	4230,6	1826,3	7947,0	10442,8	4502,7	7488,1	11671,1
Σ-C ₁ -fluoreno	30,83	27,07	217,4	390,9	303,8	2375,3	2475,0	667,4	1903,9	4441,6
Σ-C ₁ -dibenzotiofeno	1,59	1,45	7,44	15,01	19,81	163,1	139,0	37,97	117,0	533,0
Σ-C ₂ -fluoreno	12,21	12,49	77,67	124,7	249,7	2141,0	1818,5	430,7	1475,4	4968,8
Σ-C ₁ -fenantreno	20,29	16,17	97,95	142,7	364,9	2802,3	2447,0	594,7	1985,2	7299,5
Σ-C ₂ -dibenzotiofeno	< LDM	0,58	3,16	3,33	13,03	290,6	224,5	21,67	184,1	913,7
Σ-C ₂ -fenantreno	8,92	7,98	38,60	57,67	213,5	2215,0	1884,3	403,2	1522,3	5646,1
Σ-C ₁ -fluoranteno	< LDM	0,74	1,58	2,15	11,47	117,8	93,27	25,10	91,13	315,1
Σ-C ₁ -pireno	< LDM	0,55	1,35	2,02	12,30	116,5	105,2	21,80	90,54	312,0
Σ-C ₁ -criseno	< LDM	< LDM	< LDM	1,12	21,35	185,9	181,6	30,85	146,6	420,1
Σ-C ₂ -criseno	< LDM	< LDM	< LDM	< LDM	20,08	119,5	179,0	28,26	137,2	387,3
Naturais										
reteno	< LDM	< LDM	< LDM	< LDM	1,08	< LDM	8,92	2,13	1,76	27,21
perileno	2,74	4,23	2,65	3,77	3,46	4,22	6,10	5,24	5,93	7,09

(**Continuação**) Anexo 3: Concentrações dos Hidrocarbonetos Policíclicos Aromáticos (HPA) em ng.g^{-1} . <LDM = abaixo do limite de detecção do método.

Tratamentos	Campo	Controle			Baixa Conc.			Alta Conc.		
	-	01	07	14	01	07	14	01	07	14
Totais										
HPAs Totais	1410	1290	6030	10200	7550	28000	26600	15900	31700	48500
Alquil HPAs Totais	1310	1170	5790	9800	6980	25700	24900	14700	29500	43500