

UNIVERSIDADE FEDERAL DE SÃO CARLOS
CENTRO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS E DA SAÚDE
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ECOLOGIA E RECURSOS NATURAIS

**Efeitos de um Derrame Simulado de Petróleo Sobre a
Comunidade Planctônica Costeira em
Angra dos Reis (RJ)**

MARCIA VIEIRA REYNIER

Orientadora: D^{ra}. Odete Rocha

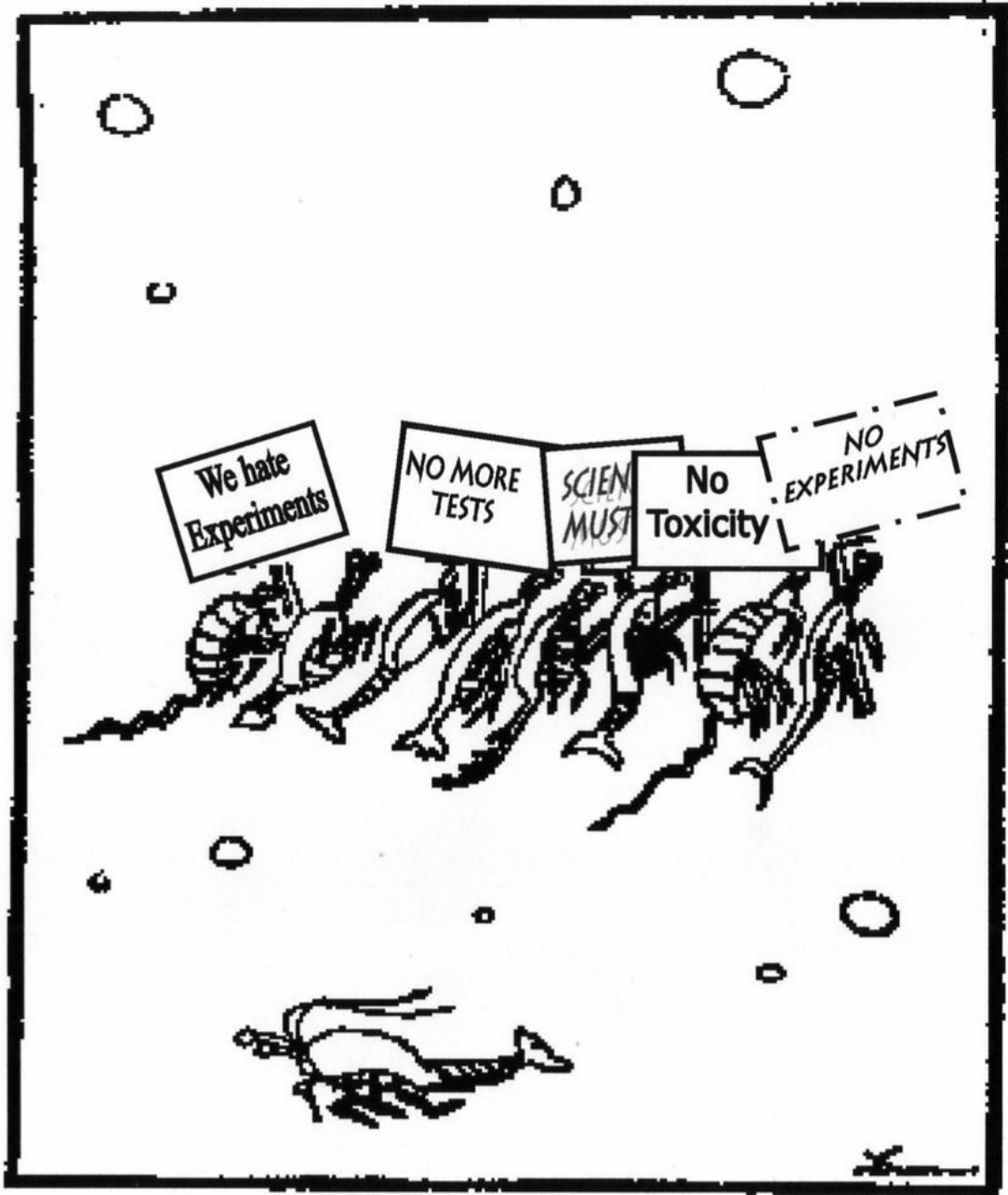
**Tese de doutorado
apresentada ao Programa de Pós-
Graduação em Ecologia e Recursos
Naturais, do Centro de Ciências
Biológicas e da Saúde da
Universidade Federal de São Carlos,
como parte dos requisitos para
obtenção do título de Doutor em
Ciências.**

**São Carlos
2003**

**Ficha catalográfica elaborada pelo DePT da
Biblioteca Comunitária/UFSCar**

R461ed	<p>Reynier, Marcia Vieira. Efeitos de um derrame simulado de petróleo sobre a comunidade planctônica costeira em Angra dos Reis (RJ) / Marcia Vieira Reynier. -- São Carlos : UFSCar, 2004. 114 p.</p> <p>Tese (Doutorado) -- Universidade Federal de São Carlos, 2003.</p> <p>1. Biologia marinha. 2. Ecotoxicologia. 3. Dispersante químico. 4. Água – poluição por petróleo. 5. Plâncton marinho. 6. Mesocosmos. I. Título.</p> <p>CDD: 574.92 (20^a)</p>
--------	--

Aos meus pais, Ismar e Múcia.



The plankton lobby

AGRADECIMENTOS

À Petróleo Brasileiro S.A.- PETROBRAS e ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico CNPq pelo apoio financeiro.

À Universidade Federal do Rio de Janeiro pela infra-estrutura fornecida.

Ao Programa de Pós Graduação em Ecologia e Recursos Naturais da Universidade Federal de São Carlos pela Formação Acadêmica recebida.

À Profa. Dra. Odete Rocha pela orientação e pela amizade ao longo de todos esses anos.

Ao Sérgio e à Ana Bonecker que muito me ensinaram e me incentivaram para que eu chegasse até aqui.

Aos Engenheiros Luiz Gallo e Luiz Coelho, da PETROBRAS/Cenpes, pelo projeto e construção dos flutuadores utilizados nos experimentos.

À Transpetro, em especial ao Engenheiro Paulo Rato, Antônio Luis Félix, João e Jancarson que sempre proporcionaram apoio para o trabalho de campo.

Gostaria de agradecer aos meus amigos do Cenpes/PETROBRAS, Eduardo Platte, Celso Alleluia, Fabinho, Gleidice, Irene Gabardo e, em especial, à Bióloga e amiga Letícia Falcão pelo apoio durante as etapas mais difíceis deste trabalho.

Ao Dr. Luis Henrique G. de Moraes, Superintendente de Apoio Técnico da Eletronuclear, pela permissão para a realização do trabalho e ao Giovanni Carlo Bloise, da Gerência de Meio Ambiente, pelos dados meteorológicos.

Aos Biólogos Carlos E. Alhanati, à Patrícia V. dos S. Arantes e Aderval F.V. Almeida, ao Ildo Benedito e à todos da Eletronuclear que sempre foram solícitos e me facilitaram, ao máximo, a execução do trabalho de campo.

Ao Engenheiro César Pereira, Agente Regional da Fundação Estadual de Engenharia do Meio Ambiente – FEEMA/ARBIG – pela autorização para a realização desse trabalho.

Ao Humberto Moreira de Azevedo, ao Comandante Alceu Ferreira Alves e a equipe de apoio, em especial ao Cláudio Moreira, do Terminal Aquaviário de Angra dos Reis (TAAR) pelo apoio que muito facilitou o trabalho de campo.

Às minhas super amigas e parceiras Maria Cristina e Leila Kraus pelo companheirismo e pela amizade. Adoro trabalhar com vocês!!!!

Ao meu grande amigo Loha (neguinho) com quem sempre pude contar nas horas mais complicadas e mais divertidas também.

Às amigas do Labtox: Néia, Ana Luiza, Decidéria, Cristiane, Renata e, em especial, à Viviane e a Carina pelas super ajudas nos testes de toxicidade.

Aos amigos do Laboratório de Zooplâncton da UFRJ: Márcia Castro, Eduardo (Ed), Paulo, Ribamar, Claudia, Bruno e Cláudio, com os quais sempre pude contar e pelos momentos divertidos que passamos juntos.

À Cristina Dias e a Roberta pela identificação das espécies de copépodes e pelas valiosas “dicas” na interpretação dos resultados.

À Priscila Reis pelo apoio durante as etapas desse trabalho.

Ao Marcelo Felício e ao Gustavo Seggia pela grande ajuda durante o trabalho de campo.

À Anita George-Ares da ExxonMobil Biomedical Sciences, Inc. e ao Sr. Oswaldo Santos, da Nalco Exxon, pela autorização para a utilização do dispersante nos experimentos.

À Maria Eulália Carneiro e à Neuza Vital (PETROBRAS) pelo apoio que sempre dispensaram para a realização desse trabalho.

Ao Rodolfo Paranhos e a sua equipe, em especial à Bruna Faro, Alessandra Gonzalez e Ana Paula pelas ajudas nas análises químicas.

À Liliam Rodrigues do Nascimento pela identificação do fitoplâncton.

Ao Professor Dr. Sérgio Henrique do Departamento de Biologia Marinha da UFRJ pelo empréstimo do bote “Porradinha”.

À equipe do laboratório Bioconsult: Marta Miranda, Marcio Macedo (Morcego), Mário Sérgio pelas ajudas na resolução de “probleminhas” e à amiga Cristina Falcão com quem sempre pude contar nos momentos de sufoco.

À Paulinha Castellões e ao Márcio R. Mello do Laboratório Analytical Solutions pelo auxílio nas análises de hidrocarbonetos.

À Miriam Crapez pela força na escolha do local para a realização do experimento.

Às amigas Cíntias Badaró-Pedroso, Sônia Mello, Ana Cristina Marroquim e Patrícia Cotta pela amizade e carinho de sempre.

Ao amigo Ademilson Zamboni (Biro) pelos momentos divertidos.

Ao Oscar pelo amor, incentivo e companheirismo em todos esses anos de convivência.

Aos meus pais – Ismar e Múcia – que são os grandes responsáveis pela minha formação, a minha irmã Magali, aos meus sobrinhos Plínio e Leonardo e ao meu cunhado Victor que sempre estiveram do meu lado em todas as etapas da minha vida.

SUMÁRIO

	pág.
LISTA DE FIGURAS.....	i
LISTA DE TABELAS.....	iv
LISTA DE ABREVIATURA E SIGLAS.....	vi
LISTA DE SÍMBOLOS.....	vii
RESUMO.....	viii
ABSTRACT.....	ix
1 – INTRODUÇÃO.....	1
2 – OBJETIVOS.....	5
3 – METODOLOGIA.....	7
3.1 – Local do estudo.....	7
3.2 – Modelo experimental.....	10
3.3 – Descrição da simulação.....	14
3.4 – Métodos de amostragem.....	17
3.5 – Métodos de análises.....	18
3.5.1 – Análises químicas.....	18
3.5.2 – Comunidade fitoplanctônica	19
3.5.2.1 – Testes de toxicidade com microalgas.....	19
3.5.3 – Comunidade zooplanctônica.....	22
3.5.4 – Testes de toxicidade com ouriço e misidáceo.....	22
4 – RESULTADOS.....	25
4.1 – Condições meteorológicas.....	25
4.2 – Análises físicas e químicas	26
4.3 – Comunidade fitoplanctônica.....	38
4.3.1 – Testes de toxicidade com microalgas.....	45
4.4 Comunidade zooplanctônica.....	48
4.5 – Testes de toxicidade com ouriço e misidáceo.....	63
5 – DISCUSSÃO.....	69
6 – CONCLUSÕES.....	79
7 – REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	82
8 - ANEXOS.....	89

LISTA DE FIGURAS


	pág.
Figura 01: Localização da praia de Itaorna, onde foi executado o experimento de simulação de derrame de petróleo em mesocosmos, em Angra dos Reis, Estado do Rio de Janeiro, Brasil.	8
Figura 02: Vista geral da praia de Itaorna, Angra dos Reis, RJ, próximo à Eletronuclear, local onde foi coletado o zooplâncton e onde foi conduzido o experimento de derrame simulado de petróleo em mesocosmo.	9
Figura 03: Flutuadores utilizados nos experimentos de derrame simulado de petróleo em mesocosmos, na praia de Itaorna, Angra dos Reis, RJ, entre o período de 19 de junho e 13 de julho de 2002	10
Figura 04: Rede de plâncton utilizada para coleta do zooplâncton a ser introduzido nos mesocosmos e durante o experimento de derrame simulado de petróleo na praia de Itaorna, Angra dos Reis, RJ, no período de 19 de junho a 13 de julho de 2002.	11
Figura 05: Introdução do zooplâncton nos mesocosmos para os experimentos de derrame simulado de petróleo conduzidos na praia de Itaorna, em Angra dos Reis, RJ, no período de 19 de junho a 13 de julho de 2002.	12
Figura 06: Principais etapas da simulação de derrame de petróleo na praia de Itaorna, Angra dos Reis, entre 19 de junho e 13 de julho de 2002. A – lançamento do petróleo; B – lançamento do dispersante; C – mistura com movimentos verticais lentos; D – recolhimento a vácuo do material no interior do mesocosmo para descarte.	15
Figura 07: Vista da coluna d'água no interior dos mesocosmos após a simulação de derrame de petróleo na praia de Itaorna, Angra dos Reis, em 19 de junho de 2002. A – Simulação com petróleo (FMDA); B – Simulação com petróleo e dispersante (FQDA).	16
Figura 08: Preparo das soluções para os testes de toxicidade com petróleo e com a mistura do petróleo e dispersante com as microalgas <i>Tetraselmis chuii</i> e <i>Skeletonema costatum</i> . A – Preparo da fração solúvel do óleo em água do mar (FSA) B – Preparo da fração dispersa do óleo em água do mar (FDA).	21
Figura 09: Média de cada 12 horas da temperatura do ar (°C) e da precipitação (mm) registradas na praia de Itaorna, em Angra dos Reis, durante o período de 14 de junho a 13 de julho de 2002. As setas () representam o momento em que foram realizadas as coletas nos mesocosmos.	25
Figura 10: Variação da salinidade, temperatura, pH e oxigênio dissolvido (OD) medidos no interior dos mesocosmos CONTROLE no período entre 19 de junho e 13 de julho de 2002.	27
Figura 11: Variação da salinidade, temperatura, pH e oxigênio dissolvido (OD) medidos no interior dos mesocosmos tratados com PETRÓLEO (FMDA) no período entre 19 de junho e 13 de julho de 2002.	28
Figura 12: Variação da salinidade, temperatura, pH e oxigênio dissolvido (OD) medidos no interior dos mesocosmos tratados com PETRÓLEO E DISPERSANTE (FQDA) no período entre 19 de junho e 13 de julho de 2002.	29

Figura 13:	Varição do material particulado suspenso (MPS) medido em cada mesocosmo durante as coletas, no período entre 19 de junho a 13 de julho de 2002, no experimento de derrame simulado de petróleo na Praia de Itaorna, em Angra dos Reis, RJ. C – Controle; P – Petróleo; D – Dispersante.	30
Figura 14:	Varição do ortofosfato, fósforo total, amônia, nitrito, clorofila <i>a</i> e feofitina nos mesocosmos CONTROLE durante o período entre 19 de junho e 13 de julho de 2002, no experimento de derrame simulado de petróleo na Praia de Itaorna, em Angra dos Reis, RJ.	33
Figura 15:	Contribuição relativa média das frações do fitoplâncton (nanofitoplâncton e microfitoplâncton) nos mesocosmos submetidos aos diferentes tratamentos (controle, com petróleo e com a mistura petróleo e dispersante) no período entre 19 de junho e 13 de julho de 2002, no experimento simulado de derrame de petróleo na Praia de Itaorna, Angra dos Reis, RJ.	41
Figura 16:	Densidade do fitoplâncton (média e desvio padrão entre as réplicas) nos mesocosmos controle (a) e naqueles tratados com petróleo (b) e com a mistura de petróleo e dispersante (c), na Praia de Itaorna, Angra dos Reis, RJ, amostrado em diferentes datas ao longo do período de 19 de junho a 13 de julho de 2002, no experimento de derrame simulado de petróleo	42
Figura 17:	Abundância relativa média dos principais grupos fitoplanctônicos com ocorrência nos mesocosmos submetidos a diferentes tratamentos (CONTROLE , com PETRÓLEO e com a mistura de PETRÓLEO E DISPERSANTE) no período de 19 de junho a 13 de julho de 2002, no experimento de derrame simulado de petróleo na Praia de Itaorna, Angra dos Reis, RJ.	43
Figura 18:	Varição da densidade média do fitoplâncton nos mesocosmos controle (C) e naqueles tratados com petróleo (P) e com a mistura petróleo e dispersante (P + D) no período entre 19 de junho e 13 de julho de 2002, no experimento de derrame simulado de petróleo na Praia de Itaorna, em Angra dos Reis, RJ.	44
Figura 19:	Densidade média do fitoplâncton nos mesocosmos CONTROLE e naqueles tratados com PETRÓLEO e com a mistura de PETRÓLEO E DISPERSANTE na Praia de Itaorna, Angra dos Reis, RJ, no período entre 19 de junho e 13 de julho de 2002, no experimento simulado de derrame de petróleo.	44
Figura 20:	Varição da densidade média das microalgas <i>Tetraselmis chuii</i> e <i>Skeletonema costatum</i> expostas à fração solúvel do petróleo ARLE/URAL (FSA) e da mistura com o dispersante Corexit 9500 [®] (FDA) em água do mar, ao longo de 96 horas. Valores de CI_{20} e $CI_{50;96h}$ = Concentração que inibe o crescimento de 20 e 50% dos organismos expostos, respectivamente.	47
Figura 21a:	Abundância relativa (%) dos grupos zooplanctônicos que ocorreram nos mesocosmos CONTROLE no período entre 19 de junho e 13 de julho de 2002, na praia de Itaorna, Angra dos Reis, RJ.	51
Figura 21b:	Abundância relativa (%) dos grupos zooplanctônicos que ocorreram nos mesocosmos tratados com PETRÓLEO no período entre 19 de junho e 13 de julho de 2002, na praia de Itaorna, Angra dos Reis, RJ.	53
Figura 21c:	Abundância relativa (%) dos grupos zooplanctônicos que ocorreram nos mesocosmos tratados com PETRÓLEO E DISPERSANTE no período entre 19 de	55

- junho e 13 de julho de 2002, na praia de Itaorna, Angra dos Reis, RJ.
- Figura 22: Variação no valor médio da abundância relativa das principais espécies de copépodes HERBÍVOROS nos mesocosmos controle e nos tratados com petróleo e com a mistura petróleo e dispersante no período entre 19 de junho e 13 de julho de 2002, no experimento de derrame simulado de petróleo, na Praia de Itaorna, Angra dos Reis, RJ. 59
- Figura 23: Variação no valor médio da abundância relativa das principais espécies de copépodes CARNÍVOROS nos mesocosmos controle e nos tratados com petróleo e com a mistura petróleo e dispersante no período entre 19 de junho e 13 de julho de 2002, no experimento de derrame simulado de petróleo, na Praia de Itaorna, Angra dos Reis, RJ. 60
- Figura 24: Variação na abundância relativa média de fêmeas ovadas de *Pseudodiaptomus acutus* e *Oithona hebes* nos mesocosmos controle (C) e nos tratados com petróleo (P) e com petróleo e dispersante (P + D), no período entre 19 de junho e 13 de julho de 2002, no experimento de derrame simulado de petróleo, na Praia de Itaorna, Angra dos Reis, RJ. 61
- Figura 25: Variação na abundância média de náuplios nos mesocosmos controle (C) e nos tratados com petróleo (P) e com petróleo e dispersante (P + D), no período entre 19 de junho e 13 de julho de 2002, no experimento de derrame simulado de petróleo, na Praia de Itaorna, Angra dos Reis, RJ. 61

LISTA DE TABELAS

	pág.
Tabela I: Valores médios da temperatura, pH, salinidade, concentração de oxigênio dissolvido (OD) e material particulado em suspensão (MPS) medidos nos mesocosmos CONTROLE , no experimento de derrame simulado de petróleo na Praia de Itaorna, em Angra dos Reis, RJ.	31
Tabela II: Valores médios da temperatura, pH, salinidade, concentração de oxigênio dissolvido (OD) e material particulado em suspensão (MPS) medidos nos mesocosmos tratados com PETRÓLEO , no experimento de derrame simulado de petróleo na Praia de Itaorna, em Angra dos Reis, RJ.	31
Tabela III: Valores médios da temperatura, pH, salinidade, concentração de oxigênio dissolvido (OD) e material particulado em suspensão (MPS) medidos nos mesocosmos tratados com PETRÓLEO E DISPERSANTE , no experimento de derrame simulado de petróleo na Praia de Itaorna, em Angra dos Reis, RJ.	31
Tabela IV: Concentrações de hidrocarbonetos poliaromáticos – HPA ($\mu\text{g.L}^{-1}$), compostos voláteis – BTEX (ppb) e total de hidrocarboneto de petróleo – THP ($\mu\text{g.L}^{-1}$) nos mesocosmos CONTROLE ao longo do período do experimento de simulação de derramamento de petróleo, na Praia de Itaorna, Angra dos Reis, RJ.	35
Tabela V: Concentrações de hidrocarbonetos poliaromáticos - HPA ($\mu\text{g.L}^{-1}$), compostos voláteis – BTEX (ppb) e total de hidrocarboneto de petróleo - THP ($\mu\text{g.L}^{-1}$) nos mesocosmos tratados com PETRÓLEO ao longo do período do experimento de simulação de derramamento de petróleo, na Praia deltaorna, Angra dos Reis, RJ.	36
Tabela VI: Concentrações de hidrocarbonetos poliaromáticos – HPA ($\mu\text{g.L}^{-1}$), compostos voláteis – BTEX (ppb) e total de hidrocarboneto de petróleo - THP ($\mu\text{g.L}^{-1}$) nos mesocosmos tratados com PETRÓLEO E DISPERSANTE ao longo do período do experimento de simulação de derramamento de petróleo, na Praia de Itaorna, Angra dos Reis, RJ.	37
Tabela VII: Composição taxonômica do fitoplâncton na coluna d'água na Praia de Itaorna, Angra dos Reis, RJ, em 19 de junho de 2002.	38
Tabela VIII: Valores relativos às variáveis físicas e químicas medidas na suspensão teste no início e no final dos testes de toxicidade conduzidos com as espécies <i>Tetraselmis chuii</i> e <i>Skeletonema costatum</i> expostas ao PETRÓLEO ARLE/URAL e a sua mistura com o DISPERSANTE Corexiti 9500 [®] .	46
Tabela IX: Inventário faunístico da comunidade zooplânctônica utilizada nos experimentos de derrame simulado de petróleo em mesocosmos na praia de Itaorna, Angra dos Reis, entre 19 de junho e 13 de julho de 2002.	48
Tabela X: Análise sintética da sensibilidade aparente das espécies de copépodes mais abundantes nos mesocosmos controle (C) e naqueles tratados com petróleo (P) e com a mistura petróleo e dispersante (P + D) após 25 dias de exposição, no experimento de derrame simulado de petróleo, na Praia de Itaorna, Angra dos Reis, RJ.	62

pág.

- Tabela XI: Resultados dos testes de toxicidade (%) conduzidos com *L. variegatus* com as amostras coletadas nos mesocosmos no período entre 19 de junho e 13 de julho de 2002, no experimento de derrame simulado de petróleo, na Praia de Itaorna, Angra dos Reis, RJ. 65
- Tabela XII: Concentração Letal (CL50;96h) e sobrevivência (%) de *Mysidium gracile* obtidos nos testes de toxicidade conduzidos em laboratório com as amostras coletadas nos mesocosmos **CONTROLE** e naqueles tratados com **PETRÓLEO** e com a mistura de **PETRÓLEO e DISPERSANTE**, no experimento de derrame simulado de petróleo, na Praia de Itaorna, Angra dos Reis, RJ. 66
- Tabela XIII: Valores mínimos e máximos das variáveis físicas e químicas medidas na suspensão utilizada nos testes de toxicidade aguda com *Mysidium gracile* expostos às amostras coletadas nos mesocosmos tratados com **PETRÓLEO** e com a mistura **PETRÓLEO E DISPERSANTE** testadas. 67
- Tabela XIV: Resultados obtidos nos testes de toxicidade crônica com *L. variegatus* e aguda com *M. gracile* conduzidos com as substâncias de referência dodecil sulfato de sódio (DSS) e zinco, respectivamente. 68

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

API - American Petroleum Institute

ARLE/URAL – mistura dos petróleos Árabe leve e Russo

CE50 – concentração efetiva a 50% dos organismos

CENO – concentração de efeito não observado

CEO – concentração de efeito observado

CEPUERJ – Centro de Produção da Universidade do Estado do Rio de Janeiro

CETESB – Companhia de Tecnologia de Saneamento Ambiental

CL₅₀;96h – Concentração letal a 50% dos organismos após 96h de exposição

CNAAA – Central Nuclear Almirante Álvaro Alberto

CV – coeficiente de variação

DP – desvio padrão

DSS – dodecil sulfato de sódio

Eletronuclear – Eletrobrás Termonuclear S.A.

EPA – Environmental Protection Agency

FDA – Fração dispersa em água

FEEMA – Fundação Estadual de Engenharia e Meio Ambiente

FMDA – Fração do óleo mecanicamente disperso em água

FQDA – Fração do óleo quimicamente disperso em água

FSA – Fração solúvel em água

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

IC – intervalo de confiança

Clp – Percentual de inibição

OD – oxigênio dissolvido

PETROBRAS – Petróleo Brasileiro S.A.

UFRJ – Universidade Federal do Rio de Janeiro

LISTA DE SÍMBOLOS

C – Controle
D – Dispersante
dp – desvio padrão
P – Petróleo
cél.L⁻¹ – células por litro
µm – micrômetro
mm – milímetro
mm's – milímetros por segundo
cm – centímetro
m – metro
m³ – metro cúbico
mg – miligrama
µg.L⁻¹ – micrograma por litro
µM - Micromol
mg.L⁻¹ – miligrama por litro
mL – mililitro
g – grama
‰ partes por mil
% - percentual
°C – grau centígrado
ppm – partes por milhão
rpm – rotação por minuto
Zn – zinco
> - maior do que
< - menor do que
v/v – volume por volume
°API – Grau API

Resumo: Efeitos de um Derrame Simulado de Petróleo Sobre a Comunidade Planctônica Costeira em Angra dos Reis (RJ)

A avaliação dos efeitos de derrames de petróleo nas regiões costeiras decorrentes das atividades de produção, refinamento ou transporte deste produto tem sido uma das prioridades das instituições ligadas a este setor e há uma demanda muito grande de pesquisas sobre os impactos ocasionados por estes sobre o ambiente e as comunidades naturais, em particular. No presente estudo a experimentação em mesocosmos foi utilizada para avaliar os efeitos do derrame do petróleo ARLE/URAL e deste tratado com o dispersante químico Corexit® 9500, sobre uma comunidade planctônica costeira. O experimento foi realizado no Rio de Janeiro, Brasil e teve a duração de 25 dias consecutivos (19/06 a 13/07/2002). Os tratamentos foram feitos em triplicata com um volume aproximado de 1,7m³ de água do mar em cada unidade. Foram utilizadas três réplicas como controle, contendo apenas água do mar, três réplicas foram tratadas com 800 mL de petróleo e três outras réplicas foram tratadas com a mistura de 800 mL de petróleo e 80 mL de dispersante. As alterações químicas na água foram marcantes, principalmente em relação ao aumento na concentração dos compostos orgânicos. Os resultados evidenciaram uma redução severa na densidade do fitoplâncton, em decorrência da adição do óleo ou da mistura de óleo e dispersante. Houve também uma mudança na composição dos grupos, com alteração da dominância de diatomáceas para fitoflagelados. Em relação aos grupos zooplanctônicos também foi observado um efeito mais acentuado no tratamento com petróleo e dispersante. Os organismos meroplanctônicos foram mais sensíveis ao petróleo do que os holoplanctônicos. Os copépodes foram dominantes, em todos os tratamentos. A espécie herbívora *Acartia lilljeborgi* foi mais resistente ao efeito agudo do petróleo, enquanto *Pseudodiaptomus acutus* foi mais resistente ao efeito crônico. Entre os Copepoda carnívoros *Oithona hebes* foi a espécie mais resistente, tanto ao impacto agudo quanto ao impacto crônico. Os mesocosmos são adequados para a avaliação dos efeitos do derrame de petróleo ou da mistura de petróleo e dispersante, como corroborado pelos estudos de toxicidade com algas e organismos-teste invertebrados, que corroboraram os efeitos observados em campo. A utilização de dispersante químico na etapa de remediação após os derrames necessita ser reavaliada tendo em vista os resultados deste trabalho que indicam que a mistura petróleo-dispersante é ainda mais tóxica do que o petróleo sozinho.

Palavras-chave: Ecotoxicologia, impactos ambientais, derrame de petróleo, dispersante de petróleo, plâncton marinho, mesocosmos.

Abstract : Effects of a Simulated Oil Spill on a Coastal Plankton Community

Concern with the effect of oil spills in coastal regions resulting from the production, refining and transport of this product has been one of the priorities of the institutions working with this sector. Consequently, there is a large demand for research on the impacts of by accidents on the environment and, particularly, on natural communities. In the present study, a mesocosm experiment was used to evaluate the effects of a mixture of light Arabian and Russian oil with the chemical dispersant Corexit® 9500, over a coastal plankton community. The experiment was carried out in Rio de Janeiro and lasted 25 consecutive days. Three replicates were used as control, with only seawater, three were treated with 800 mL of petroleum and the other three were treated with the mixture 800 mL of petroleum and 80 mL of dispersant. The chemical alterations in the water were striking, especially the rise in the concentration of organic compounds. The results demonstrated a severe reduction of phytoplankton density, as a result of the addition of oil. There was also a change in the composition of the organism groups, with alteration of dominance of diatoms to phytoflagelates. Similar effect was found for the zooplankton. Both the oil and its mixture with dispersant resulted in a reduction of population densities and changes, or disappearance, of some components. Meroplanktonic organisms had a higher sensitivity to the acute effects of the oil and oil-dispersant mixture than holoplanktonic organisms. Copepods were resistant to the effects of oil and oil-dispersant mixture. Among the herbivores, *Acartia lilljeborgi* had greater resistance to the acute toxic effect of oil, whereas *Pseudodiaptomus acutus* was more resistant to the chronic effects of both oil and the mixture. Among carnivores, *Oithona hebes* appeared as a resistant species to both acute and chronic effects. Mesocosms were shown to be useful for investigating the effects of oil spills on marine environments since standardized laboratory tests with algae and invertebrate test-organisms corroborated the field findings.

Key-words – Ecotoxicology, environmental impacts, oil spill, oil dispersant, marine plankton, mesocosms.

1 - INTRODUÇÃO

Entre as milhares de substâncias que chegam ao ambiente marinho, o petróleo e seus derivados figuram entre as mais preocupantes, uma vez que se tratam de misturas complexas e geralmente são oriundas de fontes não previsíveis, como por exemplo os derrames acidentais. Os derrames de maior intensidade ocorridos no mundo foram causados, principalmente, por petroleiros durante a operação de carga e descarga, sendo a maior incidência em áreas de difícil navegação ou em terminais marítimos. A intensidade dos efeitos causados pelo petróleo no ambiente depende principalmente do tipo de petróleo derramado, das condições meteorológicas e oceanográficas do ecossistema atingido e dos métodos usados na mitigação. Na água, o petróleo se propaga rapidamente devido à ação do vento e das correntes, as frações de baixo peso molecular evaporam e, apesar de apenas uma pequena proporção dos seus componentes dissolverem-se na coluna d'água, esses componentes expõem, muitas vezes, diversas comunidades (invertebrados, peixes, aves) a um estresse crônico ou agudo (Fabregas *et al.*, 1984; Lewis & Aurand, 1997).

Uma das alternativas utilizadas para mitigar os efeitos do derrame de petróleo sobre o ambiente marinho é a aplicação de dispersantes químicos.

Dispersantes são formulações químicas compostas de solventes e surfactantes que tem como finalidade prevenir o alcance do óleo a áreas ecologicamente sensíveis como, por exemplo, manguezais e barreiras de coral, reduzir prejuízos a aves e a mamíferos marinhos e proteger outros recursos naturais ou economicamente importantes como embarcações, etc. A utilização de dispersante seria uma opção às situações em que outras técnicas são menos efetivas, como por exemplo em locais onde há ondas altas que tornam impossível a remoção mecânica do petróleo (API, 1999; Etkin, 1999).

Os surfactantes, presentes nos dispersantes, têm a propriedade de diminuir a tensão interfacial entre o óleo e a água, quebrando o óleo em pequenas gotículas (entre 1 e 70 μm) (Lessard *et al.*, 1998; Etkin, 1999) que, com a ação da onda promove

a sua dispersão na coluna d'água. Devido ao aumento da área superficial das gotas de óleo, a degradação por bactérias e fungos é facilitada, permitindo que sejam metabolizadas por diversos organismos (Georges-Ares & Clark, 2000).

Pouco se conhece sobre os possíveis efeitos que o petróleo e os dispersantes químicos exercem sobre as espécies marinhas de regiões tropicais. A ampla diversidade de taxons de invertebrados marinhos apresenta diferentes respostas ao petróleo, sendo a mortalidade, geralmente observada logo após um derrame no mar, a mais evidente (Reynier, 1996; Reynier *et al.*, 1998; Anita George-Ares *et al.*, 2003).

O petróleo é constituído por compostos bastante complexos que apresentam diferentes toxicidades, tornando difícil a determinação da fração responsável por um determinado efeito.

Os efeitos sobre populações e comunidades de invertebrados em geral, dependem do tipo de substância, da concentração e do tempo de exposição, sendo que, no petróleo, os compostos aromáticos são considerados os mais tóxicos (Neff *et al.*, 1976).

A fração biodisponível aumenta com o aumento da concentração de hidrocarbonetos na coluna d'água e altera as interações entre o dispersante, o petróleo e as membranas biológicas. Como consequência, o aumento da biodisponibilidade aumenta a bioacumulação e as mudanças no metabolismo, resultando no aumento da toxicidade diretamente sobre o indivíduo ou através da cadeia trófica (Wolfe *et al.*, 1998). A biodisponibilidade e a bioacumulação variam com a espécie, de acordo com o conteúdo lipídico e, no caso das algas unicelulares, da área superficial, da capacidade metabólica e pela taxa de alimentação no caso dos organismos consumidores (Wolfe *et al.*, *op cit.*).

Os estudos relacionados aos efeitos de hidrocarbonetos são, em sua maioria, realizados em nível individual. Os efeitos crônicos observados sobre os indivíduos podem ocorrer em diferentes níveis: citogenéticos, fisiológicos ou imunológicos, podendo provocar alterações diversas, afetando a reprodução, o crescimento, a respiração, a excreção, a alimentação, e aumentar a suscetibilidade a doenças. No nível da população os efeitos observados envolvem mudanças na abundância das espécies, na estrutura etária e genética da população, na reprodução e na redução do potencial de recrutamento. Já, no nível de comunidade, os efeitos são observados na alteração entre as espécies competidoras, na relação predador-presa e nas interações entre as espécies (Suchanek, 1993).

No Brasil, os estudos ecotoxicológicos são conduzidos principalmente sob condições controladas de laboratório, utilizando cultivos monoespecíficos sob diferentes condições. Esses testes produzem uma grande quantidade de informações sobre as concentrações e o tempo de exposição necessário para promover mortalidade, mudanças fisiológicas ou bioquímicas (Payne, 1994; Rand, 1995), porém, essas respostas raramente ocorrem da mesma forma ou intensidade no campo, onde uma multiplicidade de fatores interagem simultaneamente, podendo influenciar uma eventual ação tóxica. Entre esses fatores estão as interações entre os componentes químicos e os constituintes do meio, a capacidade natural de tamponamento do meio, a adsorção com as partículas suspensas, a habilidade natural de adaptação das espécies, as interações entre as espécies e as mudanças contínuas do ambiente (Rand, *op cit.*).

Estudos ecotoxicológicos utilizando a comunidade planctônica são relevantes uma vez que estes organismos constituem a base da cadeia alimentar nos ambientes marinhos, além de apresentarem um curto ciclo de vida, o que os caracteriza como organismos adequados a esse tipo de estudo.

A maioria dos estudos que vem sendo conduzidos com comunidades planctônicas é de caráter preditivo, isto é, visa conhecer a estrutura das comunidades em áreas de risco ou analisar possíveis mudanças na estrutura da comunidade e na abundância das espécies após um eventual derrame de petróleo no mar, conforme divulgado em relatórios técnicos (Cepuerj, 1991; Petrobras, 1994; Petrobras 2001 e 2002). Estes estudos fornecem informações que identificam as áreas mais vulneráveis, definem variáveis que são ecologicamente importantes para a área em questão, e ainda apontam espécies que poderiam ser utilizadas como bioindicadoras. Contudo, nem sempre esses estudos conseguem isolar os fatores responsáveis por um determinado efeito. Devido a baixa mobilidade do plâncton na coluna d'água, estes organismos são facilmente carreados pela corrente e rapidamente substituídos, sendo bastante difícil detectar efeitos sobre a comunidade planctônica no mar, o que dificulta a avaliação de uma alteração espaço-temporal da densidade (Nelson-Smith, 1972).

Experimentos de mesocosmos envolvendo comunidades naturais são sensíveis, refletem a variabilidade natural da população e são reconhecidos como uma ferramenta válida e eficiente para pesquisa e para testes de hipótese (Unesco, 1991).

Testes em mesocosmos utilizam condições aproximadas às encontradas nos ambientes naturais, mantendo comunidades multiespecíficas e níveis multitróficos.

Nestes sistemas pode-se controlar determinadas influências ambientais, tornando mais fácil a análise das relações causa-efeito do que nos estudos de monitoramento, assim como a identificação de efeitos em níveis inferiores, fornecendo informações mais precisas das conseqüências ecológicas. Além disso, esses testes permitem realizar amostragens de uma mesma comunidade, possibilitando a obtenção de uma série temporal de amostragem (Harrison, 1987).

No Brasil, estudos ecotoxicológicos realizados *in situ* são ainda limitados, não tendo sido realizado, até o momento, nenhum experimento de mesocosmo no ambiente marinho.

2 – OBJETIVOS

Considerando-se a necessidade de se conhecer os efeitos de diferentes tipos de petróleo e de dispersantes químicos sobre populações naturais de ambientes costeiros de regiões tropicais, o presente estudo visa contribuir para o entendimento dos efeitos do petróleo ARLE/URAL e deste tratado com o dispersante químico Corexit® 9500, sobre uma comunidade planctônica costeira, através da simulação de um derrame, em um experimento fechado de mesocosmo. Sendo assim, constituíram objetivos da presente pesquisa:

- Avaliar os efeitos do petróleo ARLE/URAL e deste tratado com o dispersante químico Corexit® 9500 sobre a comunidade fitoplanctônica costeira;
- Avaliar os efeitos destes sobre uma comunidade zooplanctônica costeira;
- Realizar testes de toxicidade em laboratório para comparar com os resultados obtidos em campo.

Hipóteses:

- O petróleo, quando acidentalmente derramado no ambiente marinho, ocasiona a morte ou a redução da densidade das populações fitoplanctônicas.
- Diferentes grupos de algas têm diferenças de sensibilidade à toxicidade do petróleo, resultando em respostas diferenciadas quanto à sobrevivência das células algais ou no tempo de recuperação ao impacto.
- O petróleo, quando acidentalmente derramado no ambiente marinho, ocasiona a morte ou a redução da densidade das populações zooplanctônicas

- Diferentes grupos de organismos zooplanctônicos têm diferenças de sensibilidade à toxicidade do petróleo, resultando em respostas diferenciadas quanto à sobrevivência dos indivíduos e mudanças nas relações de dominância dos grupos ou das populações de espécies.
- A mistura do petróleo e dispersante resultará em menor impacto do derrame sobre as populações planctônicas do que o petróleo sozinho, por promover a dispersão deste último e facilitar a degradação do petróleo por bactérias e fungos.

3 - METODOLOGIA

3.1 - LOCAL DE ESTUDO

Os experimentos em mesocosmos foram realizados no período entre 14 de junho e 13 de julho de 2002, próximo ao tanque de captação de água da Eletrobrás Termonuclear - Eletronuclear, na praia de Itaorna, em Angra dos Reis, RJ (23°00'32,8"S – 44°27'41,4"W) (Fig. 1). Esta é uma área de acesso restrito, com baixa circulação de água, protegida do embate das ondas, com uma profundidade variando entre 6 e 12 metros, e livre de poluição, sendo bastante adequada para experimentos *in situ* (Fig. 2). Este local foi escolhido após uma avaliação prévia, realizado no período de 12 a 20 de novembro de 2001.

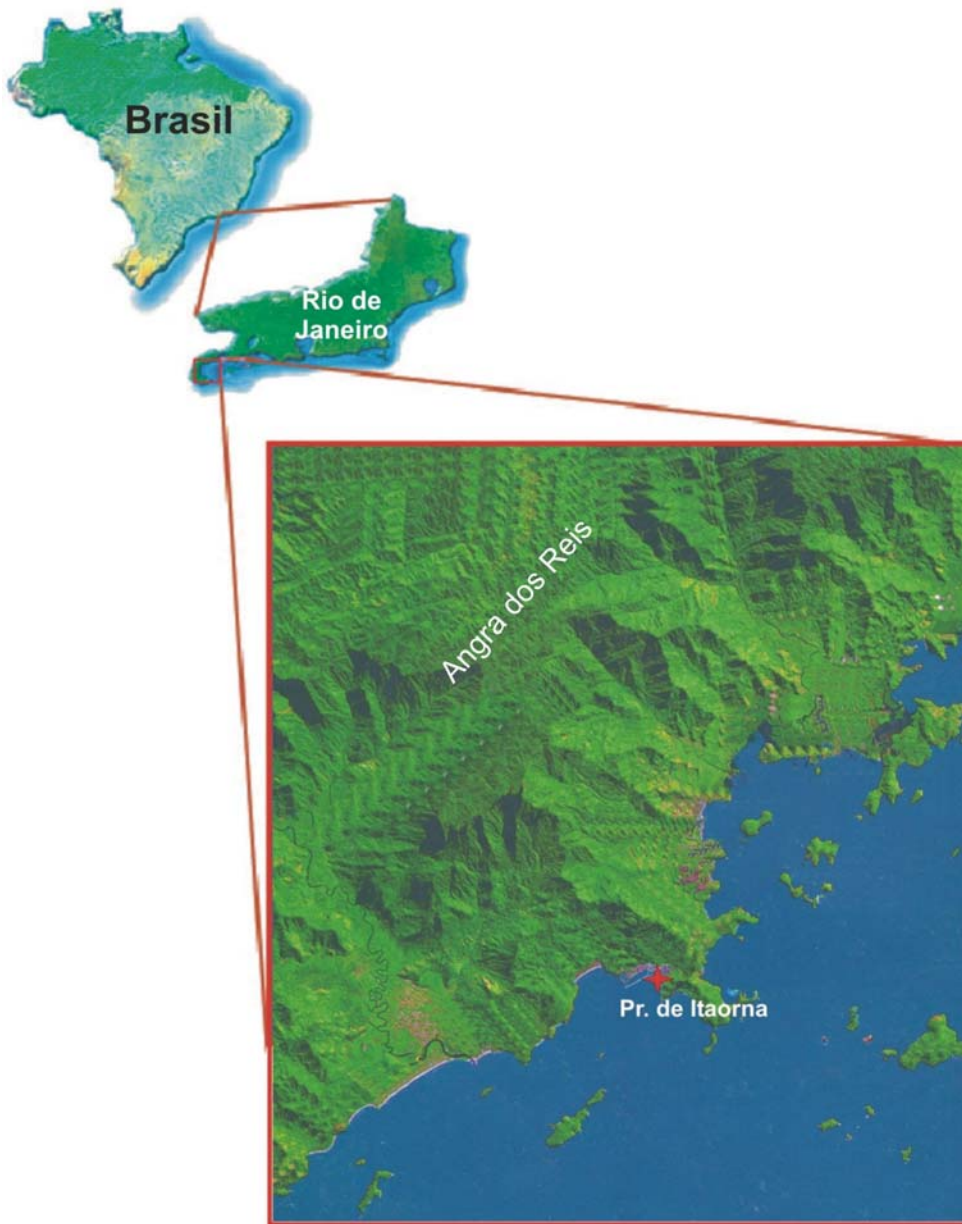


Figura 1: Localização da praia de Itaorna, onde foi executado o experimento de simulação de derrame de petróleo em mesocosmos, em Angra dos Reis, Estado do Rio de Janeiro, Brasil.



Figura 2: Vista geral da praia de Itaorna, Angra dos Reis, RJ, próximo à Eletronuclear, local onde foi coletado o zooplâncton e onde foi conduzido o experimento de derrame simulado de petróleo em mesocosmo.

3.2 – MODELO EXPERIMENTAL

Mesocosmos

Foram utilizados nove mesocosmos do tipo flutuador, construídos segundo o modelo proposto por Jak *et al.* (1998). Os suportes flutuadores para os mesocosmos foram construídos de aço inox, medindo 2,10 m de diâmetro e 40 cm de altura, com três bóias de isopor, sustentando um saco plástico transparente de 2,5 m de altura x 1 m de largura. Os flutuadores foram tampados com o mesmo plástico para prevenir a entrada de água da chuva e dejetos de aves e, ao mesmo tempo, permitir a penetração da luz solar. Todos os mesocosmos foram preenchidos no mesmo dia com a água do local, sem filtrar, atingindo um volume final aproximado de 1,7 m³ e medindo 2,20 m de altura, 1 metro de diâmetro na parte superior, uma área superior de 0,785 m² e perímetro de 2,10 m. Os nove mesocosmos foram montados próximos um do outro, paralelos à margem a uma distância de aproximadamente 4 metros da mesma, sendo amarrados ao fundo em quatro poitas de aproximadamente 15 quilos. Todo o experimento foi circundado com barreiras absorventes para prevenir um eventual derrame (Fig. 3) e os flutuadores foram identificados com placas numeradas de F1 a F9, e permaneceram no local por um período de 29 dias.

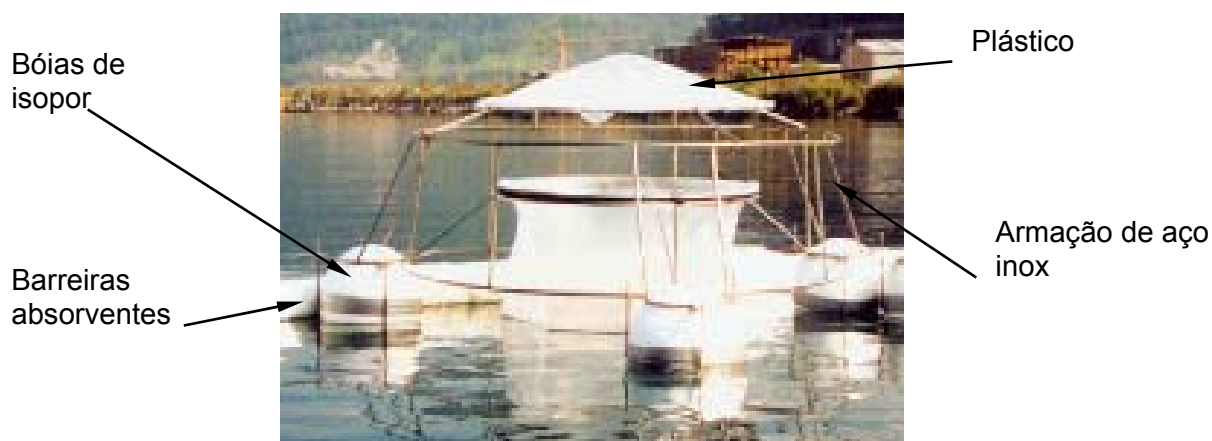


Figura 3: Flutuadores utilizados nos experimentos de derrame simulado de petróleo em mesocosmos, na praia de Itaorna, Angra dos Reis, RJ, entre o período de 19 de junho e 13 de julho de 2002.

Comunidade Planctônica

Os organismos fitoplanctônicos foram introduzidos naturalmente, junto com a água do mar.

Quanto aos organismos zooplanctônicos, foi necessário realizar coletas para introduzi-los nos mesocosmos, uma vez que muitas espécies escapam no momento do enchimento. Os organismos foram obtidos através de arrastos manuais, coletados em uma área próxima ao local do experimento, conforme indicado na figura 2. Foi utilizada uma rede de 1,0 m de comprimento, 0,50 m de boca e malha de 100 μm (Fig. 4). Em cada coleta a rede foi arrastada manualmente por uma distância de 21 metros, a 0,30 m da superfície. O zooplâncton coletado a cada nove arrastos foi sendo concentrado em um balde de 30 litros, homogeneizado e transferido para um dos mesocosmos. Foram feitos um total de 81 arrastos. A escolha do sistema para a introdução dos organismos foi feita de forma aleatória, através de um sorteio, que resultou na seguinte seqüência: 2, 4, 1, 5, 9, 6, 3, 8 e 7, ou seja, o plâncton obtido nos primeiros nove arrastos foram transferidos para o sistema 2 e, assim, sucessivamente (Fig. 5).

Os organismos fito e zooplanctônicos permaneceram em aclimação por um período de quatro dias até o início da simulação do derrame de petróleo. Foram feitas sub-amostragens para uma avaliação prévia das variáveis físicas, químicas e biológicas em 19 de junho de 2002 (T 0h).

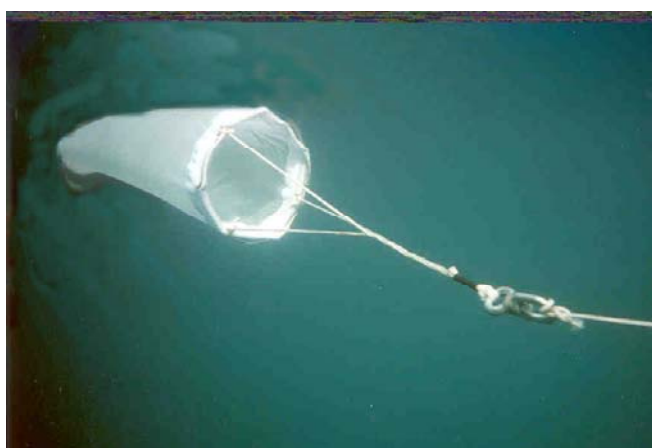


Figura 4: Rede de plâncton utilizada para coleta do zooplâncton a ser introduzido nos mesocosmos e durante o experimento de derrame simulado de petróleo na praia de Itaorna, Angra dos Reis, RJ, no período de 19 de junho a 13 de julho de 2002.



Figura 5: Introdução do zooplâncton nos mesocosmos para os experimentos de derrame simulado de petróleo conduzidos na praia de Itaorna, em Angra dos Reis, RJ, no período de 19 de junho a 13 de julho de 2002.

Substâncias testadas

1 – Petróleo:

Utilizou-se uma mistura dos petróleos árabe leve e russo (ARLE/URAL), cedida pela Petrobras/Transpetro/DTSE. O petróleo foi coletado em 6 de junho de 2002, diretamente da linha de abastecimento e mantido em garrafas de 1 litro, completamente cheias e vedadas. Estas garrafas só foram abertas no momento da utilização nos experimentos.

A caracterização física dessa mistura foi feita pelo laboratório de química do petróleo no Cenpes/Petrobras, conforme indicam os dados apresentados no quadro 1.

Esta mistura se caracteriza como um petróleo leve, com baixa viscosidade, baixo ponto de fluidez e alto °API¹. A opção pela utilização deste petróleo foi baseada no fato dele estar presente no duto na época do experimento, ser de grande circulação no litoral de Angra dos Reis, RJ, apresentando portanto, um maior risco de contaminação em caso de acidente.

¹ Escala utilizada para medir a densidade específica do petróleo. O °API é inversamente proporcional a gravidade específica a 60°C (15°F) (API, 2001).

Quadro 1: Caracterização física do petróleo ARLE/URAL utilizado no experimento de derrame simulado de petróleo conduzidos na praia de Itaorna, em Angra dos Reis, RJ, no período de 19 de junho a 13 de julho de 2002.

Análise	Resultado
Água e sedimentos (v/v)	< 0,05 %
Densidade relativa 4 °C	0,8600
° API	32,3
Viscosidade 20,0 °C	12,91 mm's
Viscosidade 30,0 °C	9,340 mm's
Viscosidade 40,0 °C	7,168 mm's
Ponto de fluidez automático	- 42 ° C

2 – Dispersante:

Utilizou-se o dispersante Corexit[®] 9500, que é uma formulação que foi desenvolvida no início da década de 90. Apresenta uma mistura de surfactante similar ao seu precursor Corexit[®] 9527, com uma quantidade maior de solvente oleofílico para uma maior eficiência em óleos com alta viscosidade e emulsões (Singer *et al.*, 1996; Lessard *et al.*, 1998), aumentando o tempo para a sua utilização, conforme descrito em Etkin (1999). Este dispersante contém constituintes aniônicos e não aniônicos, incluindo sorbitan oxigenado, mono e tri oleatos, monooleato sorbitan e o dioctil sulfocinato de sódio, além de um solvente oleofílico, caracterizado como éter glicol e sal de ácido carboxílico (Singer *et al.*, *op cit.*). A opção pela utilização do dispersante Corexit[®] 9500 baseou-se no fato dele ser um dos que tem registro junto ao Instituto Brasileiro do Meio Ambiente e dos Recursos Naturais Renováveis – IBAMA (Registro nº 02001.001607/01-13).

3.3 - SIMULAÇÃO DE DERRAME

O derrame simulado foi iniciado em 19 de junho de 2002 às 11:20 horas e terminou às 11:50. Três mesocosmos, F1, 2 e 3 foram utilizados como controle, contendo apenas água do mar e organismos. Os mesocosmos F4, 5 e 6 foram tratados com 800 mL de petróleo e os mesocosmos F7, 8 e 9 foram tratados com a mesma quantidade de petróleo ao qual foram adicionados 80 mL do dispersante químico. O volume utilizado foi calculado para obtenção de um filme de 1mm de petróleo na camada superficial. A partir do volume de petróleo foi calculada a quantidade de dispersante, utilizando-se a proporção 1:10, recomendada em combate a derrames no ambiente marinho (API, 1999). Após a introdução do petróleo e do dispersante foi feita uma mistura manual, em todos os sistemas, incluindo os controles, com um misturador e movimentos padronizados em duas vezes para cima e para baixo. A figura 6 ilustra as principais etapas da simulação e a figura 7 mostra a coluna d'água nos mesocosmos imediatamente após o início da simulação. Uma hora após o início da simulação foi feita a primeira amostragem, apenas para a avaliação química do petróleo. Vinte e quatro horas após o início da simulação foi retirado o excesso de petróleo sobrenadante com uma estopa absorvente, para que o mesmo não bloqueasse toda a luz ou prejudicasse as coletas, simulando o que normalmente é feito após um derrame, em que espumas são utilizadas para absorver parte do petróleo sobre a superfície da água.

A mistura petróleo + água do mar, contida nos flutuadores 4, 5 e 6, foi denominada **Fração Mecanicamente Dispersa em Água (FMDA)** e a mistura petróleo + dispersante + água do mar foi denominada **Fração Quimicamente Dispersa em Água (FQDA)**. As soluções contidas nos flutuadores correspondem, portanto, à concentração de 100%.

Ao final do experimento, no 25º dia, todo o conteúdo dos mesocosmos foi recolhido por um caminhão, a vácuo, e descartado no tanque de tratamento da Petrobras, em Angra dos Reis.



Figura 6: Principais etapas da simulação de derrame de petróleo na praia de Itaorna, Angra dos Reis, RJ, entre 19 de junho e 13 de julho de 2002. A – lançamento do petróleo; B – lançamento do dispersante; C – mistura com movimentos verticais lentos; D – recolhimento a vácuo do material no interior do mesocosmo para descarte.



Figura 7: Vista da coluna d'água no interior dos mesocosmos após a simulação de derrame de petróleo na praia de Itaorna, Angra dos Reis, em 19 de junho de 2002. A – Simulação com petróleo (FMDA); B – Simulação com petróleo e dispersante (FQDA).

3.4 – MÉTODOS DE AMOSTRAGEM

As amostragens foram feitas a 0 hora (T0h - antes da simulação de derrame), 1 e 6 horas após o início da simulação e no 2º, 3º, 8º, 16º e 25º dias. Esta periodicidade foi determinada em função da limitação do número de análises. A 1 e às 6 horas foram feitas coletas apenas para a análise química do petróleo e nas demais foram coletadas amostras para as seguintes análises: nutrientes (formas de nitrogênio e fósforo), material particulado suspenso (MPS), feofitina, clorofila *a*, total de hidrocarbonetos de petróleo (THP), hidrocarbonetos poliaromáticos (HPAs), compostos voláteis (benzeno, tolueno, etilbenzeno e xileno - BTEX), oxigênio dissolvido (OD), composição fitoplanctônica e zooplanctônica e testes de toxicidade, coletando-se um volume aproximado de 6 litros de amostra em cada dia de coleta.

As coletas para análises químicas e de toxicidade foram realizadas através da introdução dos frascos diretamente nos mesocosmos, com a utilização de luvas de cano longo. As amostras para análise de OD e fitoplâncton foram coletadas com garrafa van Dorn de 1 litro, em um mesmo lançamento. A primeira sub amostra drenada destinou-se à determinação do teor de OD. Esta alíquota foi colocada em um frasco de DBO de 300 mL e imediatamente fixada para posterior titulação. Para o fitoplâncton um volume de 200 mL foi drenado da garrafa van Dorn para frascos plásticos contendo 20 mL de formaldeído tamponado com tetraborato de sódio. Foi utilizada uma garrafa para o controle e outra para os tratamentos a fim de evitar contaminação.

Para as amostras de THP e HPAs foram utilizados frascos de vidro escuro de um litro e para BTEX frascos de vidro de 20 mL, previamente descontaminados e enviados pelo Laboratório Analytical Solutions Ltda. Os mesmos foram introduzidos nos mesocosmos, preenchidos em sua totalidade, vedados, etiquetados e mantidos resfriados ($4\pm 1^\circ\text{C}$) até o momento da análise.

O zooplâncton foi amostrado no interior dos sistemas com uma rede igual à utilizada para a coleta inicial, descrita anteriormente. Esta foi puxada verticalmente, desde o fundo até a superfície. A amostra foi fixada com formol a 4%, tamponado com tetraborato de sódio. Foi utilizada, também, uma rede para cada tratamento.

Foram registradas, *in situ*, a temperatura da água (termômetro de mercúrio), pH (Potenciômetro Orion), salinidade (refratômetro Atago S/Mill-E), radiação solar à sombra (luxímetro), e foram feitas observações das condições de tempo. Informações

meteorológicas como precipitação e temperatura do ar foram cedidas pelo Sistema de Meteorologia da Central Nuclear Almirante Álvaro Alberto - CNAEA e encaminhados pela área de Meteorologia da Gerência de Meio Ambiente da Eletrobrás Termonuclear S.A. - Eletronuclear.

3.5 – MÉTODOS DE ANÁLISES

3.5.1 – Análises químicas

As concentrações de ortofosfato reativo ($P-PO_4^{3-}$) foram determinadas pelo método fosfomolibdico, e as de nitrito ($N-NO_2^-$) foram determinadas pelo método da diazotização (Grasshoff *et al.*, 1983). Para o fósforo total (P total) as amostras foram digeridas em meio ácido com persulfato de potássio (Grasshoff *et al.*, *op cit.*). As concentrações de feofitina e de clorofila *a* foram determinadas após extração em acetona 90% por um período de 18 horas a uma temperatura de 4°C. As análises foram realizadas em espectrofotômetro e fluorímetro Turner Designs® TD-700. A concentração de amônia foi determinada pelo método azul de indofenol (Parsons *et al.*, 1984). Os aparelhos foram calibrados com clorofila *a* pura (Sigma® C-6144) e o limite de detecção para este ensaio foi de 0,02 $\mu g.L^{-1}$. Estas análises foram determinadas no laboratório de Hidrobiologia, do Instituto de Biologia da Universidade Federal do Rio de Janeiro - UFRJ.

O oxigênio dissolvido foi determinado *in situ* pelo método Winkler (CNEXO, 1983) em, no máximo, duas horas após a coleta.

As análises de HPA e BTEX foram feitas por cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massa (CG/EM). Foi utilizada uma coluna de fase estacionária DB-5 e uma coluna DB-624 de 30 m, respectivamente. Foram analisados os 16 HPA definidos pela Agência Ambiental Norte-Americana US-EPA (Environmental Protection Agency) como prioritários, por apresentarem propriedades carcinogênicas e mutagênicas aos seres vivos (ASTM, 1998; API, 2001). As análises de THP foram realizadas por cromatografia a gás com detector de ionização por chama, utilizando uma coluna DB-624 de 30 m. Estas análises foram realizadas pelo laboratório Analytical Solutions Ltda.

3.5.2 - Comunidade Fitoplanctônica

Para a análise qualitativa e quantitativa dos organismos fitoplanctônicos, seguiu-se o método de sedimentação de Utermöhl (1958). Este método consiste na homogeneização das amostras e deposição em câmaras de sedimentação de 2 mL. Adicionou-se rosa de bengala e, após um repouso de 48 horas, as amostras foram observadas sob microscópio invertido da marca Hund, com aumentos que variaram entre 200 e 1000 vezes.

As avaliações qualitativas e quantitativas foram realizadas de formas diferenciadas, devido à representatividade dos organismos encontrados. Foram consideradas as frações do nanoplâncton (< 20µm) e do microfitoplâncton (> 20µm) e o somatório destas frações constituiu a densidade celular total, expressa em céls.L⁻¹. Para identificação das espécies utilizou-se a seguinte bibliografia: Cupp (1943), Navarro (1981, 1982a, 1982b, 1982c, 1983), Ricard (1987), Sournia (1968, 1986). A identificação foi realizada com o auxílio da Doutoranda Lilian Rodrigues do Nascimento, do Laboratório de Estudos Paleoambientais, Departamento de Geoquímica Ambiental da Universidade Federal Fluminense.

3.5.2.1 - Testes de toxicidade da fração solúvel do petróleo e da mistura do petróleo com o dispersante, para microalgas.

Foram testadas em laboratório a toxicidade da fração solúvel do óleo em água (FSA) e a mistura do petróleo ARLE/URAL com o dispersante Corexit 9500[®] para as microalgas *Tetraselmis chuii* e *Skeletonema costatum*. Estes testes tiveram o objetivo de comparar a sensibilidade entre essas espécies a estas substâncias.

Tetraselmis chuii é uma microalga flagelada, pertencente à Classe Prasinophyceae, Ordem Chlorodendrales e à Família Chlorodendraceae. *S. costatum* é uma diatomácea formadora de cadeias e pertence à Classe Bacillariophyceae, Ordem Biddulphiales, Família Thalassiosiraceae. Ambas as espécies são planctônicas, marinhas, eurihalinas, oportunistas (Thomas, 1977) e representantes de populações nativas do litoral brasileiro.

Preparo das soluções-teste:

Fração Solúvel do óleo em Água:

A Fração Solúvel do óleo em Água (FSA) foi preparada na proporção 1:9 (v/v) seguindo a metodologia descrita em Anderson *et al.* (1974). Esta mistura foi agitada em agitador magnético por 20 horas em frasco Mariotte, com vórtex medindo 1/3 do volume total, e decantada por uma hora (Fig. 8a). O frasco foi coberto com um papel alumínio para evitar fotodegradação. Após esse período a fração aquosa foi retirada e, a partir dessa solução-estoque (100% da FSA) foram preparadas as soluções-teste de 25, 50 e 100% da FSA.

Mistura óleo e dispersante:

Foi preparada uma solução-estoque, misturando-se 2,73 mL de óleo, 0,27 mL de dispersante em 2997 mL de água do mar. Essa mistura foi agitada em homogeneizador elétrico por 5 segundos a uma velocidade de 13.000 rpm (Tarzwell, 1969) (Fig. 8b). A solução foi decantada e, após esse período, a fração dispersa em água (FDA) foi retirada e a partir dessa solução-estoque (1000 ppm da FDA- v/v) foram preparadas as soluções-teste de 25, 50 e 100% da FDA.

Os organismos utilizados nos testes foram provenientes de culturas axênicas, mantidas no Laboratório de Análise Ambiental Ltda. - Labtox, obtidas na fase exponencial de crescimento. A metodologia utilizada nos testes, com ambas as espécies, seguiu a descrita em UNEP (1989) e as condições em que foram realizados os testes são sintetizadas no quadro 2, tendo sido realizadas leituras em 24, 48, 72 e 96 horas.

A quantificação das microalgas foi feita em câmara de Neubauer sob microscópio em aumento de 40 vezes. Ao final de 96 horas foi calculada a concentração inibitória a 20 e a 50% dos organismos (CI_{20} e $CI_{50;96h}$) (Nörberg-King, 1993).



Figura 8: Preparo das soluções para os testes de toxicidade com petróleo e com a mistura do petróleo e dispersante com as microalgas *Tetraselmis chuii* e *Skeletonema costatum*. A – Preparo da fração solúvel do óleo em água do mar (FSA); B – Preparo da fração dispersa do óleo em água do mar (FDA).

Quadro 2: Resumo das condições em que foram realizados os testes de toxicidade com a fração solúvel do óleo em água do mar (FSA) e com a fração dispersa do óleo (FDA), às microalgas *Tetraselmis chuii* e *Skeletonema costatum*.

Tipo de teste.....	Estático sem renovação
Temperatura de incubação.....	20 ± 0,5°C
Luminosidade.....	12 horas claro / 12 horas escuro
Frasco-teste.....	Erlenmeyer de 250 mL
Volume da solução-teste.....	100 mL
Origem dos organismos.....	Cultivo na fase exponencial de crescimento
Densidade de org / frasco-teste.....	3,9 x 10 ⁴ (<i>S. costatum</i>) e 1,4 x 10 ⁴ (<i>T. chuii</i>)
Nº de réplicas / concentração.....	3
Nº de diluições.....	3 + 1 controle (água de diluição)
Água de diluição.....	Água do mar natural filtrada em 0,45 µm, enriquecida com meio de cultura Conway (Walne, 1966)
Salinidade.....	34 ± 1
Duração do teste.....	96 horas
Resposta.....	Inibição do crescimento
Valor medido.....	CI ₂₀ ;96h e CI ₅₀ ;96h
Método de cálculo	Método de Interpolação linear (Nörberg-King, 1993)

3.5.3 - Comunidade Zooplanctônica:

A triagem e a quantificação dos organismos zooplanctônicos foram feitas sob microscópio estereoscópico para a posterior identificação das espécies. A triagem foi feita de forma diferenciada para os diversos grupos taxonômicos. Inicialmente foi feita a triagem de 25% da amostra, porém, para aqueles grupos com menos de 100 organismos foi feita a triagem total da amostra. Foi utilizado o quarteador Folsom para fracionar as amostras. Os náuplios foram quantificados e analisados separadamente, não sendo incluídos, portanto, no número total de organismos. Os resultados foram expressos em abundância relativa (n° de indivíduos de uma determinada espécie ou grupo $\times 100 / n^\circ$ total de organismos na amostra) em função da impossibilidade de se calcular o volume de água filtrado pela rede de coleta.

Os copépodes foram identificados pela especialista Dra. Cristina Dias do laboratório de Zooplâncton do Departamento de Zoologia, Instituto de Biologia da Universidade Federal do Rio de Janeiro.

3.5.4 - Testes de toxicidade da água oriunda dos mesocosmos contendo petróleo (FMDA) ou petróleo mais dispersante (FQDA), aos organismos-teste animais *Lytechinus variegatus* e *Mysidium gracile*.

Para a análise da toxicidade foi coletado um litro de amostra em cada tratamento experimental. Essas amostras foram mantidas sob refrigeração ($4\pm 1^\circ\text{C}$) até o momento da realização dos testes. Foram realizados testes crônicos de curta duração com embriões do ouriço *Lytechinus variegatus* (Echinodermata), com amostras obtidas em todos os dias de coleta, e testes agudos com o misidáceo *Mysidium gracile* (Crustacea) com amostras coletadas em 19/06, T0h e T6h; 26/06; 04/07 e 13/07. Estas espécies são comuns do litoral do estado do Rio de Janeiro e vêm sendo utilizadas em testes de toxicidade com petróleo e/ou dispersantes químicos. Além disso, são encontradas em abundância no local em que foi conduzido o experimento. As metodologias dos testes seguiram as descritas em Cetesb (1999) e Reynier (1996), respectivamente, e as condições utilizadas nos testes estão sintetizadas no quadro 3. Estas análises foram conduzidas no Labtox.

Paralelamente aos testes com as amostras, foram conduzidos testes com a substância padrão, dodecil sulfato de sódio (DSS) para *L. variegatus* e zinco, na forma

de zinco heptahidratado, para *M. gracile*. Estes testes tiveram como objetivo verificar se a sensibilidade dos organismos utilizados encontrava-se dentro da faixa estabelecida para as respectivas espécies, pelo laboratório. Foram feitas medidas da concentração de oxigênio dissolvido (OD), pH e salinidade, em uma das réplicas para cada tratamento, no início e no final dos experimentos.

Os resultados obtidos nos testes crônicos com *L. variegatus* foram testados quanto à normalidade e à homocedasticidade, através dos testes de Chi-quadrado ou Shapiro-Wilk para a primeira análise e o teste de Bartlett para a segunda análise.

Para o cálculo da concentração de efeito não observado (CENO) e da concentração de efeito observado (CEO) foi utilizada a análise de comparações múltiplas paramétricas de Dunnett (ANOVA), com o objetivo de verificar a existência de diferença significativa entre cada concentração e o controle coletado em, pelo menos, um mesocosmo controle. Essas análises foram feitas com a utilização do programa estatístico TOXSTAT 3.5 (Gulley *et al.*, 1991). A partir destes dados, foi calculado o valor crônico (VC), que é a média geométrica entre CENO e CEO.

Para os resultados obtidos nos testes com *L. variegatus*, conduzidos com a substância padrão (DSS), foi calculada a $CE(I)_{50;24h}$ e nos testes com *M. gracile* utilizando Zn, foi calculada a $CL(I)_{50;96h}$. Estes resultados foram calculados através do programa estatístico Trimmed Spearman-Kärber (Hamilton *et al.*, 1977).

Quadro 3: Resumo das condições dos testes de toxicidade realizados com a água oriunda dos mesocosmos contendo petróleo ou petróleo mais dispersante, aos organismos-teste *Lytechinus variegatus* e *Mysidium gracile*.

PARÂMETRO	Espécie	
	<i>Mysidium gracile</i>	<i>Lytechinus variegatus</i>
Tipo de teste	estático sem renovação	estático sem renovação
Temperatura de incubação	25 ± 0,5 °C	25 ± 0,5 °C
Luminosidade	12 horas claro/12 horas escuro	12 horas claro/12 horas escuro
Frasco teste	béquer de 400 mL	tubos de ensaio
Volume de solução teste	300 mL	10 mL
Origem dos organismos	Cultivo Labtox	gametas obtidos de org. adultos coletados no campo
Idade dos organismos	2 a 4 dias	não se aplica
Nº de organismos / frasco	10	± 300 ovos
Nº de réplicas / concentração	3	4
Nº de diluições	1 a 5* + 1 controle **	1 a 5* + 1 controle**
Alimentação	30 náuplios de <i>Artemia</i> sp. recém eclodidos/ misidáceo/dia	não se aplica
Água de diluição	água do mar natural filtrada (0,45 µm)	água do mar natural filtrada (0,45 µm)
Salinidade da água	34±1	34±1
Duração do teste	96 horas	25 a 26 horas
Resposta	mortalidade	embriões mal formados ou com desenvolvimento retardado
Valor medido	CL(I) ₅₀ ; 96h (concentração inicial letal a 50% dos organismos em teste em um período de 96h)	CENO, CEO, VC
Método de Cálculo	Trimmed Spearman-Karber (Hamilton <i>et al.</i> , 1977)	Toxstat (Gulley <i>et al.</i> , 1991)

* O número de diluições variou com a toxicidade da amostra e com o número de organismos disponíveis.

** Controle: exposição do organismo à água de diluição nas mesmas condições da amostra.

4 – RESULTADOS

4.1 - Condições meteorológicas

Durante o período em que foi realizado o experimento a condição do tempo variou de sol a chuva intensa, que ocorreu do dia 24 ao dia 28/06 e nos dias 12 e 13/07. A temperatura do ar variou entre 17,7 e 23,8°C (Fig. 9, anexo 1). A incidência luminosa, medida no momento das coletas, variou de 5080 lux a 8540 lux (anexo 2). Os horários em que foram realizadas as coletas estão listados no anexo 2.

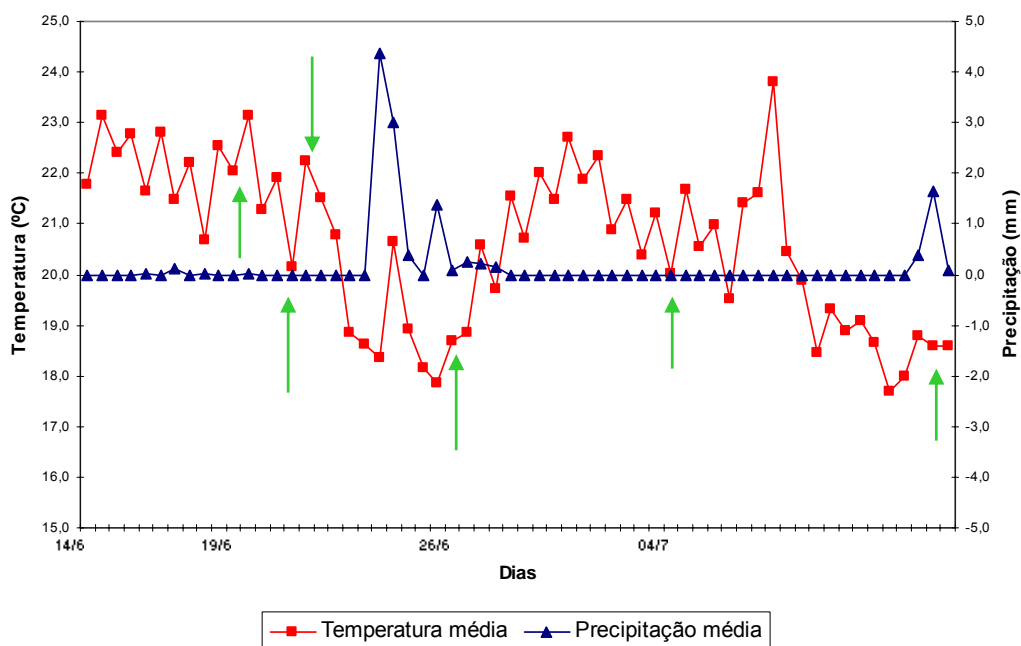


Figura 9: Média de cada 12 horas da temperatura do ar (°C) e da precipitação (mm) registradas na praia de Itaorna, em Angra dos Reis, durante o período de 14 de junho a 13 de julho de 2002. As setas () representam o momento em que foram realizadas as coletas nos mesocosmos.

No dia 25 de junho, ocorreu um forte temporal que causou a perda dos mesocosmos correspondentes às réplicas F1 e F9 e no dia 13 de julho, última coleta, houve a perda do mesocosmo correspondente à réplica F6, devido ao rompimento do cabo que prendia os flutuadores a poita.

4.2 - Variáveis físicas e químicas

A variação da temperatura, pH, salinidade e concentração de oxigênio dissolvido medidos nos três tratamentos ao longo do experimento é apresentada nas figuras 10 a 12, e as médias com os respectivos desvios padrão nas tabelas I a III. Os valores brutos destes parâmetros encontram-se no anexo 3.

A temperatura variou de 22 a 26 °C, com média entre 22 (dp = não calculado) e 25 °C (dp = não calculado), não havendo variação entre os diferentes tratamentos. Os valores de pH foram ligeiramente mais baixos no tratamento que recebeu petróleo e dispersante. O valor médio de pH variou entre 7,84 (dp=0,06) e 8,21 (dp=0,04) no controle, entre 7,80 (dp=0,1) e 8,20 (dp=0,03) no tratamento com petróleo e entre 7,41 (dp=0,12) e 7,91 (dp=0,07) na mistura petróleo e dispersante.

Foi observada uma queda da salinidade após sete dias de experimento (26/6), no tratamento controle F3, de 34 para 27 e no tratado com petróleo, de 34 para 30, nos mesocosmos F4 e F6, coincidindo com a ocorrência de uma forte chuva. O tratamento com dispersante químico foi aquele em que foram registradas as concentrações de oxigênio mais baixas e a quantidade de material particulado suspenso mais elevada (Fig. 13).

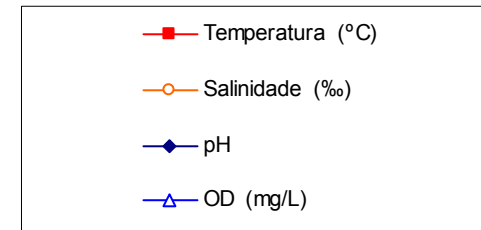
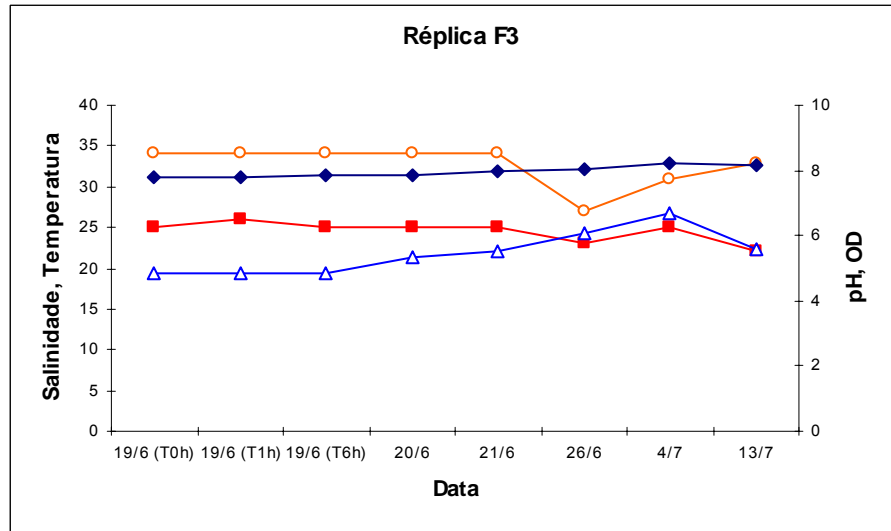
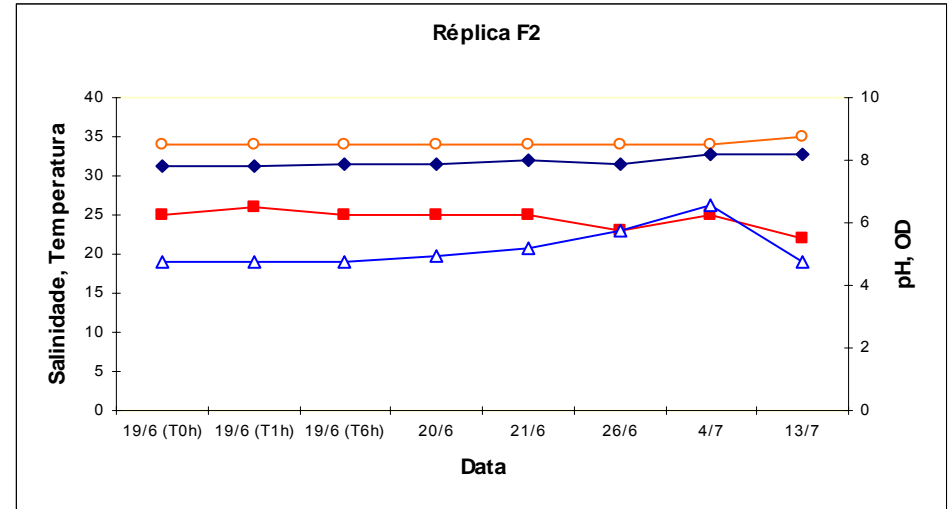
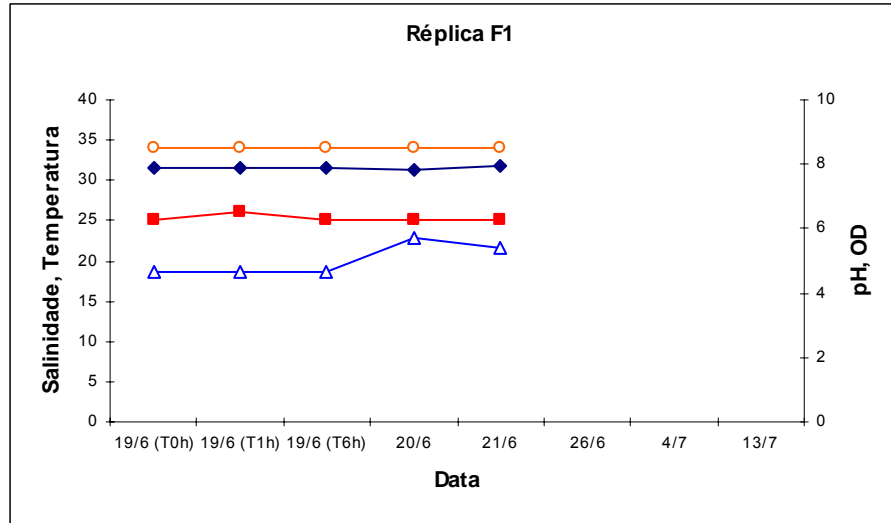


Figura 10: Variação da salinidade, temperatura, pH e oxigênio dissolvido (OD) medidos no interior dos mesocosmos **CONTROLE** no período entre 19 de junho e 13 de julho de 2002.

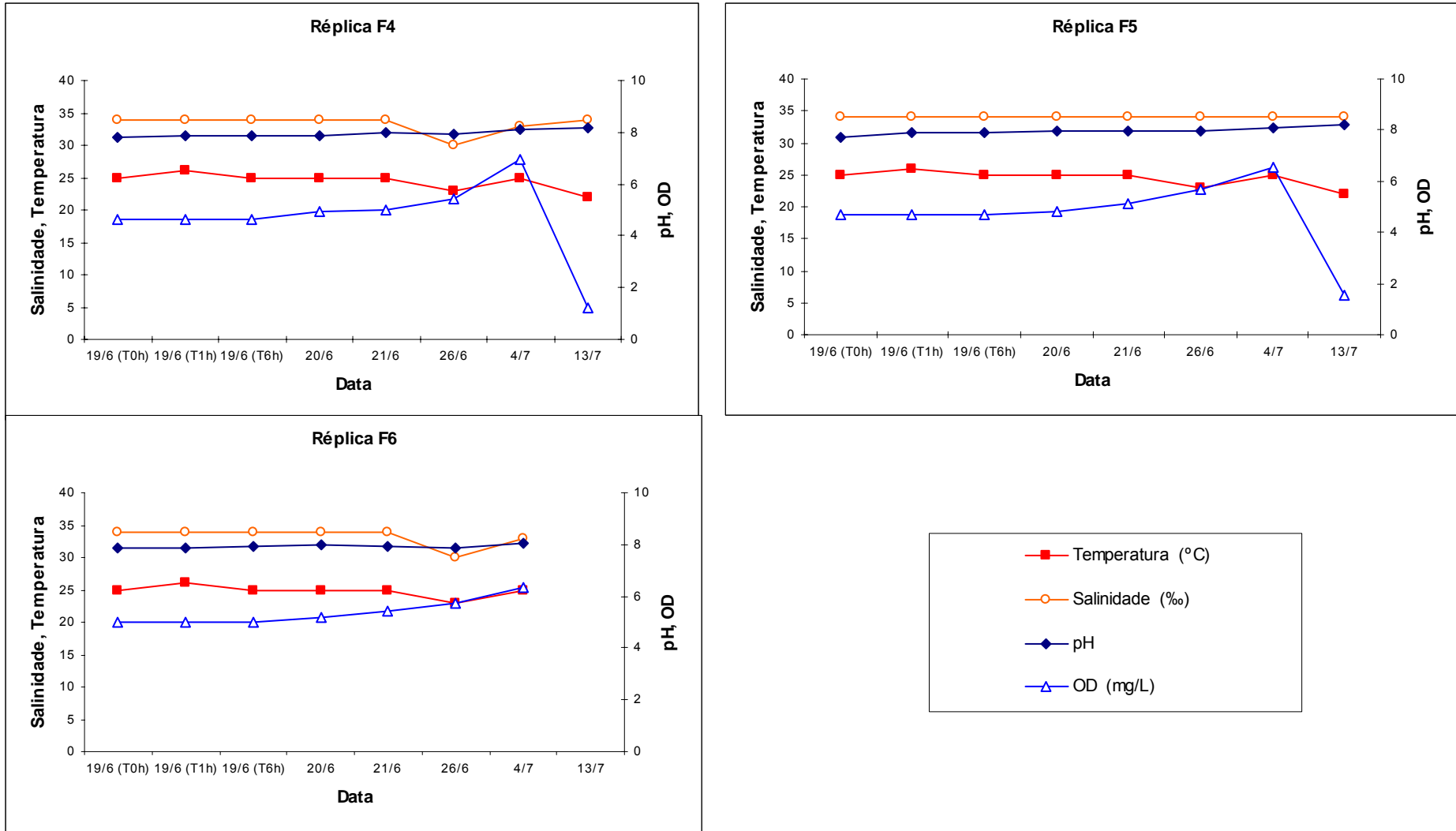


Figura 11: Variação da salinidade, temperatura, pH e oxigênio dissolvido (OD) medidos no interior dos mesocosmos tratados com **PETRÓLEO** (FMDA) no período entre 19 de junho e 13 de julho de 2002.

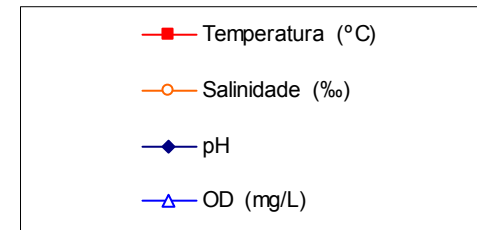
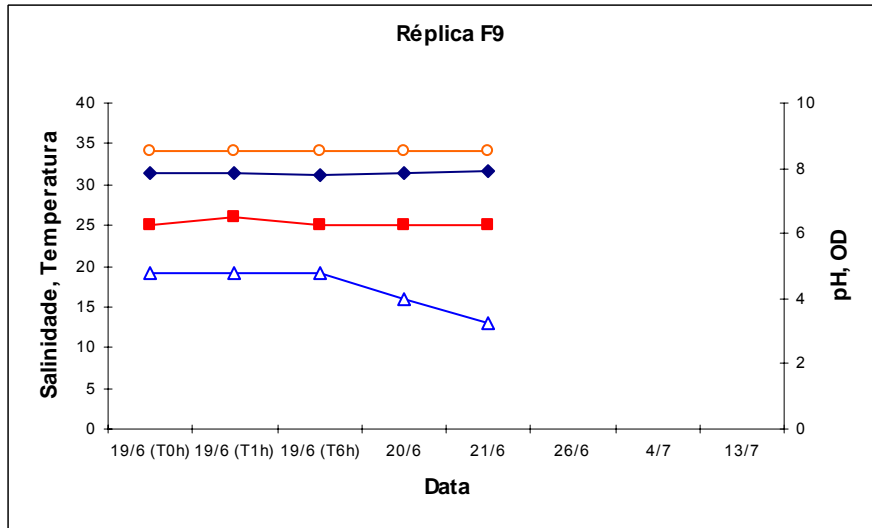
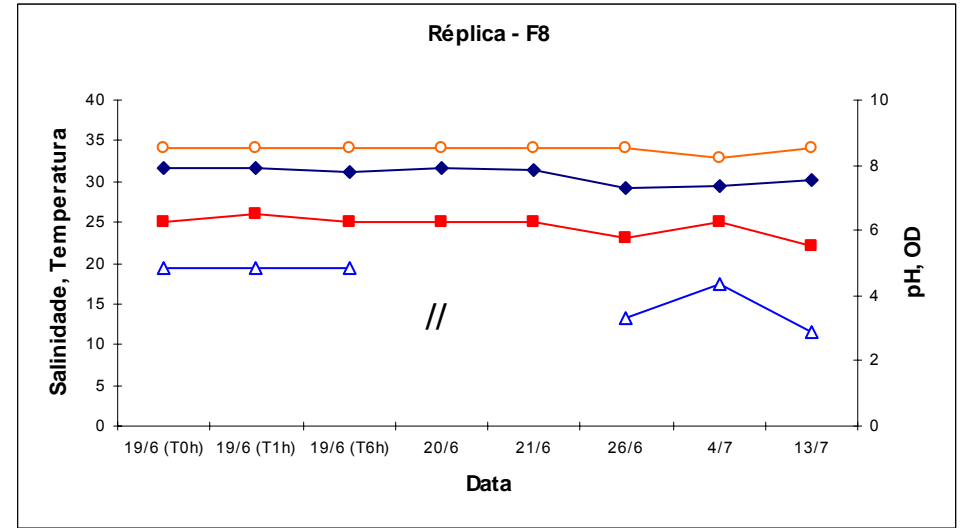
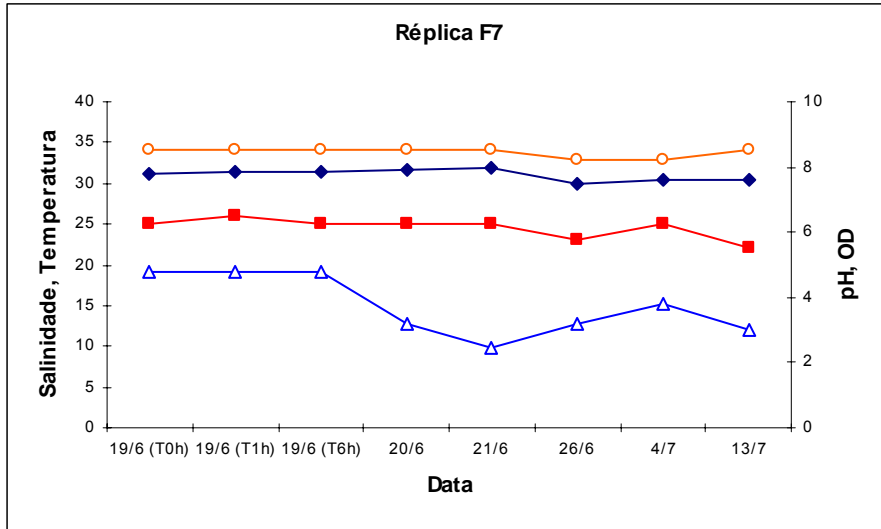


Figura 12: Variação da salinidade, temperatura, pH e oxigênio dissolvido (OD) medidos no interior dos mesocosmos tratados com **PETRÓLEO E DISPERSANTE** (FQDA) no período entre 19 de junho e 13 de julho de 2002. // Não foram realizadas coletas nesta réplica nos dias 20 e 21 de junho.

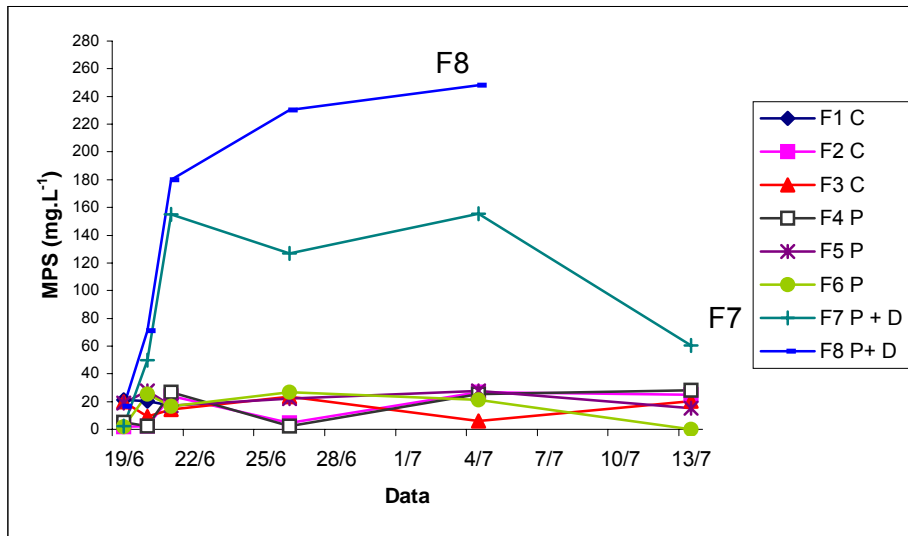


Figura 13: Variação do material particulado suspenso (MPS) medido em cada mesocosmo durante as coletas, no período entre 19 de junho a 13 de julho de 2002, no experimento de derrame simulado de petróleo na Praia de Itaorna, em Angra dos Reis, RJ. C – Controle; P – Petróleo; D – Dispersante.

Tabela I: Valores médios da temperatura, pH, salinidade, concentração de oxigênio dissolvido (OD) e material particulado em suspensão (MPS) medidos nos mesocosmos **CONTROLE**, no experimento de derrame simulado de petróleo na Praia de Itaorna, em Angra dos Reis, RJ. NC = não calculado. Desvio padrão entre parênteses.

Data da coleta	Temperatura (°C)	pH	Salinidade	OD (mg.L ⁻¹)	MPS (mg.L ⁻¹)
19/6	25 (NC)	7,84 (0,06)	34,0 (NC)	4,76 (0,09)	14,3 (10,8)
20/6	25 (NC)	7,86 (0,04)	34,0 (NC)	5,34 (0,38)	10,5 (9,0)
21/6	25 (NC)	7,97 (0,01)	34,0 (NC)	5,36 (0,19)	18,5 (5,1)
26/6	23 (NC)	7,98 (0,11)	30,5 (5,0)	5,91 (0,26)	14,1 (13,6)
04/7	25 (NC)	8,21 (0,04)	32,5 (2,0)	6,60 (0,08)	16,5 (14,6)
13/7	22 (NC)	8,16 (0,01)	34,0 (1,0)	5,18 (0,56)	22,6 (3,1)

Tabela II: Valores médios da temperatura, pH, salinidade, concentração de oxigênio dissolvido (OD) e material particulado em suspensão (MPS) medidos nos mesocosmos tratados com **PETRÓLEO**, no experimento de derrame simulado de petróleo na Praia de Itaorna, em Angra dos Reis, RJ. NC = não calculado. Desvio padrão entre parênteses.

Data da coleta	Temperatura (°C)	pH	Salinidade	OD (mg.L ⁻¹)	MPS (mg.L ⁻¹)
19/6	25 (NC)	7,80 (0,1)	34,0 (NC)	4,79 (0,2)	13,5 (10,0)
20/6	25 (NC)	7,94 (0,06)	34,0 (NC)	4,97 (0,2)	20,8 (10,1)
21/6	25 (NC)	7,95 (0,02)	34,0 (NC)	5,17 (0,2)	15,9 (1,4)
26/6	23 (NC)	7,91 (0,04)	31,0 (2,0)	5,60 (0,1)	24,5 (2,2)
04/7	25 (NC)	8,07 (0,04)	33,0 (1,0)	6,61 (0,3)	24,3 (10,9)
13/7	22 (NC)	8,20 (0,03)	34,0 (NC)	1,36 (0,2)	17,8 (3,7)

Tabela III: Valores médios da temperatura, pH, salinidade, concentração de oxigênio dissolvido (OD) e material particulado em suspensão (MPS) medidos nos mesocosmos tratados com **PETRÓLEO E DISPERSANTE**, no experimento de derrame simulado de petróleo na Praia de Itaorna, em Angra dos Reis, RJ. NC = não calculado. Desvio padrão entre parênteses.

Data da coleta	Temperatura (°C)	pH	Salinidade	OD (mg.L ⁻¹)	MPS (mg.L ⁻¹)
19/6	25 (NC)	7,84 (0,07)	34,0 (NC)	4,81 (0,03)	13,8 (10,7)
20/6	25 (NC)	7,88 (0,04)	34,0 (NC)	3,16 (NC)	-
21/6	25 (NC)	7,91 (0,07)	34,0 (NC)	2,86 (0,53)	155,0 (NC)
26/6	23 (NC)	7,41 (0,12)	34,0 (1,0)	3,25 (0,12)	-
04/7	25 (NC)	7,49 (0,20)	33,0 (NC)	4,06 (0,40)	201,9 (65,7)
13/7	22 (NC)	7,57 (0,06)	34,0 (NC)	2,97 (0,09)	60,2 (NC)

As análises da concentração de nutrientes e de clorofila *a* somente puderam ser realizadas nas réplicas controle (não tratadas) porque a presença do petróleo interferiu na leitura espectrofotométrica.

Os valores de ortofosfato variaram entre 0,09 e 0,48 μM e o fósforo total de 0,43 a 0,88 μM . A amônia variou entre 0,03 e 0,98 μM e o nitrito entre 0,03 e 0,17 μM . A clorofila *a* e a feofitina variaram entre 0,05 e 1,58 $\mu\text{g.L}^{-1}$ e 0,11 e 1,08 $\mu\text{g.L}^{-1}$, respectivamente (Fig. 14 e anexo 4), nos mesocosmos controle.

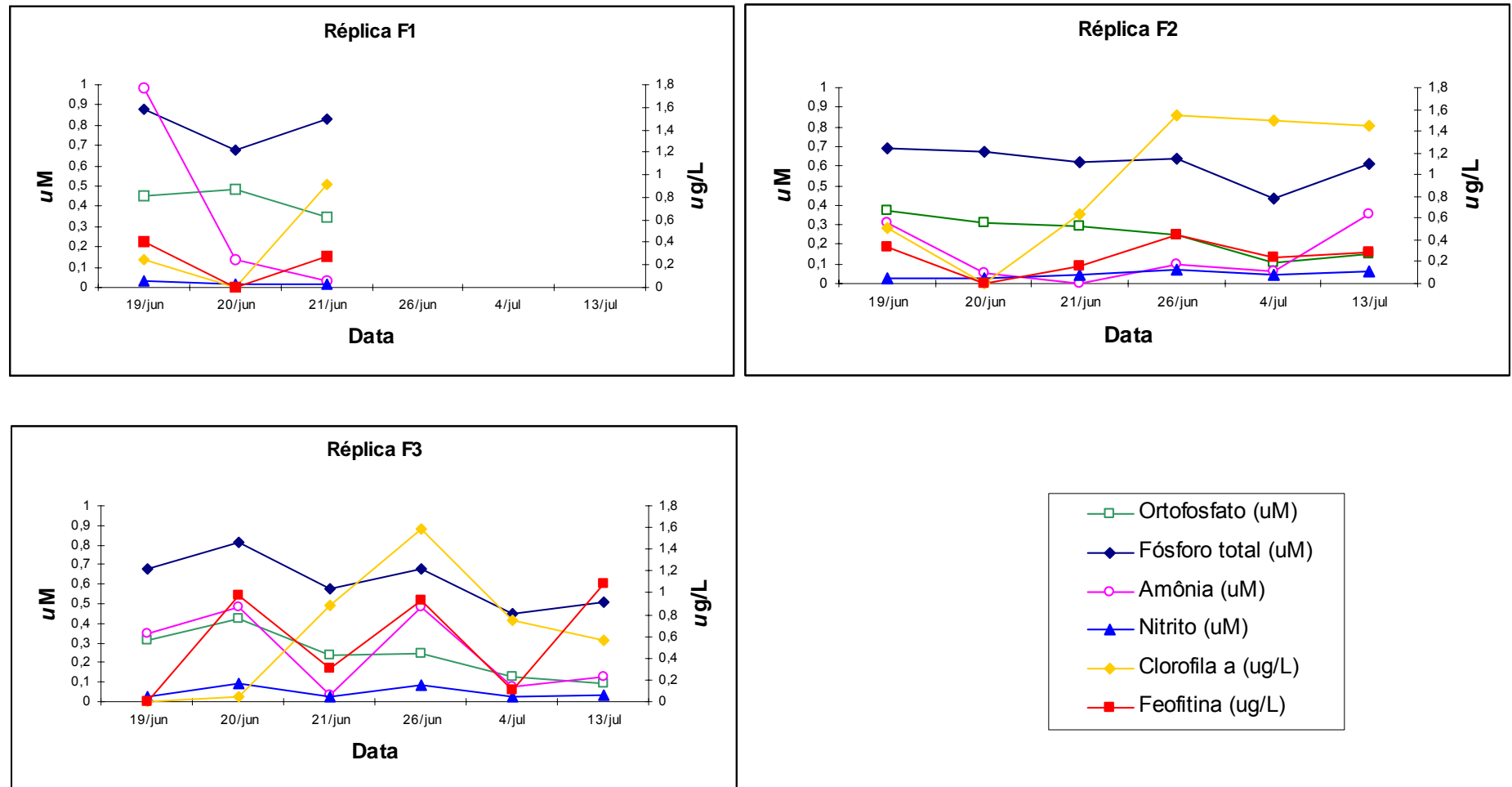


Figura 14: Variação do ortofosfato, fósforo total, amônia, nitrito, clorofila a e feofitina nos mesocosmos **CONTROLE** durante o período entre 19 de junho e 13 de julho de 2002, no experimento de derrame simulado de petróleo na Praia de Itaorna, em Angra dos Reis, RJ.

Composição Química da Água

As tabelas IV a VI mostram as concentrações dos diferentes compostos químicos do petróleo nas amostras tomadas na coluna d'água nas diferentes datas de amostragem. Nos sistemas com petróleo foi observada uma redução na concentração do HPA total da FMDA, atingindo níveis não detectáveis a partir do 8º dia de experimento (26/6/2002). Os compostos mais abundantes desta fração foram: naftaleno, fenantreno, fluoreno e acenaftileno. Nos mesocosmos tratados com a mistura de petróleo e dispersante químico as concentrações de HPA na FQDA foram mais elevadas do que nos sistemas tratados apenas com petróleo. Nestas réplicas foi observada, também, uma diminuição na concentração destes compostos com o tempo de experimento, até o 25º dia (13/7/2002). Os compostos que predominaram nas amostras, em todas as réplicas, foram o naftaleno e o fenantreno. Com relação à concentração de hidrocarbonetos totais de petróleo (THP) observou-se que, no tratamento com petróleo houve uma diminuição das concentrações ao longo do experimento, chegando a atingir níveis muito baixos ou não detectáveis (ND), como constatado em um dos mesocosmos tratados com petróleo (F5), no 25º dia (13/7/2002). Nos mesocosmos tratados com a mistura de petróleo e dispersante as concentrações totais de TPH foram superiores às encontradas nos mesocosmos tratados apenas com petróleo, com valores mais elevados que este ao final do experimento.

A análise dos compostos voláteis (BTEX) revelou uma redução acentuada na concentração destes 24 horas após o início da simulação, chegando a atingir níveis não detectáveis no 16º dia (4/7/2002), nos mesocosmos tratados apenas com petróleo. As concentrações de compostos voláteis totais foram mais elevadas nos mesocosmos tratados com a mistura de petróleo e dispersante.

4.3 - Comunidade Fitoplanctônica

A comunidade fitoplanctônica presente no local de estudo e na água utilizada para o preenchimento dos mesocosmos foi caracterizada qualitativa e quantitativamente. No total foram identificadas 20 unidades taxonômicas, sendo 15 pertencentes à Divisão Bacillariophyta (diatomáceas), 3 pertencentes à Divisão Dinophyta (dinoflagelados), 1 à Divisão Cyanophyta (cianofíceas) e fitoflagelados (espécies não identificadas). Entre as diatomáceas, foram registradas formas cêntricas e penatas, de difícil identificação devido ao tamanho reduzido (< 20 µm). A Tabela VII apresenta o inventário florístico dos taxons observados nas amostras ao longo do experimento.

Tabela VII – Composição taxonômica do fitoplâncton na coluna d'água na Praia de Itaorna, Angra dos Reis, RJ, em 19 de junho de 2002.

Bacillariophyta

Chaetoceros laevis Ehrenberg

Corethron criophilum Schmidt

Cylindrotheca closterium Lewin & Reiman (= *Nitzschia closterium* (Ehrenberg) Wm. Smith)

Ditylum brightwelli Ehrenberg

Eucampia cornuta Brebisson

Guinardia flaccida Hasle

Hemidiscus cuneiformis Wallich

Nitzschia longissima (Brebissoni) Grunow

Pleurosigma normani Ralfs

Pseudonitzschia delicatissima Ehrenberg

Thalassionema nitzschioides Grunow

Thalassiothrix frauenfeldii Brebissoni

Skeletonema costatum (Greville) Cleve

Cêntricas não identificadas.

Penatas não identificadas.

Dinophyta

Prorocentrum compressum (Bailey) Abe ex Dodge

Prorocentrum micans Ehrenberg

Protoperidinium divergens Ehrenberg

Cyanophyta

Oscillatoria sp

Fitoflagelados não identificados.

A densidade total do fitoplâncton (considerando-se a média entre os três tratamentos), obtida no instante inicial do experimento, foi de $12,9 \times 10^4 \text{ céL.L}^{-1} \pm 3,0 \times 10^4 \text{ céL.L}^{-1}$. A fração nanofitoplanctônica foi responsável pelas maiores densidades, com uma contribuição superior a 60% da densidade total em todos os tratamentos (Fig. 15). A fração microfitoplanctônica ocorreu em menor densidade, embora com uma maior variedade de espécies. Considerando-se os principais grupos taxonômicos, as diatomáceas foram quantitativamente mais expressivas e com maior número de espécies identificadas. A este grupo seguiram os fitoflagelados, os dinoflagelados e as cianofíceas (Anexo 5).

Ao longo do experimento foram registradas nos mesocosmos controle densidades celulares médias que variaram de $8,7 \times 10^4 \text{ céL.L}^{-1} \pm 0,6 \times 10^4 \text{ cel.L}^{-1}$, em 04/7/2002, a $21,7 \times 10^4 \text{ céL.L}^{-1} \pm 7,3 \times 10^4 \text{ céL.L}^{-1}$ em 20/6 (Fig. 16a). As diatomáceas foram as mais abundantes, representando, em média de 48,58 a 71,82%, seguidas pelos fitoflagelados, dinoflagelados e cianofíceas. Estes dois últimos grupos contribuíram com menos de 10% da densidade total (Fig. 17). Nos mesocosmos tratados apenas com petróleo a densidade celular média variou de $3,2 \times 10^4 \pm 3,7 \times 10^4 \text{ céL.L}^{-1}$ a $11,5 \times 10^4 \pm 2,3 \times 10^4 \text{ céL.L}^{-1}$, observando-se uma diminuição da densidade ao final do experimento (Fig. 16b). Entre os grupos taxonômicos, as diatomáceas foram sempre mais abundantes. Nos mesocosmos tratados com a mistura de petróleo e dispersante químico a densidade celular média variou de $0,80 \times 10^4 \pm 0,5 \times 10^4$ a $11,6 \times 10^4 \pm 1,75 \times 10^4 \text{ céL.L}^{-1}$ (Fig. 16c). Assim como nos mesocosmos tratados apenas com petróleo, observou-se ao longo do tempo, uma diminuição da densidade do fitoplâncton, com efeito mais marcante em 20 e 21/6. No entanto, no mesocosmo controle também foi verificada uma redução (Fig. 18).

A predominância da fração nanofitoplanctônica observada na população inicial, foi mantida até o final do período (25º dia de experimento), nos três tratamentos. Comparando-se os tratamentos verificou-se a ocorrência de diferença significativa ($P= 0,0007$; $n=42$) entre a densidade fitoplanctônica no mesocosmo controle e aquela dos tratamentos que receberam apenas petróleo e a mistura de petróleo e dispersante químico. Não houve, porém, diferença significativa entre a densidade fitoplanctônica nestes dois últimos tratamentos, (p) 0,87 (Fig. 19).

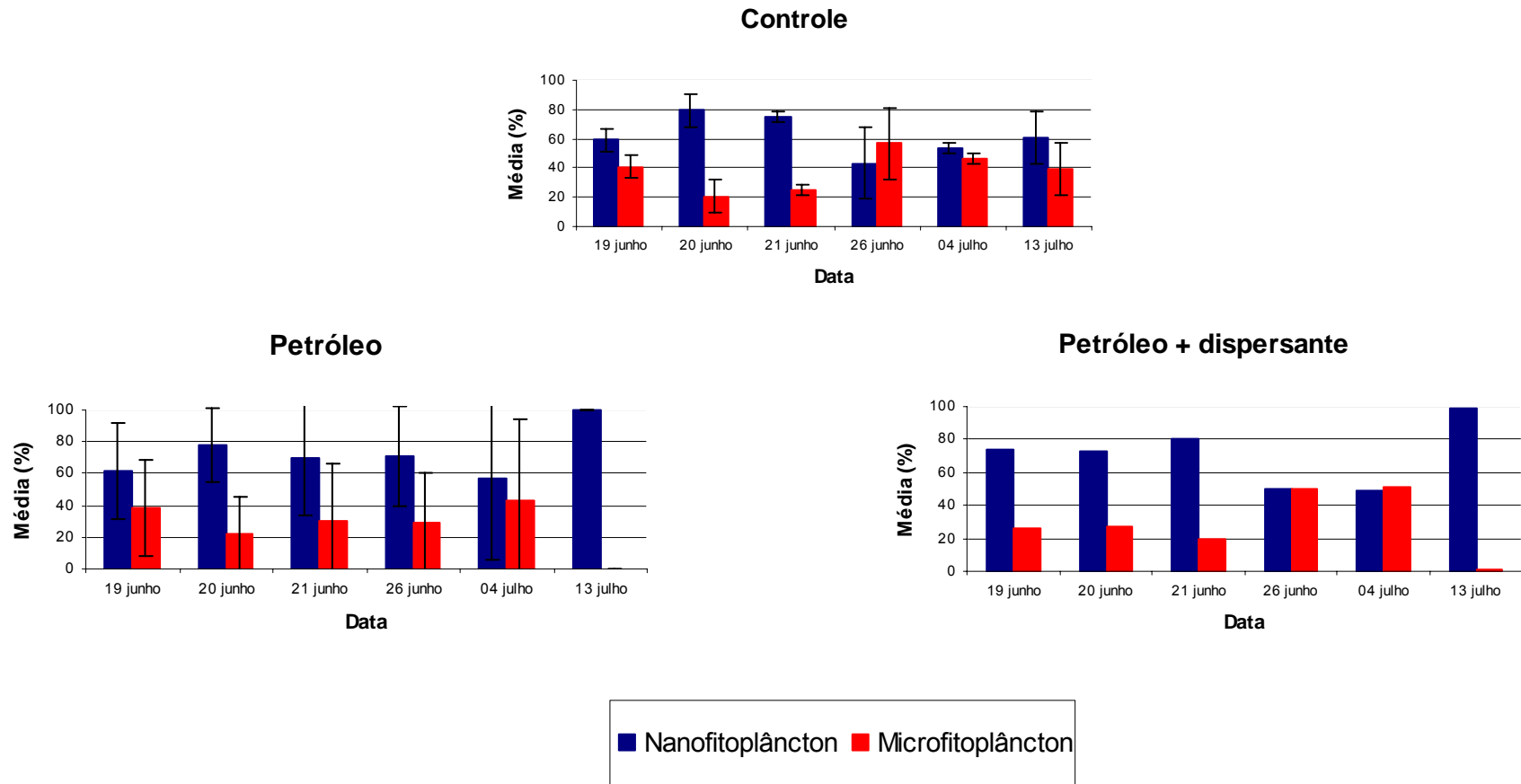


Figura 15: Contribuição relativa média das frações do fitoplâncton (nanoplâncton e microfitoplâncton) nos mesocosmos submetidos a diferentes tratamentos (controle, com petróleo e com a mistura petróleo e dispersante) no período de 19 de junho a 13 de julho de 2002, no experimento simulado de derrame de petróleo na Praia de Itaorna, Angra dos Reis, RJ.

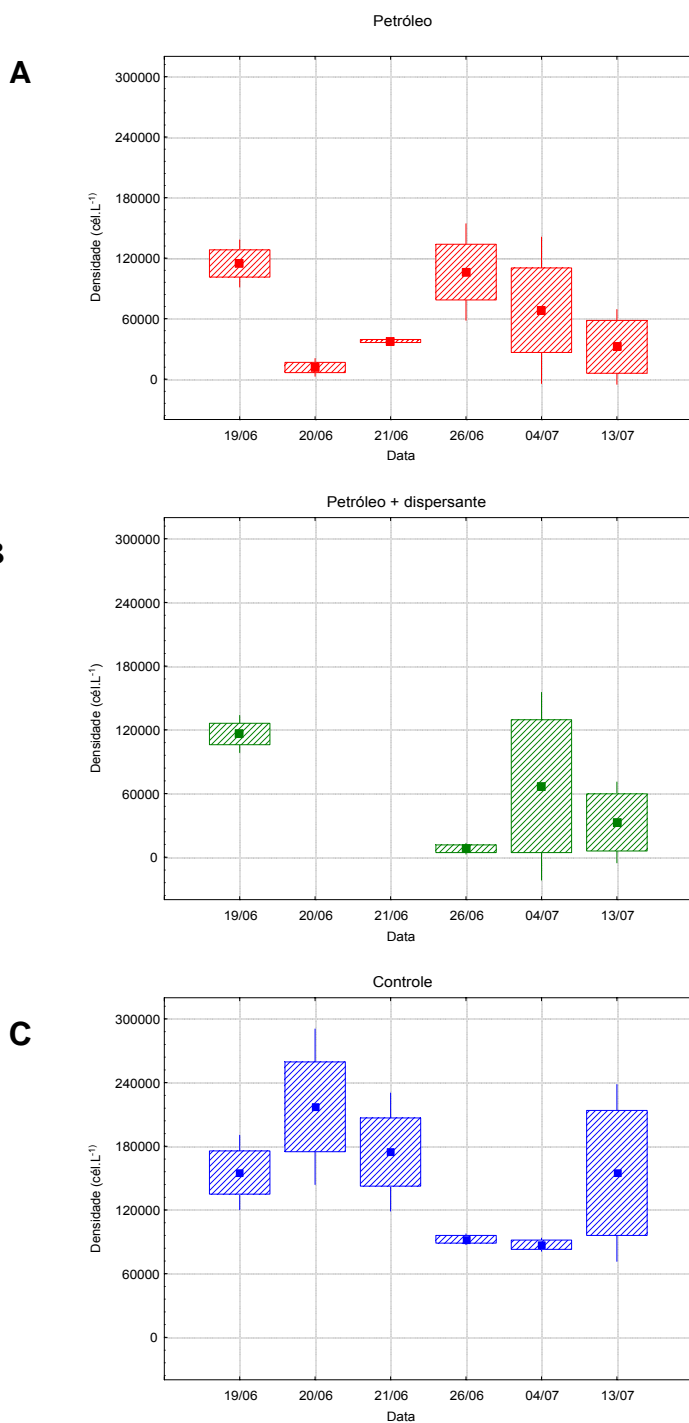


Figura 16: Densidade do fitoplâncton (média e desvio padrão entre as réplicas) nos mesocosmos controle (a) e naqueles tratados com petróleo (b) e com a mistura de petróleo e dispersante (c), na Praia de Itaorna, Angra dos Reis, RJ, amostrado em diferentes datas ao longo do período de 19 de junho a 13 de julho de 2002, no experimento de derrame simulado de petróleo.

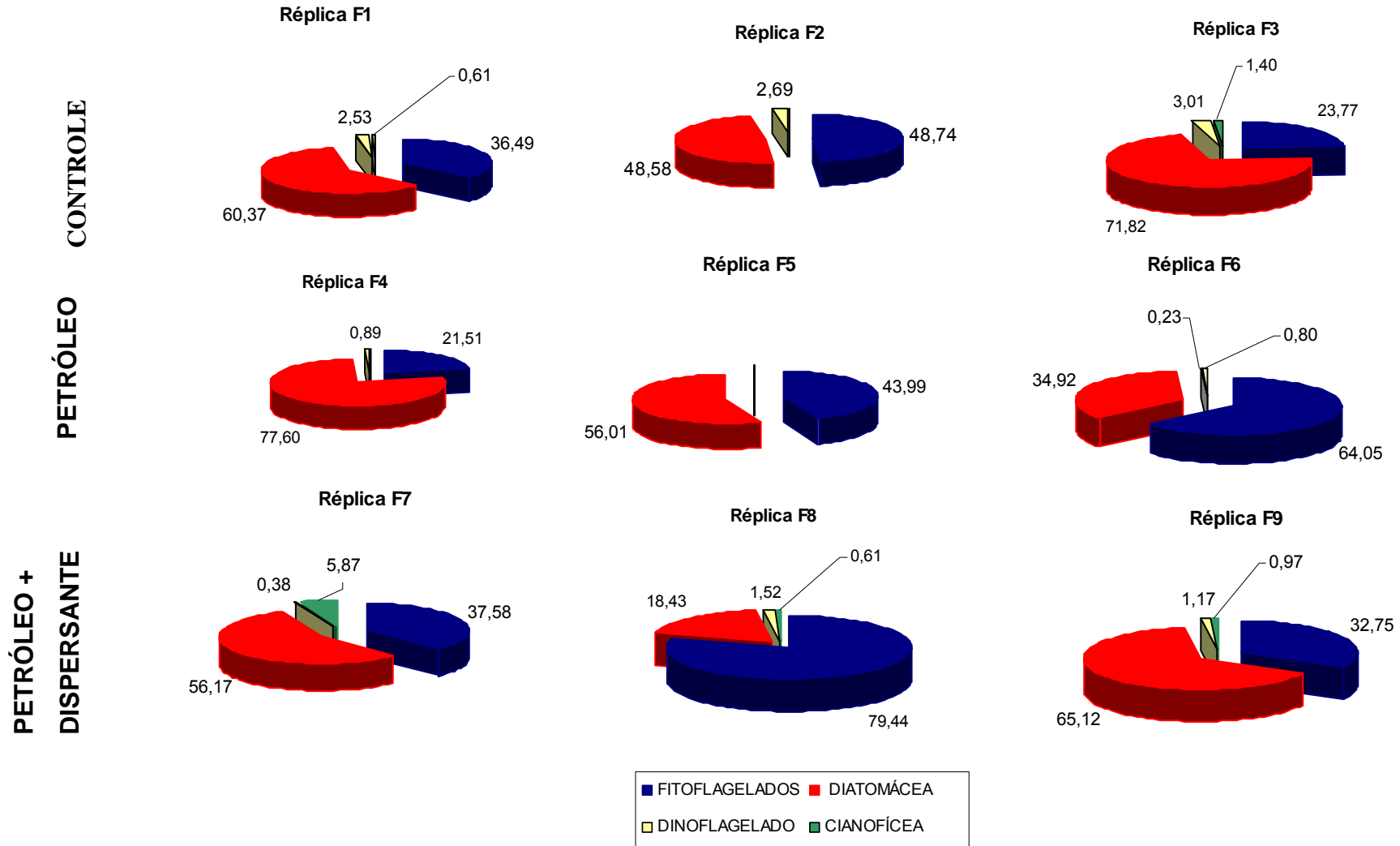


Figura 17: Abundância relativa média dos principais grupos fitoplanctônicos com ocorrência nos mesocosmos submetidos a diferentes tratamentos (**CONTROLE**, com **PETRÓLEO** e com a mistura de **PETRÓLEO E DISPERSANTE**) no período de 19 de junho a 13 de julho de 2002, no experimento de derrame simulado de petróleo na Praia de Itaorna, Angra dos Reis, RJ.

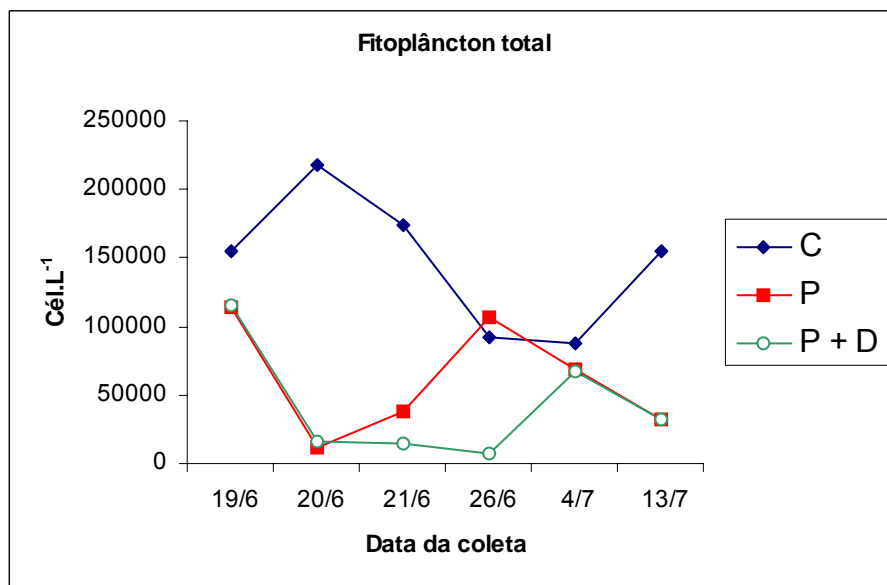


Figura 18: Variação da densidade média do fitoplâncton nos mesocosmos controle (C) e naqueles tratados com petróleo (P) e com a mistura petróleo e dispersante (P + D) no período entre 19 de junho e 13 de julho de 2002, no experimento de derrame simulado de petróleo na Praia de Itaorna, em Angra dos Reis, RJ.

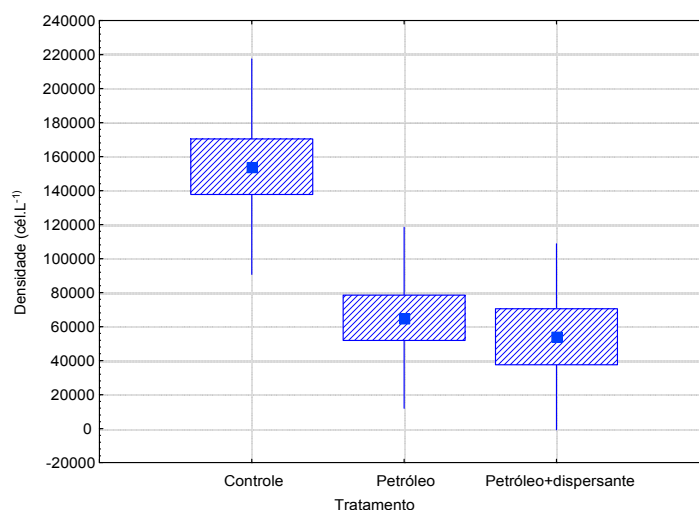


Figura 19: Densidade média do fitoplâncton nos mesocosmos CONTROLE e naqueles tratados com PETRÓLEO e com a mistura de PETRÓLEO E DISPERSANTE na Praia de Itaorna, Angra dos Reis, RJ, no período de 19 de junho de a 13 de julho de 2002, no experimento simulado de derrame de petróleo.

4.3.1 – Testes de toxicidade com microalgas

Nos testes conduzidos com a fração solúvel do PETRÓLEO utilizando a microalga *Tetraselmis chuii* como organismo-teste, a $CI_{50;96h}$ foi maior do que a concentração de 100% e a CI_{20} foi de 50%, não havendo diferença significativa entre os tratamentos e o controle ($p > 0,05$) (Fig. 20; anexo 7). No teste conduzido com *Skeletonema costatum*, com este mesmo tratamento, observou-se um estímulo no crescimento da população nas concentrações de 25 e 50%, com diferença significativa da concentração de 25% em relação ao controle ($p < 0,05$). Nas concentrações de 50 e 100% não houve diferença em relação ao controle ($p > 0,05$). A $CI_{20;96h}$ foi de 59,8% e a CI_{50} de 96,4%.

Nos testes conduzidos com a microalga *Tetraselmis chuii* foi observado que para a mistura PETRÓLEO E DISPERSANTE houve uma inibição no crescimento na concentração de 50% a partir de 24 horas. Porém houve uma diferença significativa da concentração de 25% em relação ao controle ($p < 0,05$). A $CI_{20;96h}$ foi de 11,2% e a CI_{50} foi de 28,3%. Para *Skeletonema costatum* foi observada uma inibição bastante acentuada no crescimento da população nas primeiras 24 horas. Ocorreu mortalidade dos organismos em 72 horas na concentração de 50% e em 48 horas na concentração de 100%. A $CI_{20;96h}$ obtida neste teste foi de 5,01% e a CI_{50} de 12,5%. A tabela VIII apresenta os valores de salinidade, OD e pH medidos no início e no final dos testes em uma réplica de cada concentração. Não houve variação da salinidade ao longo do experimento. Ocorreu um decréscimo do oxigênio dissolvido na concentração de 100% no tratamento com petróleo + dispersante, de 7,20 para 2,68 $mg.L^{-1}$ no teste com *T. chuii* e de 7,20 para 2,98 $mg.L^{-1}$ no teste conduzido com *S. costatum*. Foi observado um aumento no pH em todas as concentrações ao longo do experimento.

Para ambas as espécies a mistura do petróleo com o dispersante ocasionou um maior efeito do que o petróleo, ao final de 96 horas de exposição. A espécie de diatomácea *S. costatum* foi mais sensível a estes tratamentos do que a espécie fitoflagelada *T. chuii*, nas condições de teste.

Tabela VIII: Valores relativos às variáveis físicas e químicas medidas na suspensão teste no início e no final dos testes de toxicidade conduzidos com as espécies *Tetraselmis chuii* e *Skeletonema costatum* expostas ao **PETRÓLEO** ARLE/URAL e á sua mistura com o **DISPERSANTE** Corexit 9500[®].

Concentração (%)		T. chuii						S. costatum					
		Salinidade		OD (mg.L ⁻¹)		pH		Salinidade		OD (mg.L ⁻¹)		pH	
		Início	Fim	Início	Fim	Início	Fim	Início	Fim	Início	Fim	Início	Fim
Controle		33	33	4,98	9,72	8,23	10,17	33	33	4,98	6,28	8,23	8,83
Petróleo	25	33	33	6,44	6,29	7,45	10,21	33	33	6,44	6,50	7,45	8,93
	50	33	33	6,50	8,81	7,35	10,29	33	33	6,50	7,37	7,35	8,80
	100	33	33	5,10	7,31	7,71	10,07	33	33	5,10	4,76	7,71	8,54
Petróleo + dispersante	25	33	33	6,79	7,88	7,35	9,30	33	33	6,79	4,42	7,35	8,29
	50	33	33	7,00	4,46	7,30	8,57	33	33	7,00	4,26	7,30	8,20
	100	33	33	7,20	2,68	7,10	8,44	33	33	7,20	2,98	7,10	8,01

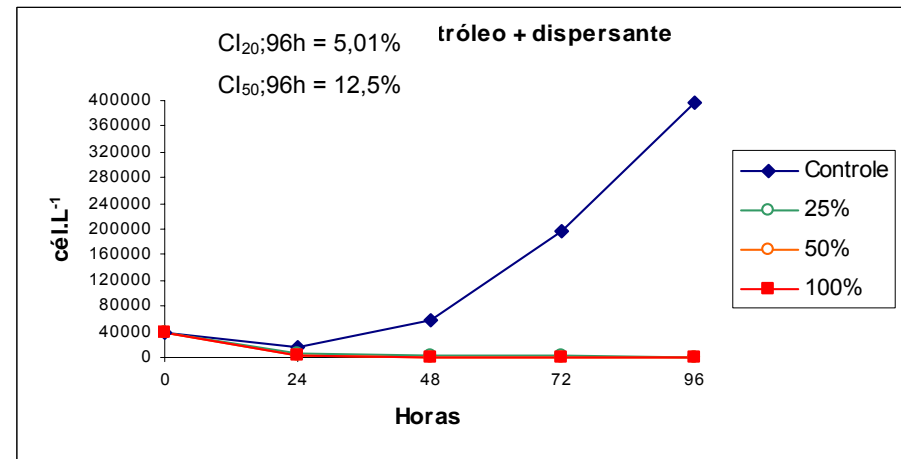
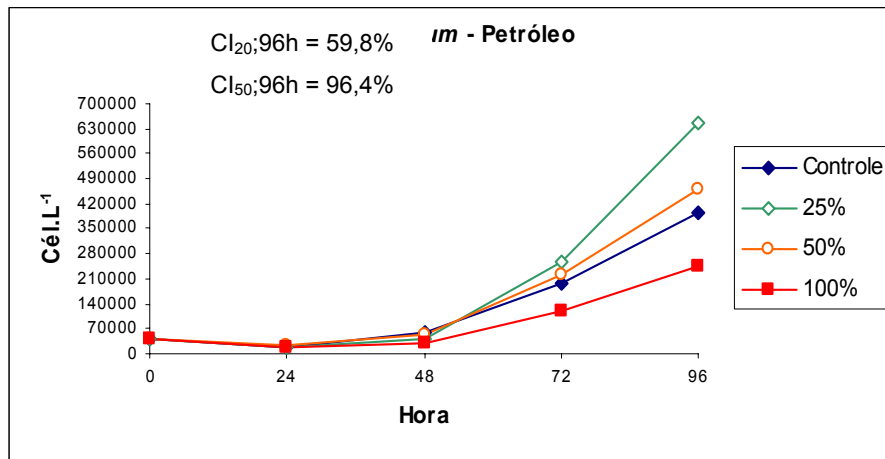
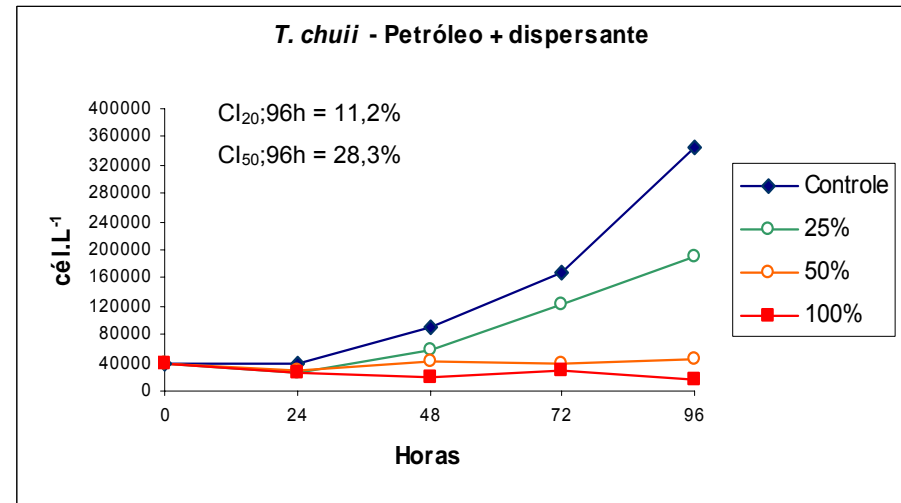
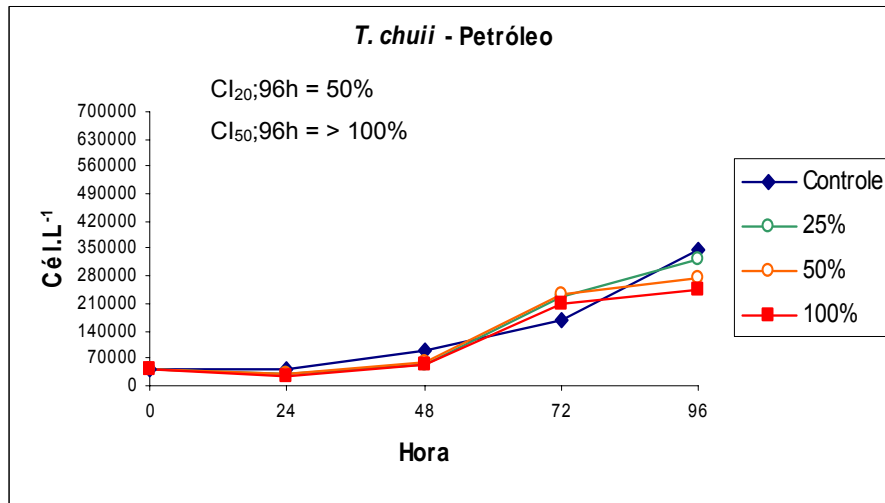


Figura 20: Variação da densidade média das microalgas *Tetraselmis chuii* e *Skeletonema costatum* expostas à fração solúvel do petróleo ARLE/URAL e da mistura com o dispersante Corexit 9500® em água do mar, ao longo de 96 horas. Valores de CI_{20} e $CI_{50;96h}$ = Concentração que inibe o crescimento de 20 e 50% dos organismos expostos, respectivamente.

4.4 – Comunidade Zooplanctônica

A comunidade zooplanctônica introduzida nos mesocosmos (T0h) representada por 9 grupos taxonômicos (Tabela IX), dos quais os copépodos foram os mais abundantes, representando até 85,3% da população inicial, amostrada na réplica F1. O segundo grupo dominante foi apendiculária, com percentual de até 39,4% do total (réplica F6). A este grupo seguiram-se os cladóceros, representados pela espécie *Penilia avirostris*, com até 18% (réplica F7) (Figs. 21a, b e c - anexo 9). Os demais grupos, incluindo larvas de espécies meroplanctônicas, estiveram sempre presentes porém, foram menos representativos (< 1%). Apenas o grupo dos copépodos foram identificados e analisados ao nível de espécie. Entre os copépodos, a espécie herbívora *Pseudodiaptomus acutus* e a espécie carnívora *Oithona hebes* foram as dominantes, constituindo 55,9% (dp=22,4%) e 15,4% (dp = 10,4%), respectivamente.

Tabela IX: - Inventário faunístico da comunidade zooplanctônica utilizada nos experimentos de derrame simulado de petróleo em mesocosmos na praia de Itaorna, Angra dos Reis, entre 19 de junho e 13 de julho de 2002.

Cnidária

Hydrozoa
Siphonophorae
Hydromedusae

Ctenophora

Annelida

Polychaeta

Mollusca

Gastropoda
Bivalvia

Arthropoda

Crustacea
Branchiopoda
Ctenopoda
Sididae
Penilia avirostris Dana, 1852
Copepoda
Calanoida
Calanidae
Temoridae
Temora stylifera Dana, 1849
Temora sp.
Acartiidae Sars, 1900
Acartia lilljeborgi Giesbrecht, 1892

Clausocalanidae Giesbrecht, 1892
Clausocalanus furcatus Brady, 1883

Pseudodiaptomidadae Sars, 1903
Pseudodiaptomus acutus Dahl, 1894

Paracalanidae Giesbrecht, 1892
Paracalanus crassirostris Dahl, 1894
Paracalanus quasimodo Bowman, 1971
Acrocalanus longicornis Giesbrecht, 1888

Eucalanidae Giesbrecht, 1892
Subeucalanus pileatus Giesbrecht, 1888

Pontellidae Dana, 1852
Calanopia americana Dahl, 1894

Cyclopoida Bürmeister, 1843

Oithonidae Dana, 1853
Oithona plumifera Baird, 1843
Oithona hebes Giesbrecht, 1891
Oithona oculata Farran, 1913
Oithona nana Giesbrecht, 1892
Oithona sp.

Poecilostomatoida Thorell, 1859

Oncaeidae Giesbrecht, 1892
Oncaea venusta Philipp, 1843
Oncaea curta Sars, 1916

Corycaeidae Dana, 1849
Corycaeus giesbrechti Dahl, 1894

Miracidae Dana, 1846
Macrosetella gracilis Dana, 1847

Euterpinidae Brian, 1921
Euterpina acutifrons Dana, 1852

Clytemnestridae Scott, 1909
Clytemnestra scutellata Dana, 1847

Harpacticoida

Cirripedia

Malacostraca

Decapoda

Chaetognatha

Chordata

Appendicularia

Ao longo do experimento, nos mesocosmos CONTROLE os copépodos mantiveram a dominância, representando até 90% do total de organismos zooplancctônicos ao final do experimento (F2 – 04/7) (Fig. 21 a – anexo 9).

Appendiculária foi o segundo grupo em abundância, representando até 45% (F3 – 21/6), sendo que a partir do dia 26/6 ocorreu um maior crescimento da população dos cladóceros, que foi o segundo grupo dominante até o dia 4/7. No dia 13/7 além dos copépodos foi registrada a ocorrência de 9% de quetognatas (réplica F2). Os demais grupos estiveram presentes apenas na réplica F3.

Entre os copépodos, as espécies de hábitos planctônicos que se destacaram por estarem presentes na maioria das amostras, ao longo do experimento, foram as espécies herbívoras *Temora stylifera*, *Acartia lilljeborgi*, *Paracalanus crassirostris*, *Paracalanus quasimodo*, *Pseudodiaptomus acutus* e as espécies carnívoras *Oithona hebes* e *Corycaeus giesbrechti* (anexo 10). Foi registrada, também a ocorrência de formas jovens de copépodos Harpacticoida bentônicos.

Nos mesocosmos tratados com PETRÓLEO, foi observado um aumento gradativo da população de copépodos a partir de 21/6, chegando a 100% do total de organismos em 04/7 em todas as réplicas (Fig. 21b – anexo 9).

No tratamento com PETRÓLEO e DISPERSANTE, na réplica F7, apenas as appendiculárias e as larvas de poliqueta estiveram presentes nas amostras coletadas nos dias 20 e 21/6. A partir desta data houve a dominância dos copépodos (100%). Na réplica F8, ocorreu o desaparecimento de todos os grupos, verificando-se que os copépodos representaram 100% do zooplâncton (Fig. 21c – anexo 9).

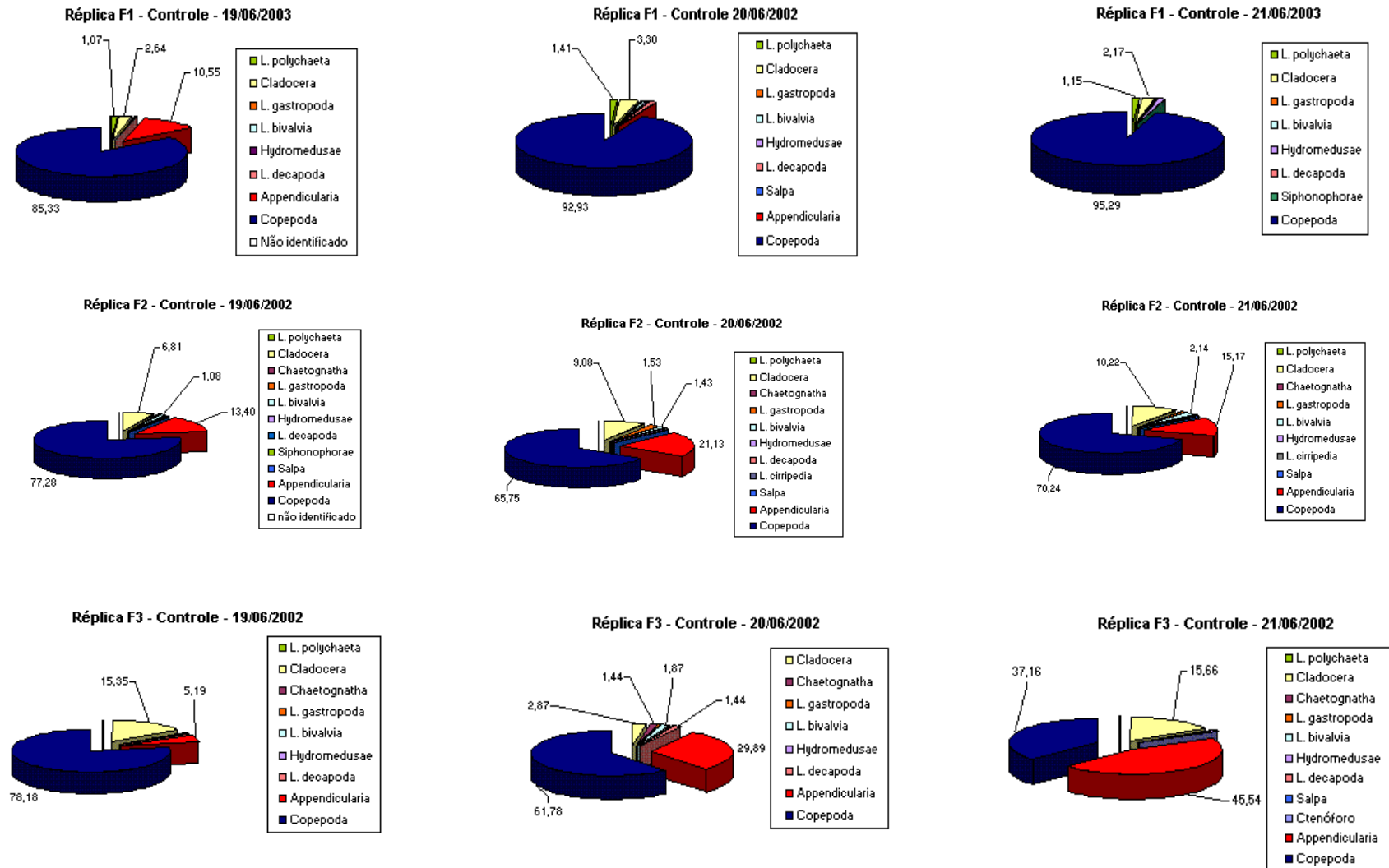
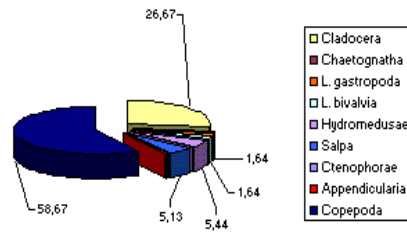


Figura 21a: Abundância relativa (%) dos grupos zooplancônicos que ocorreram nos mesocosmos CONTROLE no período entre 19 de junho e 13 de julho de 2002, na praia de Itaorna, Angra dos Reis, RJ.

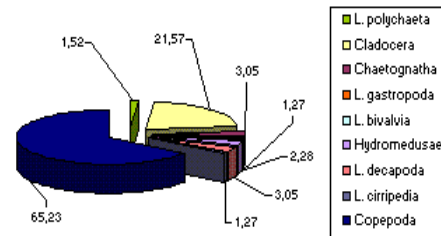
Continua

Continuação da figura 21a

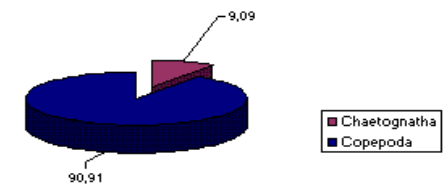
Réplica F2 - Controle - 26/06/2002



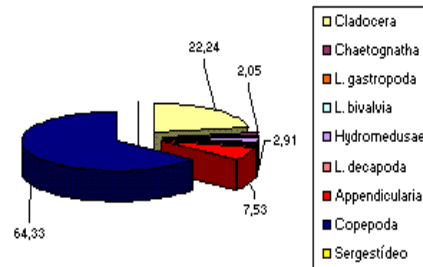
Réplica F2 - Controle - 04/07/2002



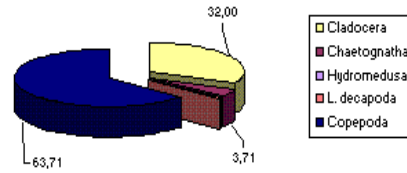
Réplica F2 - Controle - 13/07/2002



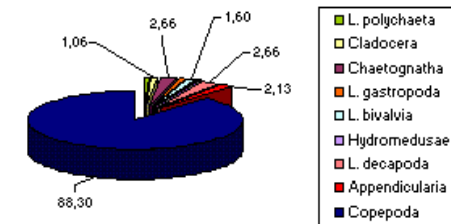
Réplica F3 - Controle - 26/07/2002



Réplica F3 - Controle - 04/07/2002



Réplica F3 - Controle - 13/07/2002



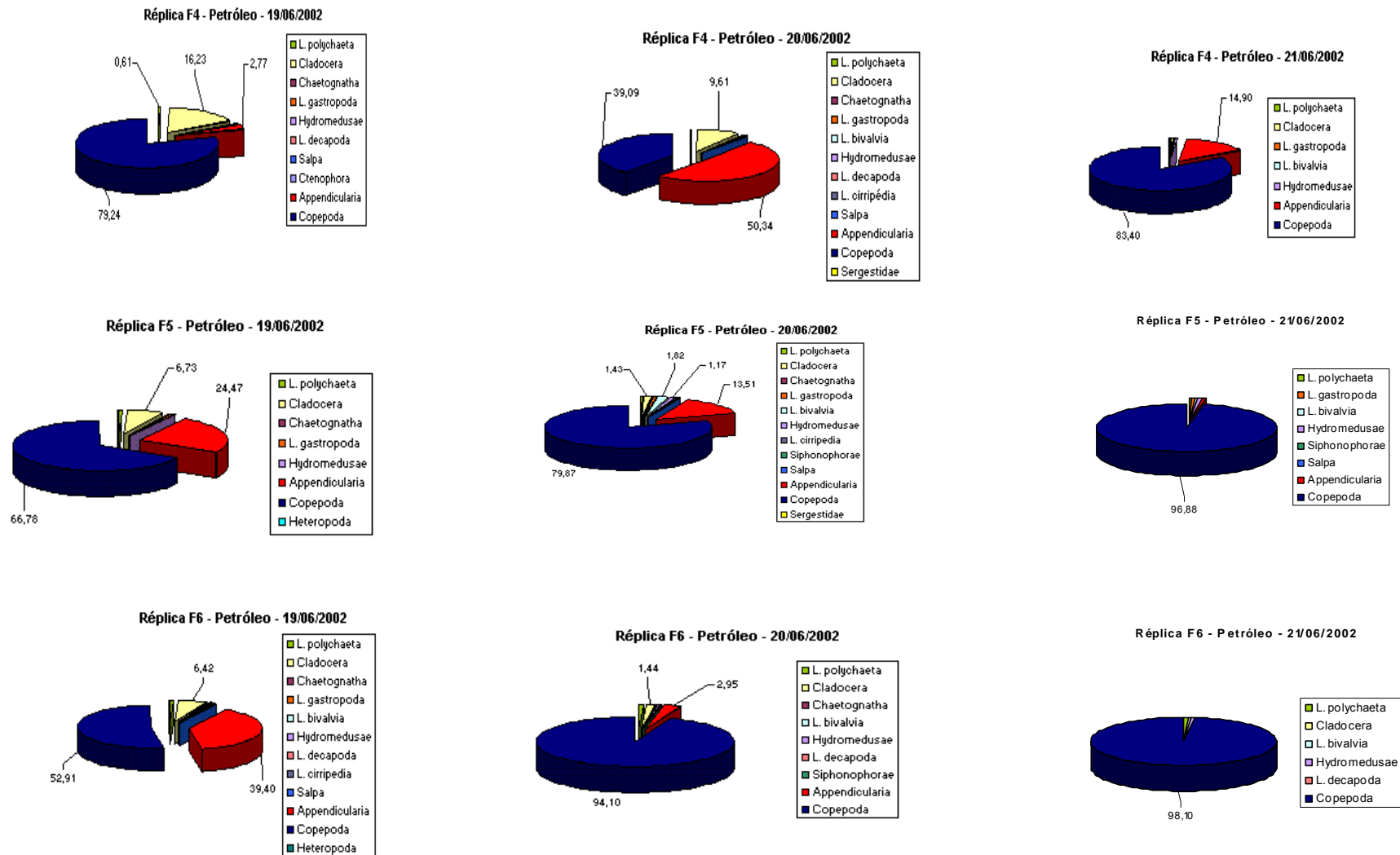
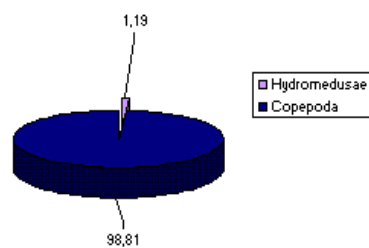


Figura 21b: Abundância relativa (%) dos grupos zooplantônicos que ocorreram nos mesocosmos com PETRÓLEO no período entre 19 de junho e 13 de julho de 2002, na praia de Itaorna, Angra dos Reis, RJ.

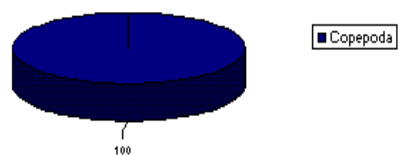
Continua

Continuação da figura 21b

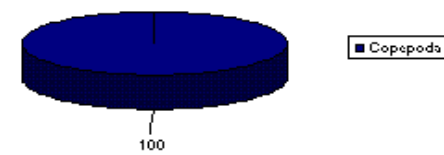
Réplica F4 - Petróleo - 26/06/2002



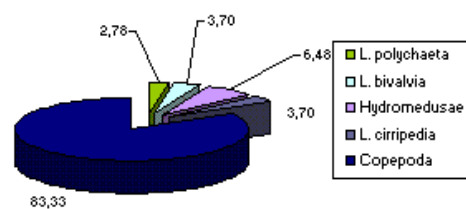
Réplica F4 - Petróleo - 04/07/2002



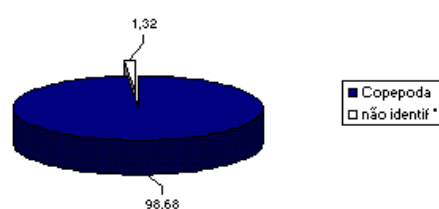
Réplica F4 - Petróleo - 13/07/2002



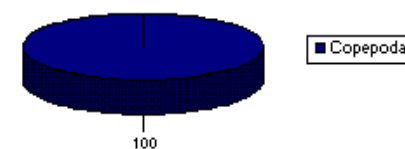
Réplica F5 - Petróleo - 26/06/2002



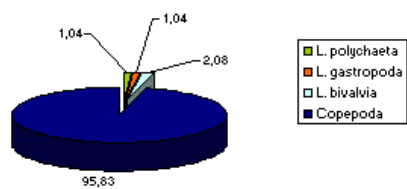
Réplica F5 - Petróleo - 04/07/2002



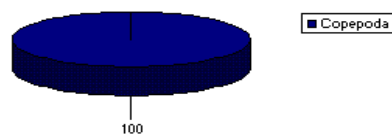
Réplica F5 - Petróleo - 13/07/2002



Réplica F6 - Petróleo - 26/06/2002



Réplica F6 - Petróleo - 04/07/2002



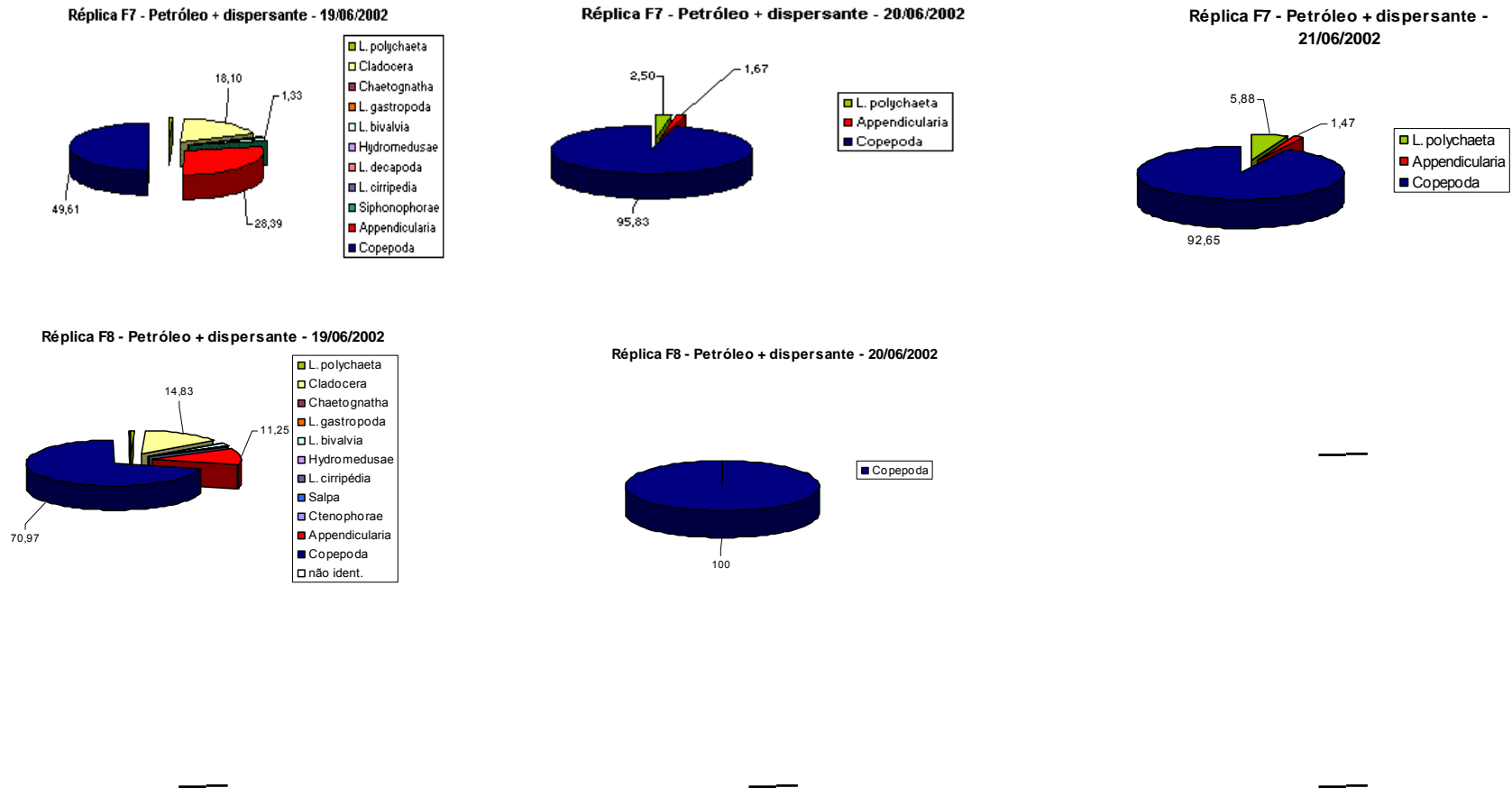
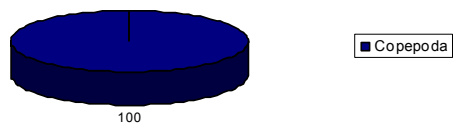


Figura 21c: Abundância relativa (%) dos grupos zooplantônicos que ocorreram nos mesocosmos com PETRÓLEO E DISPERSANTE no período entre 19 de junho e 13 de julho de 2002, na praia de Itaorna, Angra dos Reis, RJ.

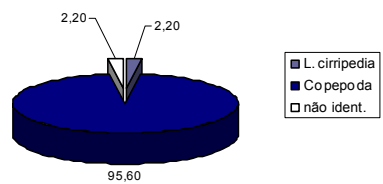
Continua

Continuação da figura 21c

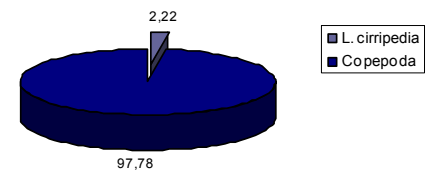
Réplica F7 - Petróleo + dispersante - 26/06/2002



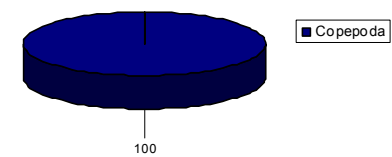
Réplica F7 - Petróleo + dispersante - 04/07/2002



Réplica F7 - Petróleo + dispersante - 13/07/2002



Réplica F8 - Petróleo + dispersante - 13/07/2002



Análise das populações de copépodos ao longo do experimento:

Temora stylifera

O percentual de ocorrência de *T. stylifera* foi relativamente baixo ao longo do experimento na maioria das amostras em todos os tratamentos (< 1%). No entanto, o percentual foi mais alto no tratamento com petróleo em 26/6 (2,3%, dp= 4,0%) e no tratamento com petróleo e dispersante em 13/7 (6,67%, dp= 6,29%) (Fig. 22a – anexo 11).

Acartia lilljeborgi

Foi a espécie mais abundante nos mesocosmos tratados com petróleo, desaparecendo nos mesocosmos controle, a partir do dia 4/7, e nos tratados com petróleo e dispersante a partir do 3º dia após a simulação (Fig. 22b).

Paracalanus crassirostris

Foi mais abundante no tratamento com petróleo, com abundância inferior a 1% no controle, desaparecendo dos mesocosmos tratados com petróleo e dispersante a partir de 21/6 (Fig. 22c).

Paracalanus quasimodo

Ocorreu em maiores densidades nos mesocosmos tratados com petróleo e petróleo e dispersante, ao final do experimento (Fig. 22d).

Pseudodiaptomus acutus

Esta espécie foi bastante abundante no controle, chegando a 75% do total das espécies. Ao longo do experimento os menores percentuais ocorreram nos mesocosmos tratados com petróleo e dispersante, no entanto, ao final esta concentração foi similar ao controle, com 20 e 21%, respectivamente (Fig. 22e). A variação da abundância de *P. acutus* foi similar à observada para a densidade do fitoplâncton total.

Oithona hebes

Apresentou média de ocorrência variando entre 0,37 e 59,7% do total de espécies identificadas. Foi observado um aumento do percentual de ocorrência nos mesocosmos tratados com petróleo, chegando a 59,7% no dia 26/6. Nos mesocosmos com petróleo e dispersante a ocorrência também aumentou ao longo do experimento, com percentual de 21% em 26/6. Em ambos os tratamentos o percentual desta espécie foi superior ao final do experimento (Fig. 23a).

Corycaeus giesbrechti

Esta espécie teve um ligeiro aumento no percentual de ocorrência a partir do terceiro dia de experimento no controle e no tratamento com petróleo e dispersante (Fig. 23 b).

A tabela X sintetiza a sensibilidade aparente das espécies de copépodos mais abundantes no mesocosmo controle e nos tratados com petróleo e com petróleo e dispersante ao final do experimento. (13/7).

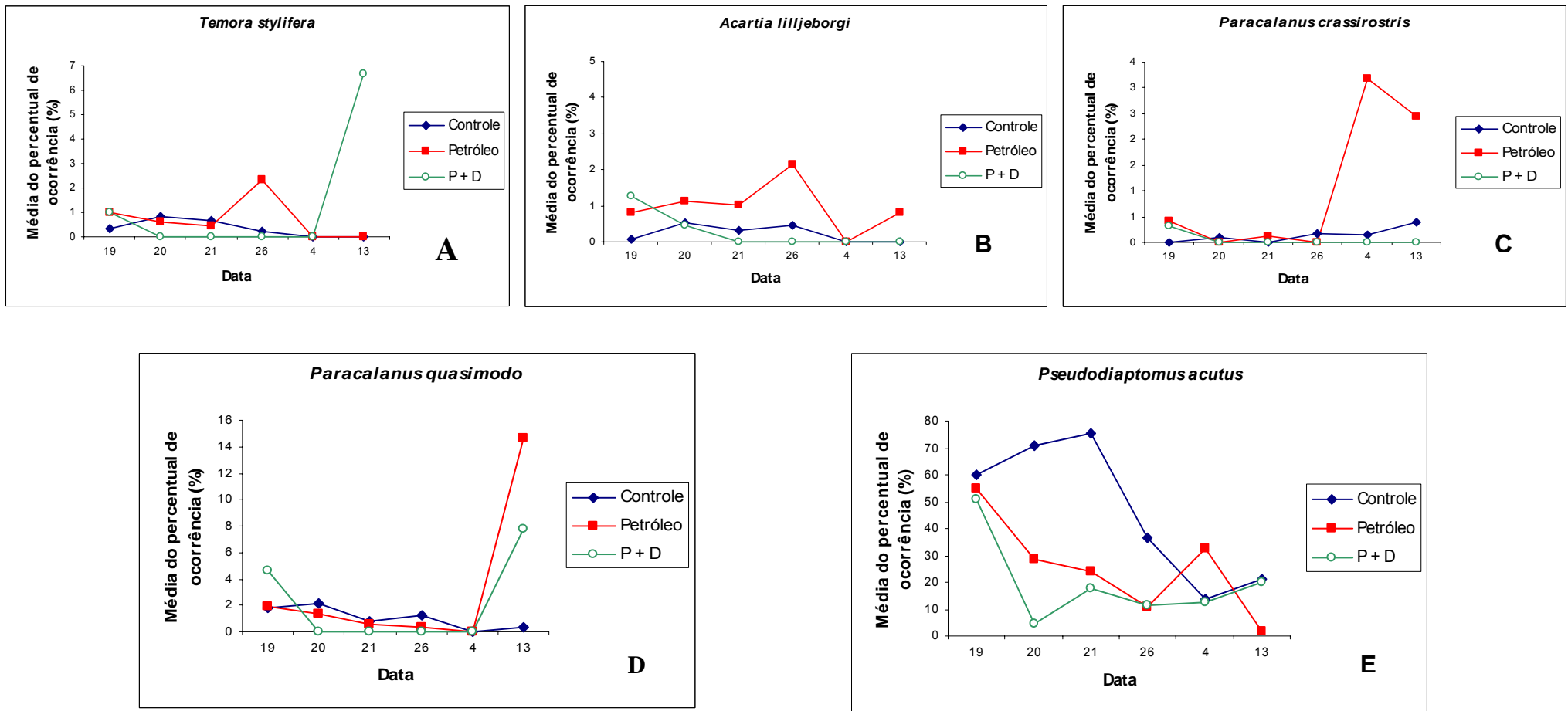


Figura 22: Variação no valor médio da abundância relativa das principais espécies de copépodos herbívoros nos mesocosmos controle e nos tratados com petróleo e com a mistura petróleo e dispersante no período entre 19 de junho e 13 de julho de 2002, no experimento de derrame simulado de petróleo, na Praia de Itaorna, Angra dos Reis, RJ.

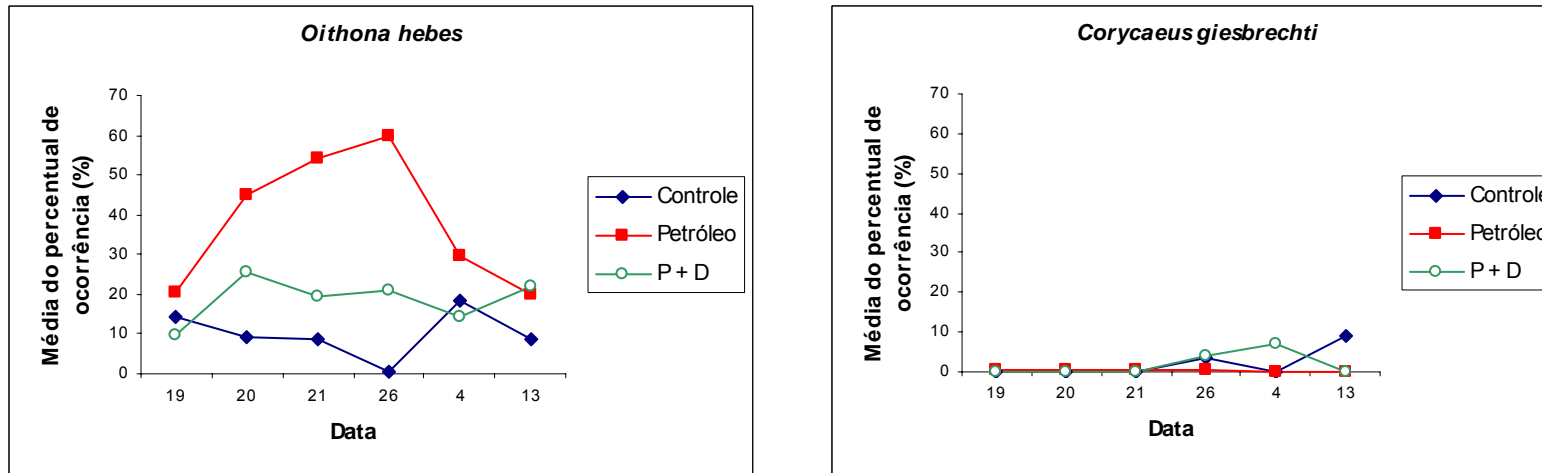


Figura 23: Variação no valor médio da abundância relativa das principais espécies de copépodos carnívoros nos mesocosmos controle e nos tratados com petróleo e com a mistura petróleo e dispersante no período entre 19 de junho e 13 de julho de 2002, no experimento de derrame simulado de petróleo, na Praia de Itaorna, Angra dos Reis, RJ.

Foi registrada a ocorrência de fêmeas ovadas de *P. acutus* e *O. hebes* ao longo do experimento. O percentual de fêmeas ovadas para as duas espécies foi maior nos tratamentos controle e com petróleo (Fig. 24 – anexo 12).

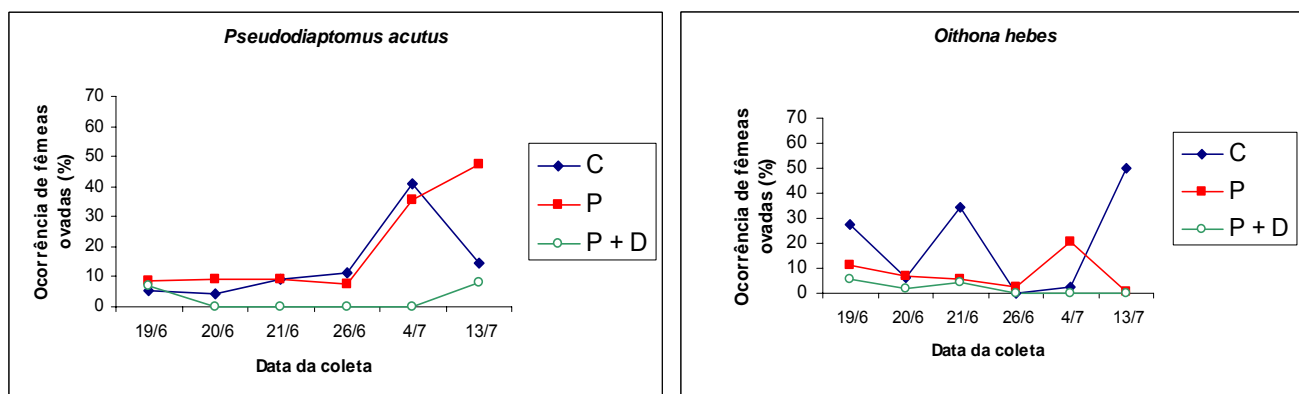


Figura 24: Variação na abundância relativa média de fêmeas ovadas de *Pseudodiaptomus acutus* e *Oithona hebes* nos mesocosmos controle (C) e nos tratados com petróleo (P) e com petróleo e dispersante (P + D), no período entre 19 de junho e 13 de julho de 2002, no experimento de derrame simulado de petróleo, na Praia de Itaorna, Angra dos Reis, RJ.

A variação do percentual médio de náuplios nas réplicas controle foi de 4,10 (dp=1,27 – 04/07) a 65,5 (dp=4,61 – 21/06). No tratamento com petróleo variou de zero, (04 e 13/07) a 38,67 (dp=9,29), enquanto que no petróleo e dispersante variou de zero, em 20 e 26/06 e 04/07, a 48,50 (dp=2,12). A variação na abundância de náuplios no controle foi similar ao do petróleo (anexo 13).

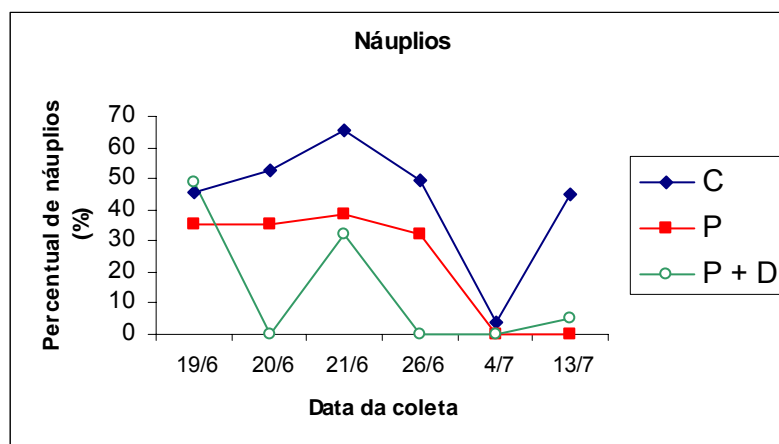


Figura 25: Variação na abundância relativa média de náuplios nos mesocosmos controle (C) e nos tratados com petróleo (P) e com petróleo e dispersante (P + D), no período entre 19 de junho e 13 de julho de 2002, no experimento de derrame simulado de petróleo, na Praia de Itaorna, Angra dos Reis, RJ.

Tabela X: Análise sintética da sensibilidade aparente das espécies de copépodos mais abundantes nos mesocosmos controle (C) e naqueles tratados com petróleo (P) e com a mistura petróleo e dispersante (P + D) após 25 dias de exposição, no experimento de derrame simulado de petróleo, na Praia de Itaorna, Angra dos Reis, RJ.

Espécie	Sensibilidade aparente após 25 dias de exposição
<i>Temora stylifera</i>	$P = C > P + D$
<i>Pseudodiaptomus acutus</i>	$P + D = C < P$
<i>Acartia lilljeborgi</i>	$P + D = C > P$
<i>Paracalanus quasimodo</i>	$C > P + D > P$
<i>Paracalanus crassirostris</i>	$P + D > C > P$
<i>Oithona hebes</i>	$C > P = P + D$
<i>Corycaeus giesbrechti</i>	$P = P + D > C$

4.5 – Testes de toxicidade

4.5.1 - Testes de Toxicidade crônica dos compostos de petróleo e da mistura de petróleo e dispersante aos embriões do ouriço do mar, *Lytechinus variegatus* (Echinodermata:Echinoidea).

Nos testes de toxicidade crônica de curta duração conduzidos com as amostras coletadas nos mesocosmos CONTROLE o percentual médio de larvas pluteus normais foi sempre acima de 80%, limite para a aceitabilidade no controle dos testes conduzidos em laboratório (Prósperi e Araújo, 2002).

Nos mesocosmos que receberam tratamento com PETRÓLEO, o percentual médio de larvas pluteus saudáveis, na concentração de 100% da FMDA também esteve acima de 80%, indicando que não houve toxicidade para os embriões de *L. variegatus* (tabela XI).

Nas amostras coletadas nos mesocosmos tratados com PETRÓLEO E DISPERSANTE (mesocosmo F7), em todas as coletas, a concentração de efeito não observado (CENO) foi de 1,0% da FQDA e a concentração de efeito observado (CEO) foi de 10% da FQDA, com valor crônico (VC) de 3,16%. Apenas a amostra coletada em 20/6 teve o valor de CENO inferior a menor concentração testada (0,1% da FQDA) e a CEO foi de 0,1% da FQDA. Na réplica F8 a CENO variou entre < 0,1 e 1,0% e a CEO entre 1,0 e 10%, com VC entre 0,3 e 3,16% da FQDA. Estes resultados indicam uma maior toxicidade das amostras tratadas com a mistura petróleo e dispersante e, entre estas, as coletadas no mesocosmo F8 tiveram maior efeito sobre as larvas pluteus.

4.5.2 - Testes de Toxicidade aguda dos compostos de petróleo e da mistura de petróleo e dispersante ao misidáceo, *Mysidium gracile* (Crustacea:Mysidacea)

Nos testes agudos com *M. gracile* a sobrevivência nos controles de laboratório foi de 97,5 e 100%, dentro do limite de aceitabilidade, que é de 80% para testes conduzidos com organismos jovens, oriundos de fêmeas grávidas de campo (Badaró-Pedroso *et al.*, 2002).

A Tabela XII apresenta os resultados obtidos nos testes, sendo que nas amostras em que ocorreu um percentual de sobrevivência dos organismos acima de

50%, os resultados referem-se ao percentual de sobrevivência na maior concentração testada (100% da FMDA).

A sobrevivência obtida nos testes com as amostras coletadas em uma das réplicas dos mesocosmos CONTROLE variou de 92,5 e 97,5%, dentro do limite de aceitabilidade para o controle de laboratório.

Nas amostras oriundas dos mesocosmos tratados com PETRÓLEO a toxicidade foi ligeiramente mais alta na réplica F5, com $CL_{50;96h}$ inicial de 22,4% da FMDA (IC=15,5 – 32,4%) (T6h), baixando no decorrer do experimento, com sobrevivência de 100% dos organismos na maior concentração testada (100% da FMDA) em 13/07. Na réplica F6, ocorreu a sobrevivência de 75% e 100% dos organismos na maior concentração (100% da FMDA) em todas as amostras testadas.

Nos mesocosmos tratados com PETRÓLEO E DISPERSANTE, na réplica F7 a $CL_{50;96h}$ variou de 1,67% (IC= 1,22 – 2,28%) (T6h) a 10,2% da FQDA (IC= 8,29 – 12,52%), 13/7. A maior toxicidade foi obtida com as amostras coletadas na réplica F8, com CL_{50} inicial <0,1% da FQDA, que foi a menor concentração testada (19/6-T6h). A toxicidade detectada nesta réplica diminuiu com o tempo de experimento para CL_{50} 5,47% da FQDA (IC= 3,83 – 7,78%).

De um modo geral, foi observada uma diminuição da toxicidade com o tempo de exposição, com as maiores toxicidades registradas para as réplicas tratadas com petróleo e dispersante nas amostras coletadas em 19/06, seis horas após o início da simulação -T6h. Os parâmetros obtidos para as variáveis químicas medidas no início e no final dos testes, em uma réplica de cada concentração, estão dentro dos limites estabelecidos para as espécies, que é $\geq 4,0 \text{ mg.L}^{-1}$ de OD, pH de $8,0 \pm 0,5$ e salinidade de 34 ± 2 (Tabela XIII).

Nos testes conduzidos paralelamente, com as respectivas substâncias de referência, a CE_{50} média obtida para *L. variegatus* foi de $1,59 \text{ mgDSS.L}^{-1}$ (dp= 0,31; CV= 19,5; n=3) e a $CL_{50;96h}$ para *M. gracile* foi de $0,23 \text{ mgZn.L}^{-1}$ (dp= 0,02; CV=8,70; n=3), onde: dp= desvio padrão e CV= coeficiente de variação (Tabela XIV).

Estes valores estão dentro dos limites estabelecidos para as espécies pelo Laboratório de Análise Ambiental Ltda. - Labtox, que são de 0,83 a $3,20 \text{ mgDSS.L}^{-1}$ para *L. variegatus* e de 0,19 a $0,26 \text{ mgZn.L}^{-1}$ para *M. gracile*. Estes resultados garantem a aceitabilidade dos testes.

Tabela XI: Resultados dos testes de toxicidade (%) conduzidos com *L. variegatus* com as amostras coletadas nos mesocosmos no período entre 19 de junho e 13 de julho de 2002, no experimento de derrame simulado de petróleo, na Praia de Itaorna, Angra dos Reis, RJ. x = média de pluteus na maior diluição testada; dp = desvio padrão; CENO = Concentração de efeito não observado; CEO = Concentração de efeito observado; VC = valor crônico, NC = não calculado NT = não testado.

Réplica		Coleta						
		19/06 (T0h)	19/06 (T6h)	20/06 (24h)	21/06 (48h)	26/06 (7 d)	04/07 (18 d)	13/07 (25 d)
Controle de laboratório		Média = 87,12 % dp = 5,99 n = 8						
Controle	F1	x = 80,5 dp = 2,6	x = 92 dp = 0,81	x = 85,5 dp = 2,4	x = 82,5 dp = 2,4	NT	NT	NT
	F2	NT	NT	NT	x = 88 dp = 1,70	x = 89,7 dp = 5,3	x = 90 dp = 3,7	NT
	F3	NT	NT	NT	NT	NT	x = 92 dp = 3,74	x = 94,5 dp = 3,3
Petróleo (FMDA)	F4	x = 90,7 dp = 2,75	x = 88 dp = 2,45	x = 83,5 dp = 5,9	x = 90,2 dp = 1,5	NT	x = 90,7 dp = 2,2	x = 90,5 dp = 1,0
	F5	x = 88 dp = 2,9	x = 82,7 dp = 4,5	x = 91,2 dp = 5,6	x = 85,8 dp = 3,9	x = 92,5 dp = 2,2	x = 89,5 dp = 3,5	x = 89,5 dp = 3,0
	F6	NT	x = 90,7 dp = 3,5	x = 80 dp = 2,7	x = 85,7 dp = 2,1	x = 82 dp = 3,9	x = 90,7 dp = 3,2	NT
Petróleo + dispersante (FQDA)	F7	x = 87,5 dp = 4,4	CENO = 1,0 CEO = 10,0 VC = 3,6	CENO < 0,1 CEO ≤ 0,1 VC = NC	CENO = 1,0 CEO = 10,0 VC = 3,16	CENO = 1,0 CEO = 10,0 VC = 3,16	CENO = 1,0 CEO = 10,0 VC = 3,16	CENO = 1,0 CEO = 10,0 VC = 3,16
	F8	x = 89,5 dp = 1,3	CENO = 0,1 CEO = 1,0 VC = 0,3	NT	CENO = 1,0 CEO = 10 VC = 3,16	CENO < 0,1 CEO ≤ 0,1 VC = NC	CENO = 0,1 CEO = 1,0 VC = 0,3	CENO = 1,0 CEO = 10,0 VC = 3,16
	F9		CENO = 1,0 CEO = 10,0 VC = 3,16					

Tabela XII: Concentração Letal (CL₅₀;96h) e sobrevivência (%) de *Mysidium gracile* em 100% obtidos nos testes de toxicidade conduzidos em laboratório com as amostras coletadas nos mesocosmos **CONTROLE** e naqueles tratados com **PETRÓLEO** e com a mistura de **PETRÓLEO e DISPERSANTE**, no experimento de derrame simulado de petróleo, na Praia de Itaorna, Angra dos Reis, RJ. IC = Intervalo de confiança; T0h = antes da simulação. T6h = 6 horas após a simulação. NT = Não testado.

Tratamento		Data da coleta				
		19/06 (T0h)	19/06 (T6h)	26/06	04/07	13/07
Controle de laboratório		100 %		97,5 %	97,5 %	97,5 %
Controle	F1, F2, F3	92,5%	97,5%	92,5%	97,5%	97,5%
Petróleo (FMDA)	F4	100%	100%	60%	95%	100%
	F5	97,5%	CL50 = 22,4% (IC=15,5-32,4)	65%	95%	100%
	F6	100%	75%	N T	100%	100%
Petróleo + dispersante (FQDA)	F7	92,5%	CL50 = 1,67% (IC=1,2-2,3)	N T	CL50 = 2,53% (IC=1,92-3,32)	CL50 = 0,19% (IC=8,3-12,5)
	F8	97,5%	CL50 < 0,1 %	N T	CL50 = 1,67% (IC=NC)	CL50 = 5,47% (IC=3,8-7,8)
	F9	97,5%	CL50 < 0,1 %	N T	N T	N T

Tabela XIII: Valores mínimos e máximos das variáveis físicas e químicas medidas na suspensão utilizada nos testes de toxicidade aguda com *Mysidium gracile* expostos às amostras coletadas nos mesocosmos tratados com **PETRÓLEO** e com a mistura **PETRÓLEO E DISPERSANTE** testadas.

Amostra	OD (mg.L ⁻¹)		pH		Salinidade	
	mínimo	máximo	mínimo	máximo	mínimo	máximo
Controle	5,40	6,36	7,43	7,86	34	34
19/06 (T0h)	4,30	6,46	7,50	8,26	34	34
19/06 (T6h)	5,10	7,84	7,38	8,27	34	35
26/06	4,17	4,44	8,44	8,55	28	31
04/07	4,0	4,81	8,44	8,66	32	35
13/07	3,38	4,12	8,39	8,66	34	35

Tabela XIV: Resultados obtidos nos testes de toxicidade com *L. variegatus* e aguda com *M. gracile* conduzidos com as substâncias de referência dodecil sulfato de sódio (DSS) e zinco, respectivamente.

	L. variegatus DSS (mg.L ⁻¹)	M. gracile Zn (mg.L ⁻¹)
	(CE ₅₀)	(CL ₅₀)
	1,54 (1,46 – 1,62)	0,22 (0,21 – 0,24)
	1,93 (1,87 – 1,99)	0,25 (0,24 – 0,27)
	1,31 (1,23 – 1,40)	0,21 (0,17 – 0,27)
Média	1,59	0,23
Desvio padrão	0,31	0,02
Coeficiente de variação (%)	19,5	8,70

5 – DISCUSSÃO

O petróleo, quando vazado no ambiente marinho, sofre uma série de transformações em sua composição química, as quais são causadas principalmente pelos processos de dissolução na água, evaporação, oxidação fotoquímica, emulsificação, degradação microbiana, adsorção à matéria particulada suspensa, ingestão por organismos, precipitação e sedimentação (Lindén, 1987; Payne, 1994). Esses fatores favorecem uma rápida redução das concentrações de hidrocarbonetos dispersos e solubilizados a níveis não detectáveis, em poucas horas (Etkin, 1999).

Os hidrocarbonetos policíclicos aromáticos presentes no petróleo (HPA) são utilizados como indicativos de poluição por fontes antropogênicas e servem para monitorar as influências da indústria petrolífera sobre o ambiente (Zanardi *et al.*, 1999; Petrobrás, 2001, 2002; Meniconi *et al.*, 2002). Baixas concentrações de HPA, de até $1 \mu\text{g.L}^{-1}$, tem sido consideradas típicas de ambientes marinhos (Lara *et al.*, 1995), sendo que para ambientes costeiros, este limite é de $2 \mu\text{g.L}^{-1}$ (Weber & Bicego, 1991; Petrobrás, 2001) e para águas interiores é de $5 \mu\text{g.L}^{-1}$ (Lara *et al.*, 1995). As concentrações acima de $10 \mu\text{g.L}^{-1}$ estão geralmente associadas a ambientes que recebem influência antropogênica (Petrobrás, 2001), sendo que em concentrações em torno de $90 \mu\text{g.L}^{-1}$ o ambiente é caracterizado como sob impacto agudo, e concentrações em torno de $500 \mu\text{g.L}^{-1}$ caracterizariam ambientes severamente afetados (Lara *et al.*, 1995).

Na coluna d'água da praia de Itaorna, local do presente estudo, foram registradas concentrações de até $2,1 \mu\text{g.L}^{-1}$ em amostras-controle e no instante inicial do experimento, as quais podem, portanto, ser consideradas dentro (ou ligeiramente superiores) da faixa de valores-base consideradas normais para regiões costeiras, com baixa circulação de água e elevado tráfego marítimo. Estas concentrações são similares aos valores anteriormente registrados na Baía de Ilha Grande, de 0,0 e $2,2 \mu\text{g.L}^{-1}$ (Cepuerj, 1991).

A concentração máxima de HPA total registrada no tratamento experimental com petróleo foi de 234,5 $\mu\text{g.L}^{-1}$, seis horas após o início da simulação, caracterizando portanto um impacto agudo. Considerando o tratamento com dispersante químico, a maior concentração foi de 2.230,0 $\mu\text{g.L}^{-1}$, correspondendo também a concentrações de ambientes severamente impactados por fontes antropogênicas.

Os resultados obtidos no presente estudo revelaram também que as concentrações de hidrocarbonetos nos mesocosmos que receberam petróleo retornaram aos níveis de base após o 8º dia, enquanto nos mesocosmos que receberam o tratamento da mistura de petróleo com dispersante químico, foram ainda registradas, ao final do experimento, no 25º dia, concentrações bastante elevadas de HPA. Yu *et al.*, (1987) observaram uma queda das concentrações solúveis de hidrocarbonetos na água do mar para aproximadamente 1 mg.L^{-1} , três dias após a adição do petróleo, em experimentos que realizaram em mesocosmos também do tipo estático. Os dispersantes químicos tendem a transferir o petróleo da superfície para a coluna d'água, disponibilizando, muitas vezes, para a biota, as frações de hidrocarbonetos aromáticos que são solúveis na água (Al-Lihaibi, 2003) e potencialmente tóxicos para os organismos (Neff *et al.*, 1976; Yamada *et al.*, 2003).

Foi observada uma heterogeneidade nas concentrações de HPA entre as réplicas dos tratamentos. Segundo Gordon *et al.* (1976) isto ocorre devido à característica do óleo de apresentar uma distribuição não homogênea na água do mar o que, neste caso, poderia ter influenciado o efeito diferenciado da toxicidade entre as réplicas. Entretanto, cabe ressaltar que o petróleo disperso mecanicamente tende a coalescer mantendo-se na camada superficial da coluna d'água, enquanto que quando tratado com dispersante químico tende a se distribuir por toda a coluna d'água (Etkin, 1999).

Este fato foi observado no presente estudo, o que determinou a necessidade de se remover mecanicamente o petróleo sobrenadante dos tratamentos 4, 5 e 6, não tratados com dispersante, para permitir a penetração de luz e a coleta do plâncton. Estes fatores contribuíram para a redução das concentrações de hidrocarbonetos na coluna d'água tratadas apenas com petróleo.

Nos testes de toxicidade crônica de curta duração conduzidos com embriões de ouriço, *Lytechinus variegatus*, com as amostras coletadas nos mesocosmos que receberam tratamento, observou-se efeito apenas para as amostras coletadas nos

mesocosmos com petróleo e dispersante, com efeitos nas frações entre 1,0 e 10% da FQDA. Estas frações correspondem às concentrações teóricas de HPA entre 0,05 a 5,02 $\mu\text{g/L}^{-1}$ (1,0%) e 0,5 e 50,2 $\mu\text{g/L}^{-1}$ (10%), respectivamente. Neste tratamento, ao final do experimento (13/7), as concentrações de HPA ficaram entre 17 (F7) e 25,3 $\mu\text{g/L}^{-1}$ (F8). A réplica F8 foi a que apresentou maior concentração de HPA 1 hora após o início do experimento, com 2.230 $\mu\text{g/L}^{-1}$. Nas amostras dos tratamentos apenas com petróleo (FMDA) não foi observado efeito crônico, com percentuais de pluteus normais dentro do limite de aceitabilidade para o controle dos testes, que é acima de 80%. Os valores de HPAs nestas amostras variaram entre 234,5 a $< 0,01\mu\text{g/L}^{-1}$.

O mesmo ocorreu com as amostras testadas com *M. gracile*, nas quais as amostras da mistura do petróleo com o dispersante (FQDA) resultou em toxicidade aguda mais acentuada, enquanto que no tratamento com petróleo (FMDA) foi observado efeito agudo na amostra coletada seis horas após o início da simulação, com maior toxicidade na réplica F5. Neste mesocosmo a coluna d'água continha maior valor de HPA, com 234 $\mu\text{g/L}^{-1}$. Nas réplicas tratadas com petróleo e dispersante químico foi observado efeito agudo entre as diluições de 0,1 e 5,4 % da FQDA. Essas frações correspondem às concentrações teóricas de HPA de 0,88 e 0,94 $\mu\text{g/L}^{-1}$, respectivamente. Em ambos tratamentos foi observado um decréscimo da toxicidade ao longo do experimento para estes organismos.

Os surfactantes são agentes não-específicos e a sua toxicidade é geralmente atribuída aos efeitos causados sobre as membranas celulares, podendo causar ruptura das células e perda da função osmótica da membrana afetando o aparelho respiratório, podendo levar a asfixia (Singer *et al.* 1995 e 1996).

No presente estudo, a comunidade fitoplanctônica esteve constituída por espécies tropicais, estuarinas, marinhas, termófilas, eurihalinas, de hábitos planctônicos e ticopelágicos comuns nesta região (CEPUERJ, 1991).

As Bacillariophyta (diatomáceas) constituíram o grupo mais representativo do fitoplâncton na localidade estudada e nos sistemas experimentais, com maior riqueza de taxons. São algas reconhecidas pela distribuição ubíqua, encontradas em todos os tipos de habitats aquáticos, em todas as latitudes e estações do ano. São representantes de massas de água ricas em nutrientes, ocorrendo em elevadas densidades nas florações de primavera das regiões temperadas e nas regiões de

ressurgência das baixas latitudes, e também em várias regiões costeiras tropicais (Sevrin-Reyssac, 1980, Nascimento, 1998). Estes organismos são a principal fonte alimentar de muitos organismos filtradores ou raptorais (CEPUERJ, 1991).

Nos mesocosmos experimentais tratados com petróleo e com a mistura de petróleo e dispersante, foi este o grupo fitoplanctônico dominante, representado principalmente pelas diatomáceas cêntricas e penatas, pertencentes ao nanofitoplâncton. Por terem um tamanho reduzido ($< 20 \mu\text{m}$), os organismos nanoplanctônicos são adaptados às baixas concentrações de nutrientes, dominando em ambientes oligotróficos. Devido a uma alta razão superfície:volume, apresentam altas taxas de crescimento mesmo em condições de baixa absorção de nutrientes, podendo, com isso, responder rapidamente às alterações no ambiente.

Na comunidade fitoplanctônica estudada destacou-se a presença da espécie *Skeletonema costatum*, diatomácea pequena, considerada uma espécie oportunista e eurihalina, amplamente distribuída e presente nas principais massas d'água no sudeste do Brasil, como já registrado em Cananéia (Kutner, 1972), Baía de Guanabara (Villac, 1990), Baía de Espírito Santo (Bassani, 1993) e na Laguna de Araruama (Nascimento, 1998).

A poluição por ambos, petróleo e a mistura de petróleo e dispersante, teve um efeito marcante na relação de dominância dos grupos fitoplanctônicos, observando-se uma rápida substituição das diatomáceas pelos fitoflagelados. Os fitoflagelados são também de ocorrência comum na baía da Ilha Grande. Um estudo realizado por Soares (1983) registrou um percentual de fitoflagelados correspondendo até a 90% do fitoplâncton total nas amostras. Este grupo heterogêneo e ubíquo é geralmente responsável pela maior fração do fitoplâncton sob condições de crescimento desfavoráveis, como, por exemplo, sob baixas concentrações de nutrientes, elevações na temperatura ou baixa concentração de silicato, necessário para o crescimento das diatomáceas (Scholten & Kuiper, 1987; Smetacek, 1988). A rápida alteração da dominância das diatomáceas para os fitoflagelados observada no presente estudo sugere que as diatomáceas sejam mais sensíveis aos efeitos adversos do petróleo do que os fitoflagelados. Estes resultados validam a utilização de *S. costatum* em testes de toxicidade em laboratório.

O principal efeito do petróleo e da mistura de petróleo e dispersante sobre a comunidade fitoplanctônica foi a redução na densidade das populações. Nos mesocosmos o decréscimo de uma ordem de magnitude da densidade celular, em

ambos tratamentos, indicou o efeito depressor dos compostos testados sobre o crescimento das populações e, conseqüentemente, provável redução na produção primária local. Alguns estudos já reportaram a ocorrência da inibição do crescimento do fitoplâncton por hidrocarbonetos de petróleo sendo que, na maioria das vezes, a mistura com dispersante é mais tóxica do que o petróleo sozinho (Scholten & Kuiper, 1987; Lewis & Aurand, 1997 e Yamada *et al.*, 2003).

No estudo realizado por Lin Yu *et al.* (1987), foi observada a redução no crescimento das diatomáceas, porém, não houve nenhum efeito observável sobre o crescimento dos microflagelados após a adição do petróleo e dispersante químico. O que se observou, também neste tratamento, foi uma inibição do fitoplâncton no início do experimento com uma gradual recuperação.

Em experimentos em mesocosmos, fechados, sem circulação, as concentrações

e o tempo a que os organismos ficam expostos aos poluentes são normalmente superiores àqueles nos ambientes marinhos naturais, onde as correntes marinhas podem diluir rapidamente o petróleo podendo, algumas vezes, resultar em concentrações inferiores a 1 ppm, antes mesmo de afetar a vida marinha (Lewis & Aurand, 1997; Lessard *et al.*, 1998 e George-Ares & Clark, 2000). O presente estudo avaliou os efeitos de derrames de petróleo no mar em condições drásticas ou extremamente rigorosas, uma vez que o volume de petróleo foi calculado para formar uma película de 1 mm de petróleo na superfície da água, além de ser um sistema fechado, sem circulação. No entanto, o que se observa normalmente em mar aberto é a formação de 0,1 mm de película após o espalhamento inicial (Lewis & Aurand, 1997).

Em um estudo realizado por Lindén *et al.* (1987), com mesocosmo em fluxo contínuo com renovação, por exemplo, foi observado que uma hora após a introdução, havia três a quatro vezes mais óleo no tratamento que recebeu o dispersante químico. No entanto, após quatro a cinco dias, todos os sistemas voltaram às concentrações de base. Os autores observaram que os efeitos agudos foram mais pronunciados no tratamento com óleo e dispersante, enquanto que os efeitos crônicos mais acentuados foram observados onde não havia dispersante químico. Isso ocorreu devido ao maior tempo em que o óleo, quimicamente tratado, permaneceu na coluna d'água, sem aderir a partículas ou a organismos. Nesse caso, a produtividade do fitoplâncton decresceu cinco vezes imediatamente após o

impacto, devido, provavelmente, à toxicidade e à redução da transparência da água no início da simulação. Os autores observaram uma recuperação, após 5 a 7 dias.

Os resultados obtidos no presente estudo indicaram que a adição do petróleo e da mistura deste com dispersante, nas concentrações utilizadas, alteraram severamente a comunidade fitoplanctônica, reduzindo a densidade e alterando as relações de dominância dos grupos fitoplanctônicos. Há também indícios de que a mistura do petróleo com dispersante químico tenha um efeito depressor maior que o do petróleo sozinho. Rongcheng (1984) observou em testes de mesocosmos conduzidos com petróleo e com a mistura petróleo e dispersante que a produtividade primária foi mais afetada pela mistura do que pelo petróleo sozinho.

Os testes conduzidos em laboratório comparando-se a sensibilidade da diatomácea *Skeletonema costatum* com a do fitoflagelado *Tetraselmis chuii*, confirmaram os resultados obtidos no experimento em mesocosmo. *S. costatum* foi mais sensível ao petróleo ARLE/URAL e a mistura deste com o dispersante Corexit 9500[®] do que *T. chuii*, após 96 horas de exposição. Vale ressaltar que no teste com petróleo, nas concentrações nominais de 25 e 50% da FMDA houve um estímulo no crescimento da população de *S. costatum*. Alguns autores observaram em experimentos de laboratório que o petróleo estimula o crescimento da população de microalgas e da fotossíntese após a evaporação das substâncias tóxicas. Estímulo no crescimento de microalgas e na concentração de clorofila *a* em baixas densidades de petróleo também foi observado em experimentos conduzidos por Fabregas *et al.* (1984), no qual o crescimento populacional de *Tetraselmis suecica* foi estimulado em concentrações inferiores a 200 ppm de petróleo, a partir desta, foi observado uma rápida diminuição destes parâmetros. Já para o dispersante puro, tanto o crescimento quanto a produção de clorofila foram estimulados em concentrações inferiores a 8 ppm e inibidos em concentrações superiores. Na mistura de petróleo com dispersante ocorreu um estímulo do crescimento na concentração de 20 ppm. Nas maiores concentrações houve inibição, enquanto que a clorofila não foi afetada por esta fração.

Experimentos *in situ* realizados por Stephen *et al.* (1978) mostraram que os efeitos causados por concentrações de 10 ppm de uma série de quatro óleos diferentes sobre a produção primária, variaram com o tipo de óleo utilizado e com a densidade e composição do fitoplâncton. O mecanismo que estimula a fotossíntese algal em baixas concentrações de petróleo não é bem conhecido, no entanto, o

autor atribuiu a provável presença de metais traço no petróleo cru, que estaria agindo como micronutrientes.

Neste estudo, o amplo período de tempo entre as coletas nos mesocosmos impossibilitou a observação de estímulo de crescimento.

No entanto, considerando-se os resultados obtidos, não é possível determinar se houve diferença entre os tratamentos, devido à perda da réplica 9 e de duas amostragens na réplica 8 (mesocosmos do tratamento com a mistura de óleo e dispersante), impossibilitando a aplicação de uma análise estatística.

A comunidade zooplânctônica esteve representada por larvas pertencentes a espécies meroplânctônicas² de variados grupos taxonômicos (Polichaeta, Decapoda, Gastropoda e Bivalvia (Pelecypoda)) e ao holoplâncton³ (Cladocera, Chaetognata, Hidromedusa, Apendicullaria, Copepoda, Ctenofora, e Salpidae). Estes organismos são componentes constantes no plâncton de águas costeiras.

Quanto a repetibilidade entre as réplicas, as comunidades tanto do fito como do zooplâncton, em todos os mesocosmos, foram oriundas de um mesmo corpo d'água e tiveram a mesma estrutura, como observado pelos resultados obtidos nas análises químicas da água e na abundância dos grupos. No entanto, segundo Harrison (1987), um pequeno desvio na composição da comunidade nos mesocosmos, ao longo do tempo, entre as réplicas em experimentos longos é esperado, uma vez que se houver uma pequena diferença na estrutura da comunidade inicial, esta pode refletir no recrutamento ao longo do tempo.

Neste estudo, o petróleo puro teve um efeito agudo em 48 horas causando redução na densidade populacional das larvas de Decapoda, pertencentes ao meroplâncton e dos cladóceros, chaetognatos, apendiculárias e salpas, pertencentes ao holoplâncton. Os grupos que aparentemente tiveram sensibilidade moderada, com ocorrência nas amostras coletadas em 26 de junho (sete dias após o início da simulação) foram as larvas meroplânctônicas de poliquetas, bivalves, cirripédias e gastropodas e as hidromedusas, pertencentes ao holoplâncton. Os copépodes constituíram o grupo dominante em termos de abundância numérica ao final do experimento. Estes resultados, portanto, sugerem que os grupos meroplânctônicos possuem maior sensibilidade às frações solúveis do petróleo do que os grupos holoplânctônicos.

² Meroplâncton: Organismos que passam parte do ciclo de vida no plâncton.

³ Holoplâncton: Organismos que passam todo o ciclo de vida no plâncton.

No tratamento da mistura de petróleo com o dispersante o impacto sobre o zooplâncton foi mais severo, semelhante ao observado para a população fitoplanctônica. Em um dos mesocosmos (réplica F7) as larvas de poliqueta e as apendiculárias sofreram redução de densidade após 48 horas de exposição. Com exceção dos copépodes, que dominaram ao final do experimento, os demais grupos desapareceram nas primeiras 24 horas. Em outro mesocosmo para o mesmo tratamento (réplica F8) apenas algumas espécies de copépodes resistiram até o final do experimento, com o desaparecimento dos demais grupos em 24 horas. A concentração de HPA nesta réplica foi maior do que o registrado na coluna d'água do mesocosmo correspondente à réplica F7.

No presente estudo copepoda foi o grupo dominante e que apresentou uma mudança temporal distinta nos dois tratamentos, permitindo uma diferenciação entre os tratamentos.

Os copépodes tem sido considerados como sendo organismos-teste bastante sensíveis a uma variedade de compostos tais como inseticidas, metais e petróleo que entram nas águas costeiras (Gyllenberg e Lundqvist, 1976; Reynier *et al.*, 1994; Dias, 1994; Jak *et al.*, 1998), além de constituírem um elo importante na cadeia trófica, uma vez que estes organismos armazenam lipídios de diatomáceas, os quais são incorporados em pássaros e peixes. Em um estudo realizado por Gyllenberg & Lundqvist (1976), por exemplo, emulsificantes e óleo tiveram efeitos pronunciados no metabolismo lipídico de *Acartia* e *Cyclops* os quais, provavelmente, metabolizaram componentes do emulsificante e o armazenaram nas reservas lipídicas.

Entre as espécies carnívoras, *Oithona hebes* foi a mais resistente ao impacto agudo e crônico, em ambos os tratamentos, conforme observado pelo aumento da abundância desta espécie nas primeiras 24 horas e pela presença de fêmeas ovadas ao longo do experimento.

Foi observada uma redução na abundância numérica de algumas espécies nas primeiras 24 horas, tanto no tratamento com petróleo quanto no petróleo e dispersante, com exceção das espécies *Acartia lilljeborgi* nos mesocosmos tratados com petróleo e de *Oithona hebes* nos dois tratamentos. Estas espécies foram mais resistentes ao impacto agudo destas substâncias. Porém, ao longo do experimento, *Pseudodiaptomus acutus* foi a espécie de copépode com maior percentual de ocorrência nos tratamentos com petróleo e petróleo e dispersante, sugerindo ser

esta a espécie herbívora mais resistente. O aumento do percentual de ocorrência variou com a oferta alimentar, conforme observado na variação da densidade total do fitoplâncton.

A variação de fêmeas grávidas de *P. acutus* foi inversa à observada para os náuplios, sugerindo que não houve um efeito crônico sobre a reprodução desta espécie, nas condições experimentais.

Devido ao severo impacto simulado no presente estudo, o tempo do experimento não foi suficiente para que ocorresse possível recuperação da comunidade nos dois tratamentos.

Considerando-se que a mistura do petróleo e do dispersante tem um efeito adverso sobre a comunidade planctônica, sugere-se que a utilização de dispersante nos eventos de derramamento de petróleo seja cuidadosamente avaliada. Deve-se considerar os benefícios líquidos de seu uso, tomando por base os possíveis efeitos caso o petróleo atinja a linha de costa, acarretando efeitos ecotoxicológicos, físicos e estéticos, devido ao recobrimento das superfícies.

Vários autores consideram que os impactos decorrentes do lançamento em batela de dispersantes para o combate a poluição por petróleo tem efeito temporário e reversível na coluna d'água, principalmente em sistemas abertos com alta taxa de renovação e, por conseguinte, de diluição de contaminantes e recrutamento populacional (Etkin, 1999; George-Ares & Clark, 2000).

A experimentação em mesocosmos é uma ferramenta importante em estudos de poluição envolvendo comunidades planctônicas, uma vez que permitem eliminar influências de determinadas variáveis do ecossistema natural, simplificando o entendimento das interações que ocorrem em ambientes complexos. Nesses experimentos é possível avaliar efeito sobre organismos com diferentes estágios de desenvolvimento, associando indivíduos com maior e com menor sensibilidade. No entanto, experimentos em mesocosmos geralmente necessitam de estruturas complexas, envolvendo áreas multidisciplinares e, conseqüentemente, altos custos. Por outro lado, tem-se observado que os parâmetros químicos são geralmente bem reproduzidos entre as réplicas, enquanto os parâmetros biológicos são altamente variáveis, sendo recomendada a utilização de réplicas. Estes fatores limitam a sua utilização em experimentos de rotina.

Tanto os experimentos em laboratório quanto os conduzidos em mesocosmos, utilizam espécies sensíveis que são expostas a condições extremas

de impacto, com concentrações mais altas e por um período maior do que estariam no ambiente natural. O valor médio das concentrações de petróleo disperso na coluna d'água (1-10 ppm) verificado normalmente após vazamento é geralmente bem inferior às concentrações que causam efeitos subletais (100 – 1000 ppm) ou letais (100 – 10.000 ppm) para a maioria dos organismos (Etkin, 1999).

Portanto, a interação dos resultados obtidos nos experimentos conduzidos em laboratório, o conhecimento do ambiente natural e da biologia das espécies envolvidas é fundamental para a interpretação dos resultados dos efeitos de poluentes no ambiente.

6 - CONCLUSÕES

- 1 - As características físicas e químicas da água em mesocosmos contaminados com petróleo e com a mistura petróleo-dispersante sofrem grandes alterações, com incremento acentuado nas concentrações de compostos voláteis e de compostos derivados de petróleo potencialmente tóxicas, nas primeiras horas tendendo a redução ao longo do tempo, sendo este feito esperado em situação de campo quando ocorrem vazamentos de petróleo.
- 2 - Os mesocosmos tratados com a mistura de petróleo e dispersante mantiveram elevadas concentrações de hidrocarbonetos poliaromáticos (HPAs), indicando a existência de condições de toxicidade à biota aquática ao longo de 25 dias, apesar da redução das concentrações ao longo do tempo.
- 3 - O petróleo e a mistura petróleo e dispersante são tóxicos à comunidade fitoplanctônica, ocasionando acentuada redução nas densidades populacionais e induzindo mudanças na dominância entre os grupos e alterações na composição de espécies.
- 4 - As diatomáceas apresentam maior sensibilidade do que os fitoflagelados frente a contaminação ambiental por petróleo e *Skeletonema costatum* é uma espécie útil para ensaios de toxicidade em casos de vazamento de petróleo no mar.
- 5 - Em derrames de petróleo no mar, após a volatilização dos compostos mais tóxicos e em baixas concentrações de hidrocarbonetos totais é comum observar um estímulo no crescimento populacional da comunidade fitoplanctônica.

- 6 - Tanto o petróleo quanto a mistura de petróleo e dispersante derramados no ambiente marinho tem toxicidade acentuada sobre as comunidades zooplanctônicas, sendo a mistura mais tóxica do que o petróleo puro, ambas desencadearam redução nas densidades populacionais e mudanças nas relações de dominância e na composição de espécies.
- 7 - Dentre os organismos zooplanctônicos, os meroplanctônicos foram mais sensíveis aos efeitos agudos do petróleo do que os holoplanctônicos.
- 8 - Copepoda foi o grupo mais resistente aos efeitos do petróleo e da mistura de petróleo e dispersante, porém foi o grupo que permitiu uma melhor discriminação dos efeitos entre os tratamentos com e sem dispersante.
- 9 - Entre as espécies herbívoras *Acartia lilljeborgi* é mais resistente ao efeito agudo do petróleo, enquanto *Pseudodiaptomus acutus* é mais resistente aos efeitos crônicos tanto ao petróleo quanto á mistura do petróleo com o dispersante
- 10 - *Oithona hebes* é a espécie de Copepoda carnívora mais resistente ao impacto agudo e crônico do derrame de petróleo ou da mistura de petróleo e dispersante, visto não interromper a reprodução, como indicado pela presença de fêmeas ovadas ao longo do período experimental.
- 11 - O modelo experimental dos mesocosmos é adequado para a avaliação dos efeitos do derrame de petróleo ou da mistura de petróleo e dispersante, como corroborado pelos estudos de toxicidade desenvolvidos em laboratório com algas e com organismos-teste animais, que corroboraram os efeitos observados em campo.
- 12 - Estudos de mesocosmos são úteis para se conhecer as respostas adaptativas de comunidades planctônicas a ação dos contaminantes vazados ou descartados nos ambientes marinhos. Entretanto, sistemas fechados (sem renovação) como o utilizado no presente estudo implicam na avaliação de impactos de petróleo sobre estas comunidades em situações drásticas, uma

vez que mesmo em situações de baías e estuários a renovação de água, ainda que pequena, proporciona a diluição e dispersão do petróleo na massa d'água.

7 - REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Al-Lihaibi, S.S. 2003. Photo-oxidation products of petroleum hydrocarbons in the Eastern Red Sea coastal waters. *Environment International*, 28:573-570.
- Anderson, J. W.; Neff, J.M.; Cox, B.A.; Tatem, H.E.; Hightower, G.M. 1974. Characteristics of dispersal and water-soluble extracts of crude and refined oil and their toxicity to marine crustaceans and fish. *Marine Biol.*, 27: 75-78.
- API - American Petroleum Institute. 1999. A decision-maker's guide to dispersants. Health and Environmental Sciences Department. API 4691, N.W., Washington, D.C.
- API. 2001. Risk-Based methodologies for evaluating petroleum hydrocarbon Impacts at oil and natural gas E&P sites. API 4709, N.W., Washington, D.C.
- ASTM – American Society for Testing and Materials. 1998. *Standard Provisional Guide for Risk-Based Corrective Action*. [Designation: PS 104-98], West Conshohocken, PA.
- Badaró-Pedroso, C.; Reynier, M.V.; Prósperi, V.A. 2002. Testes de toxicidade aguda com misidáceos – Ênfase nas espécies *Mysidopsis juniae* e *Mysidium gracile* (Crustácea-Mysidacea). *In: Métodos em Ecotoxicologia Marinha: Aplicações no Brasil*. Nascimento, Souza e Nipper Eds. São Paulo, p. 123-139.
- Bassani, C.T.T. 1993. Distribuição espacial e temporal do fitoplâncton e suas relações com os fatores ambientais na Baía do Espírito Santo (E.S. – Brasil). Dissertação de Mestrado. Universidade Federal do Rio de Janeiro, RJ, Brasil, 185p.
- CEPUERJ - Centro de Produção da Universidade do Estado do Rio de Janeiro. 1991. Relatório final. Etapa I. Estudo dos efeitos da retenção de hidrocarbonetos em ambientes costeiros na baía da Ilha Grande, Rio de Janeiro. Rio de Janeiro, RJ, Brasil.
- CETESB - Companhia De Tecnologia De Saneamento Ambiental - 1999. Água do mar. Teste de toxicidade crônica de curta duração com *Lytechinus variegatus*, Lamarck, 1816. *Norma Técnica L5.250*, São Paulo, CETESB, p20.

- CNEXO, 1983. *Manuel des Analises Chimiques au Mileu Marin*. Aminot, A. & Chaussepied, M. (eds), CNEXO-BNDO, Brest, 395pp.
- Cupp, E.E. 1943. *Marine plankton diatoms of the West coast of North America*. Bul. Scripps Inst. Oceanogr. Univ., Calif. Techn. Ser., Berkeley, C.A., USA.
- Dias, C.O. 1994. Distribuição e variação espacial-temporal dos copépodos na Baía do Espírito Santo (Vitória, ES, Brasil). *Arq. Biol. Tecnol.*, Curitiba, 37:929-949.
- Etkin, D.S. 1999. Oil spill dispersants: From Technology to Policy. Cutter Information Corp., Arlington, Massachussets, USA.
- Fabregas, J.; Herrero, C.; Veiga, M. 1984. Effect of oil and dispersant on growth and chlorophyll a content of the marine microalga *Tetraselmis suecica*. *Applied and Environmental Microbiology*, 47:445-447.
- George-Ares, A.; Clark, J.R. 2000. Aquatic toxicity of two Corexit® dispersants. *Chemosphere*, 40:897-906.
- Gordon, D.C. Jr.; Keizer, P.D.; Hardstaff, W.R.; Aldous, D.G. 1976. Fate of crude oil spilled on seawater contained in outdoor tanks. *Environ. Sci. Tech.* 10:580-585.
- Grasshoff, K., Erhardt, M.; Kremling, K. 1983. *Methods of Seawater Analysis*. Verlag-Chemie, Weinheim, 407pp.
- Gulley, D.D.; Boelter, A.M.; Bergman, H.L. 1991. "TOXSTAT Realease 3.3", Laramie, WY University of Wyoming, 19 p.
- Gyllenberg, G.; Lundqvist, G. 1976. Some effects of emulsifiers and oil on two copepod species. *Acta Zoologica Fennica*, 1-24.
- Hamilton, M.A.; Russo, R.C.; Thurston, R.V. 1977. Trimmed Spearman Karber method for estimating median lethal concentrations in toxicity bioassays. *Environ. Sci. Technol.*, 11(7):714-19.
- Harrison, P.J. 1987. Summary. In: Marine Ecosystem Enclosed Experiments. Proceedings of a symposium held in Beijing, People's Republic of China, 9-14 May. pp. 7-12.
- Hsiao, S.I.C.; Kittlet, D. W.; Foy, M.G. 1978. Effects of crude oils and the oil dispersant Corexit on primary production of artic marine phytoplankton and seaweed. *Environ. Pollut.* 15:209-221.
- Jak, R.G., Ceulemans, M., Scholten, M.C.Th.; Straalen, M. van. 1998. Effects of tributyltin on a coastal north sea plankton community in enclosures. *Environm. Toxicol. and Chem.* 9:1840-1847.

- Kutner, M.B.B. 1972. Variação estacional e distribuição do fitoplâncton na região de Cananéia. Tese de Doutorado, Universidade de São Paulo, SP, Brasil.
- Lara, R.J., Asteasuain, A., Rusansky, C.; Asteasu, R. 1995. Distribution of petroleum hydrocarbons in waters of the Bahia Blanca Bay, Argentina. *Mar. Pol. Bull.* 4:281-283.
- Lessard, R.R., DeMarco, G.; Fiocco R.J. 1998. Recent Advances in oil spill dispersant technology with emphasis on new capability to disperse heavy oil. *Proceedings of SPE International Conference on Health, Safety and Environment in oil and gas Exploration and production*. Society of Petroleum Engineers, Inc.; Caracas.
- Lewis, A.; Aurand, D. 1997. *Putting dispersants to work: Overcoming obstacles*. International Oil Spill Conference – Issue paper. American Petroleum Institute. Technical Report IOSC – 004, Washington, 78p.
- Lin Yu; Dongfa, Z.; Shengsan, W. 1987. Effects of chemically dispersed crude oil on marine phytoplankton: A comparison between two marine ecosystem enclosed experiments. *In: Marine Ecosystem Enclosed Experiments*. Proceedings of a symposium held in Beijing, People's Republic of China, 9-14 May. pp. 343-352.
- Lindén, O., Rosemarin, A., Lindskog, A., Höglund, C.; Johansson, S. 1987. Effects of oil and oil dispersant on an enclosed marine ecosystem. *Environ. Sci. Technol.*, 21:374-382.
- Maurat, M.C.S. 1996. Efeito crônico do óleo bruto, de dispersante de petróleo e da mistura óleo/dispersante na espécie *Champia parvula* – macroalga. D
- Meniconi, M.F.G.; Gabardo, I.T. 2002. Brazilian oil spills chemical characterization – Case studies. *Environmental Forensics*, 3:303-321.
- Nascimento, L.R. 1998. O fitoplâncton da Laguna hipersalina de Araruama – RJ-Brasil. Dissertação de Mestrado. Universidade Federal Fluminense, Niterói, RJ, Brasil.
- Navarro, J.N. 1981. A survey of the marine diatom of Puerto Rico I. Suborders: *Coccinodiscaceae* and *Rhizosoleniaceae*. *Bot. Mar.*, Berlin, 19:427-439.
- Navarro, J.N. 1982a. A survey of the marine diatoms of Puerto Rico. III. Suborder: *Biddulphiineae*: family *Chaetoceraceae*. *Bot. Mar.*, Berlin, 25:305-319.
- Navarro, J.N. 1982b. A survey of the marine diatoms of Puerto Rico. IV. Suborder: *Araphidineae*: families *Dictomaceae* and *Protoraphidaceae*. *Bot. Mar.*, Berlin, 247-263.

- Navarro, J.N. 1982c. A survey of the marine diatoms of Puerto Rico V. Suborder: *Raphidineae*: families *Achantaceae* and *Naviculaceae* (excluding *Navicula* and *Mastogloia*). *Bot. Mar.*, Berlin, 321-338.
- Navarro, J.N. 1983. A survey of the marine diatoms of Puerto Rico. VII. Suborder: *Raphidineae*: families *Auriculaceae*, *Epithemiaceae*, *Nitzschiaceae* and *Surirellaceae*. *Bot. Mar.*, Berlin, 26:393-408.
- Neff, J.M., Cox, B.A., Dixit, D.; Anderson, J.W. 1976. Accumulation and release of petroleum-derived aromatic hydrocarbons by four species of marine animals. *Mar. Biol.*, 38:279-289.
- Nelson-Smith, A. 1972. Oil pollution and marine ecology. *Elek Science*, London, 166p.
- Norberg-King, T. 1993. A linear interpolation method for sublethal toxicity: the inhibition concentration (ICp) approach (version 2.0). U.S.EPA Duluth, 1v.
- Parsons, T.R., Maita, Y. & Lalli, C.M. 1984. *A Manual of Chemical and Biological Methods for Seawater Analysis*. Pergamon Press, Oxford, 173pp.
- Payne, J. 1994. Use oil spill weathering data in toxicity studies for chemically and naturally dispersed oil slicks. In: Janet H. Kucklick eds., *Proceedings of the First Meeting of the Chemical Response to Oil Spill: Ecological Effects Research Forum*. MSRC Technical Report Series 94-017 Santa Cruz, CA, USA.
- PETROBRAS – Petróleo Brasileiro S.A. 1994. Diagnóstico Ambiental oceânico e costeiro das regiões sul e sudeste do Brasil, Petróleo do Brasil S/A, São Paulo, SP, Brasil.
- PETROBRAS. 2001. Monitoramento Ambiental da atividade de produção de petróleo na Bacia de Campos. Etapa de Pré-Monitoramento-Relatório final, Petróleo do Brasil S/A, Rio de Janeiro, RJ, Brasil.
- PETROBRAS. 2002. Monitoramento Ambiental da Área de Influência do Emissário de Cabiúnas, Região de Macaé/RJ. Caracterização Pré-Operação e Monitoramento Pós-Operação – Relatório Final. Etapa de Pré-Monitoramento, Petróleo do Brasil S/A, Rio de Janeiro, RJ, Brasil.
- Prósperi, V.A.; Araújo, M.M.S. 2002. Teste de toxicidade crônica com *Lytechinus variegatus*, Lamarck 1816 e *Echinometra lucunter*, Linnaeus 1758 (Echinodermata:Echinoidea). In: *Métodos em Ecotoxicologia Marinha: Aplicações no Brasil*. Nascimento, Souza e Nipper Eds. São Paulo, 262p.

- Rand, G.M. 1995. Fundamentals of Aquatic Toxicology: Effects, Environmental Fate and Risk Assessment. 2nd ed. Taylor & Francis, Florida, USA.
- Reynier, M.V.; Badaró-Pedroso, C.; Melo, S.L.R.; Zamboni, A.J. 1994. Testes de toxicidade com microcrustáceos *Temora stylifera* e *Mysidopsis juniae* expostos a diferentes efluentes derivados da atividade de produção de petróleo. In: Simpósio de Ecossistemas da Costa Brasileira. 3. Anais. Serra Negra, São Paulo, ACIESP, p.425-429.
- Reynier, M.V. 1996. Aspectos da biologia de *Mysidium gracile* (DANA, 1852) (Crustacea-Mysidacea). *Dissertação de Mestrado*. Universidade de São Paulo. São Paulo. 95p.
- Ricard, M. 1987. Atlas du phytoplancton marin. Vol. II. Diatomophycées, Paris, France.
- Rongcheng, L.; Yanshun, L.; Jinping, W.; Lee, K.; Wenquan, L. 1987. Response of bacterioplankton to Coexit 9527 and Corexit-dispersed Shengli Crude Oil. In: Marine Ecosystem Enclosed Experiments. Proceedings of a symposium held in Beijing, People's Republic of China, 9-14 May. pp. 332-342.
- Sevrin-Reyssac, J. 1980. Recherche sur le phytoplancton de la côte brésilienne (aspect qualitatif et quantitatif, biogéographie). Essai de comparaison avec les populations de L'ouest Africain. *B. Mus. Nat. Hist. Nat.*, Paris, 4:295-339.
- Singer, M.M., George S.; Tjeerdema, R.S. 1995. Relationship of some physical properties of oil dispersants and their toxicity to marine organisms. *Arch. Environ. Contam. Toxicol.*29:33-38.
- Singer, M.M., George S., Jacobson, S., Lee, I., Weetman, L.L., Tjeerdema, R.S.; Sowby, M.L. 1996. Comparison of acute aquatic effects of the oil dispersant Corexit 9500 with those of other Corexit series dispersants. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 35:183-189.
- Smetacek, V. 1980. Plankton characteristics. In: Postma, H.; Zilstra, J.J., eds. *Ecosystem of the world*, V.2. Continental Shelves. Amsterdam, Elsevier. 93-130.
- Soares F.S. 1983. Estudo do fitoplâncton de águas costeiras e oceânicas da região de Cabo Frio - RJ (23°31'S; 41°52'W) até o Cabo de Santa Marta Grande - SC (28°43' S; 47°57'W). *Dissertação de Mestrado*, Universidade do Estado de São Paulo, SP, Brasil.
- Sournia, A. 1968. Diatomées planctonique du Canal de Mozambique et de l'île Maurice. *Mem. O.R.S.T.O.M.*, Paris.

- Sournia, A. 1986. *Atlas du phytoplancton marin*. Paris.
- Suchanek, T.H. 1993. Oil impacts on marine invertebrate populations and communities. *Amer. Zool.*, 33:510-523.
- Tarzwel, C.M. 1969. Standard methods for the determination of relative toxicity of oil dispersants and mixtures of dispersants and various oils to aquatic organisms. *In: Proceedings Joint Conference on Prevention and Control of oil spills*. American Petroleum Institute and Federal Water Pollution Control Administration. December 15-17. New York. P:179-186.
- Thomas, C.R. 1977. Identifying marine phytoplankton. Academic Press, London, 589p.
- UNEP – United Nations Environment Programme. 1989. *Estimation of the toxicity of pollutants to marine phytoplanktonic and zooplanktonic organisms*. Reference Methods for Marine Pollution Studies, 44:24p.
- UNESCO. 1991. *Manual on marine experimental ecosystems*. UNESCO technical papers in marine science. 179 p.
- Utermöhl, H. 1958. Zur vervollkommnung der quantitativen phytoplankton methodik. *Mitt. Int. Ver Limnol.*, 9:1-38.
- Villac, M.C. 1990. O Fitoplâncton como um instrumento de diagnose e monitoramento ambiental: Estudo de caso Baía de Guanabara (RJ-Brasil). Dissertação de Mestrado. Universidade Federal do Rio de Janeiro, RJ, Brasil.
- Weber, R.R.; Bicego, M.C. 1991. Survey of petroleum aromatic hydrocarbons in the São Sebastião Channel, SP, Brazil, November 1985 to August 1986. *Bolm. Institute of Oceanography* 39:117-121.
- Wolfe, M.F., Schlosser, G.J.B.; Singaram, S.; Mielbrecht, E.E.; Tjeerdema, R.S.; Sowby, M.L. 1998. Influence of dispersants on the bioavailability and trophic transfer of petroleum hydrocarbons to primary levels of a marine food chain. *Aquatic Toxicology*, 42:211-227.
- Yamada, M.; Takada, H.; Toyoda, K.; Yoshida, A. ; Shibata, A. ; Nomura, H.; Wada, M.; Nishimura, M.; Okamoto, K; Ohwada, K. 2003. Study on the fate of petroleum-derived polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) and the effect of chemical dispersant using an enclosed ecosystem, mesocosm. *Marine Pollution Bulletin*, 47:105-113.

Zanardi, E., Bicego, M.C.; Weber, R.R. 1999. Dissolved/dispersed petroleum aromatic hydrocarbons in the São Sebastião Channel, São Paulo, Brazil. *Marine Pollution*, 38: 410-413.

8 - ANEXOS

ANEXO 1

Valores médios, a cada 12 horas, da temperatura do ar (°C) e da precipitação pluviométrica (mm) registrados na praia de Itaorna, em Angra dos Reis, RJ, durante o período de 14 de junho a 13 de julho de 2002.

Registros			Temperatura do ar (°C)				Precipitação (mm)
Mês	Dia	Período (h)	Média	Desvio	Mínima	Máxima	Média
Junho	14	01:00 às 12:00	21,8	1,0	20,3	23,0	0,0
		13:00 às 24:00	23,1	0,6	22,0	23,7	0,0
	15	01:00 às 12:00	22,4	0,9	21,7	23,9	0,0
		13:00 às 24:00	22,8	0,8	21,6	23,7	0,1
	16	01:00 às 12:00	21,6	1,0	20,7	23,3	0,0
		13:00 às 24:00	22,8	0,7	21,8	23,4	0,0
	17	01:00 às 12:00	21,5	0,9	20,3	23,2	0,0
		13:00 às 24:00	22,2	0,8	21,1	23,5	0,0
	18	01:00 às 12:00	20,7	1,3	19,2	23,2	0,0
		13:00 às 24:00	22,5	0,9	21,6	24,1	0,0
	19	01:00 às 12:00	22,1	1,1	21,3	24,3	0,0
		13:00 às 24:00	23,1	1,1	21,5	24,8	0,0
	20	01:00 às 12:00	21,3	1,1	20,1	23,4	0,0
		13:00 às 24:00	21,9	1,3	19,7	23,5	0,0
	21	01:00 às 12:00	20,1	1,5	18,8	23,1	0,0
		13:00 às 24:00	22,2	1,0	21,2	24,0	0,0
	22	01:00 às 12:00	21,5	0,7	20,5	22,7	0,0
		13:00 às 24:00	20,8	1,3	19,0	22,4	4,4
	23	01:00 às 12:00	18,8	0,3	18,3	19,2	3,0
		13:00 às 24:00	18,6	0,6	17,7	19,5	0,4
	24	01:00 às 12:00	18,4	1,5	17,2	21,2	0,0
		13:00 às 24:00	20,6	0,8	19,3	21,7	1,4
	25	01:00 às 12:00	18,9	0,2	18,4	19,2	0,1
		13:00 às 24:00	18,1	0,7	17,4	19,3	0,2
	26	01:00 às 12:00	17,9	0,3	17,5	18,6	0,2
		13:00 às 24:00	18,7	0,5	18,1	19,5	0,1
	27	01:00 às 12:00	18,9	1,0	17,9	20,6	0,0
		13:00 às 24:00	20,6	0,6	19,9	21,7	0,0
	28	01:00 às 12:00	19,7	1,2	18,6	22,0	0,0
		13:00 às 24:00	21,5	0,9	20,4	22,7	0,0
29	01:00 às 12:00	20,7	1,3	19,5	23,2	0,0	
	13:00 às 24:00	22,0	1,4	20,6	24,8	0,0	
30	01:00 às 12:00	21,5	1,2	20,4	23,6	0,0	
	13:00 às 24:00	22,7	0,9	21,6	24,4	0,0	

Continua

Continuação do anexo 1

Registros			Temperatura do ar (°C)				Precipitação (mm)
Mês	Dia	Período (h)	Média	Desvio	Mínima	Máxima	Média
Julho	01	01:00 às 12:00	21,9	1,1	20,8	24,0	0,0
		13:00 às 24:00	22,4	1,7	20,2	24,7	0,0
	02	01:00 às 12:00	20,9	0,9	19,9	22,4	0,0
		13:00 às 24:00	21,5	0,5	20,9	22,2	0,0
	03	01:00 às 12:00	20,4	0,9	19,5	22,3	0,0
		13:00 às 24:00	21,2	0,9	19,7	22,5	0,0
	04	01:00 às 12:00	20,0	1,2	19,0	22,4	0,0
		13:00 às 24:00	21,7	0,8	20,3	22,7	0,0
	05	01:00 às 12:00	20,5	0,8	19,4	21,9	0,0
		13:00 às 24:00	21,0	1,2	19,1	22,8	0,0
	06	01:00 às 12:00	19,5	1,4	18,4	22,2	0,0
		13:00 às 24:00	21,4	1,1	20,4	23,1	0,0
	07	01:00 às 12:00	21,6	1,2	20,6	24,5	0,0
		13:00 às 24:00	23,8	1,6	21,9	25,9	0,0
	08	01:00 às 12:00	20,5	1,4	18,3	22,7	0,0
		13:00 às 24:00	19,9	0,8	19,0	21,2	0,0
	09	01:00 às 12:00	18,5	1,0	17,3	20,1	0,0
		13:00 às 24:00	19,3	0,5	18,7	20,2	0,0
	10	01:00 às 12:00	18,9	0,8	18,3	20,5	0,0
		13:00 às 24:00	19,1	0,7	18,4	20,5	0,0
	11	01:00 às 12:00	18,7	0,3	18,1	19,1	0,4
		13:00 às 24:00	17,7	0,6	17,1	18,7	1,6
	12	01:00 às 12:00	18,0	0,8	17,1	19,2	0,1
		13:00 às 24:00	18,8	0,3	18,4	19,2	0,8
13	01:00 às 12:00	18,6	0,5	18,1	19,6	0,1	
	13:00 às 24:00	18,6	0,8	16,8	19,6	0,0	

ANEXO 2

Condições de luminosidade e do tempo, horário de coleta e registro da perda dos mesocosmos durante as amostragens realizadas entre os dias 19 de junho e 13 de julho de 2002 na praia de Itaorna, em Angra dos Reis, RJ, durante o experimento de derrame simulado de petróleo.

Parâmetros	Data da coleta							
	19/06			20/06	21/06	26/06	04/07	13/07
Hora início da coleta	08:10	12:50	17:00	14:00	10:20	14:00	09:00	14:00
Hora fim da coleta	09:30	13:40	18:10	16:05	11:40	16:10	11:00	15:30
Luminosidade (lux)	7400	8540	8360	7500	7380	5080	7460	5090
Condições do tempo	sol	sol	sol	sol	sol	chuva intensa	sol	chuva intensa
Sistemas perdidos	–	–	–	–	–	F1 e F9	–	F6

ANEXO 3

Parâmetros relativos às variáveis físicas e químicas, medidos nos mesocosmos **CONTROLE** (F1, F2 e F3) no período entre 19 de junho e 13 de julho de 2002, na Praia de Itaorna, Angra dos Reis, RJ. NC = não coletada

Réplica F1										
Variáveis	Data da coleta								média	desvio padrão
	19/6 (T0h)	19/6 (T1h)	19/6 (T6h)	20/6	21/6	26/6	4/7	13/7		
Temperatura (°C)	25	26	25	25	25				25,20	0,45
pH	7,9	7,88	7,89	7,81	7,96				7,89	0,05
Salinidade (‰)	34	34	34	34	34				34,00	0,00
Oxigênio (mg/L)	4,67	4,67	4,67	5,7	5,4				5,02	0,49
MPS (mg/L)	21,1	21,1	21,1	20,1	16,9				20,06	1,82

Réplica F2										
Variáveis	Data da coleta								média	desvio padrão
	19/6 (T0h)	19/6 (T1h)	19/6 (T6h)	20/6	21/6	26/6	4/7	13/7		
Temperatura (°C)	25	26	25	25	25	23	25	22	24,50	1,31
pH	7,84	7,82	7,88	7,89	7,98	7,9	8,18	8,16	7,96	0,14
Salinidade (‰)	34	34	34	34	34	34	34	35	34,13	0,35
Oxigênio (mg/L)	4,76	4,76	4,76	4,95	5,16	5,72	6,54	4,78	5,18	0,64
MPS (mg/L)	1,8	1,8	1,8	2,3	24,2	4,46	26,8	24,8	11,00	11,87

Réplica F3										
Variáveis	Data da coleta								média	desvio padrão
	19/6 (T0h)	19/6 (T1h)	19/6 (T6h)	20/6	21/6	26/6	4/7	13/7		
Temperatura (°C)	25	26	25	25	25	23	25	22	24,50	1,31
pH	7,79	7,8	7,83	7,88	7,97	8,06	8,24	8,15	7,97	0,17
Salinidade (‰)	34	34	34	34	34	27	31	33	32,63	2,50
Oxigênio (mg/L)	4,84	4,84	4,84	5,36	5,53	6,09	6,66	5,57	5,47	0,66
MPS (mg/L)	19,9	19,9	19,9	9,2	14,3	23,7	6,2	20,4	16,69	6,16

Continua

Continuação do anexo 3

Parâmetros relativos às variáveis físicas e químicas, medidos nos mesocosmos tratados com **PETRÓLEO** (F4, F5 e F6) no período entre 19 de junho e 13 de julho de 2002 na Praia de Itaorna, Angra dos Reis, RJ. NC = não coletada

Réplica F4										
Variáveis	Data da coleta								média	desvio padrão
	19/6 (T0h)	19/6 (T1h)	19/6 (T6h)	20/6	21/6	26/6	4/7	13/7		
Temperatura (°C)	25	26	25	25	25	23	25	22	24,50	1,31
pH	7,83	7,89	7,84	7,88	7,97	7,91	8,09	8,18	7,95	0,13
Salinidade (‰)	34	34	34	34	34	30	33	34	33,38	1,41
Oxigênio (mg/L)	4,65	4,65	4,65	4,91	4,97	5,44	6,98	1,19	4,68	1,61
MPS (mg/L)	5,3	5,3	5,3	2,2	26,8	2,3	25,3	28	12,56	11,80

Réplica F5										
Variáveis	Data da coleta								média	desvio padrão
	19/6 (T0h)	19/6 (T1h)	19/6 (T6h)	20/6	21/6	26/6	4/7	13/7		
Temperatura (°C)	25	26	25	25	25	23	25	22	24,50	1,31
pH	7,69	7,9	7,89	7,94	7,95	7,94	8,09	8,22	7,95	0,15
Salinidade (‰)	34	34	34	34	34	34	34	34	34,00	0,00
Oxigênio (mg/L)	4,69	4,69	4,69	4,8	5,1	5,65	6,53	1,53	4,71	1,44
MPS (mg/L)	18,7	18,7	18,7	27,8	16,88	22,3	27,5	15,2	20,72	4,72

Réplica F6										
Variáveis	Data da coleta								média	desvio padrão
	19/6 (T0h)	19/6 (T1h)	19/6 (T6h)	20/6	21/6	26/6	4/7	13/7		
Temperatura (°C)	25	26	25	25	25	23	25		24,86	0,90
pH	7,89	7,89	7,93	7,99	7,94	7,87	8,02		7,93	0,06
Salinidade (‰)	34	34	34	34	34	30	33		33,29	1,50
Oxigênio (mg/L)	5,02	5,02	5,02	5,2	5,44	5,72	6,32		5,39	0,49
MPS (mg/L)	2,02	2,02	2,02	25,5	16,5	26,7	21,1		13,69	11,40

Continua

Continuação do anexo 3

Parâmetros relativos às variáveis físicas e químicas, medidos nos mesocosmos tratados com **PETRÓLEO E DISPERSANTE** (F7, F8 e F9) no período entre 19 de junho e 13 de julho de 2002 na Praia de Itaorna, Angra dos Reis, RJ. NC = não coletada NF = não foi possível filtrar a amostra devido à presença de petróleo.

Réplica F7										
Variáveis	Data da coleta								média	desvio padrão
	19/6 (T0h)	19/6 (T1h)	19/6 (T6h)	20/6	21/6	26/6	4/7	13/7		
Temperatura (°C)	25	26	25	25	25	23	25	22	24,50	1,31
pH	7,77	7,84	7,84	7,89	7,98	7,49	7,63	7,61	7,76	0,16
Salinidade (‰)	34	34	34	34	34	33	33	34	33,75	0,46
Oxigênio (mg/L)	4,8	4,8	4,8	3,16	2,48	3,16	3,78	3,03	3,75	0,94
MPS (mg/L)	2,1	2,1	2,1	50	155	155	155,43	60,2	72,74	71,73

Réplica F8										
Variáveis	Data da coleta								média	desvio padrão
	19/6 (T0h)	19/6 (T1h)	19/6 (T6h)	20/6	21/6	26/6	4/7	13/7		
Temperatura (°C)	25	26	25	25	25	23	25	22	24,50	1,31
pH	7,91	7,89	7,8	7,92	7,84	7,32	7,35	7,52	7,69	0,26
Salinidade (‰)	34	34	34	34	34	34	33	34	33,88	0,35
Oxigênio (mg/L)	4,85	4,85	4,85			3,33	4,34	2,9	4,19	0,86
MPS (mg/L)	16,53	16,53	16,53	70,9	180	230	248,29		111,25	105,00

Réplica F2										
Variáveis	Data da coleta								média	desvio padrão
	19/6 (T0h)	19/6 (T1h)	19/6 (T6h)	20/6	21/6	26/6	4/7	13/7		
Temperatura (°C)	25	26	25	25	25				25,20	0,45
pH	7,85	7,87	7,78	7,84	7,9				7,85	0,04
Salinidade (‰)	34	34	34	34	34				34,00	0,00
Oxigênio (mg/L)	4,79	4,79	4,79	4,01	3,23				4,32	0,70
MPS (mg/L)	22,9	22,9	22,9	NF	NF				NC	NC

ANEXO 4

Concentrações de ortofosfato, fósforo total, amônia, nitrito, clorofila *a* e feofitina medidos nos mesocosmos **CONTROLE** no período entre 19 de junho e 13 de julho 2002, durante o experimento de derrame simulado de petróleo, na Praia de Itaorna, Angra dos Reis, RJ .

ND = não detectável; Limites de detecção: Ortofosfato < 0,1 μ M, Amônia < 0,3 μ M, Nitrito < 0,1 μ M, Nitrato < 0,074 μ M

Réplica F1								
Parâmetros	19/jun	20/jun	21/jun	26/jun	4/jul	13/jul	média	desvio padrão
Ortofosfato (μ M)	0,45	0,48	0,35				0,43	0,07
Fósforo total (μ M)	0,88	0,68	0,83				0,80	0,10
Amônia (μ M)	0,98	0,14	0,03				0,38	0,52
Nitrito (μ M)	0,06	0,03	0,03				0,04	0,02
Clorofila <i>a</i> (μ g/L)	0,24	0	0,91					
Feofitina (μ g/L)	0,40	0	0,27					

Réplica F2								
Parâmetros	19/jun	20/jun	21/jun	26/jun	4/jul	13/jul	média	desvio padrão
Ortofosfato (μ M)	0,37	0,31	0,29	0,25	0,11	0,15	0,25	0,10
Fósforo total (μ M)	0,69	0,67	0,62	0,64	0,43	0,61	0,61	0,09
Amônia (μ M)	0,31	0,05	ND	0,1	0,06	0,35	0,17	0,14
Nitrito (μ M)	0,03	0,03	0,04	0,07	0,04	0,06	0,05	0,02
Clorofila <i>a</i> (μ g/L)	0,51	0	0,64	1,55	1,5	1,45	0,94	0,65
Feofitina (μ g/L)	0,33	0	0,16	0,44	0,24	0,29	0,24	0,15

Réplica F3								
Parâmetros	19/jun	20/jun	21/jun	26/jun	4/jul	13/jul	média	desvio padrão
Ortofosfato (μ M)	0,31	0,42	0,24	0,25	0,13	0,09	0,24	0,12
Fósforo total (μ M)	0,68	0,81	0,58	0,68	0,45	0,51	0,62	0,13
Amônia (μ M)	0,35	0,48	0,03	0,48	0,08	0,13	0,26	0,20
Nitrito (μ M)	0,04	0,17	0,05	0,16	0,05	0,06	0,09	0,06
Clorofila <i>a</i> (μ g/L)	0	0,05	0,88	1,58	0,75	0,57	0,64	0,59
Feofitina (μ g/L)	0	0,98	0,3	0,93	0,11	1,08	0,57	0,48

ANEXO 5

Densidade das espécies fitoplanctônicas (cel.L⁻¹) nos mesocosmos controle e naqueles tratados com petróleo e petróleo e dispersante entre 19 de junho e 13 de julho de 2002 na praia de Itaorna, Angra dos Reis, RJ

Grupo		DIATOMÁCEAS																DINOFLAGELADOS				
Réplica	Data	FITOFLAGELADOS	Penatas	Cêntricas	<i>S. costatum</i>	<i>C. laevis</i>	<i>C. criophyllum</i>	<i>D. brightwellii</i>	<i>E. cornuta</i>	<i>G. flaccida</i>	<i>H. cuneiformis</i>	<i>N. closterium</i>	<i>N. longissima</i>	<i>P. normani</i>	<i>P. delicatissima</i>	<i>T. nitzschioides</i>	<i>T. frauenfeldii</i>	<i>P. compressum</i>	<i>P. micans</i>	<i>P. divergens</i>		
CONTROLE	F1	19/jun	69828	17457	11638	23276		4820	1205	2410	0	0	18075	0	3615	29095	6025	0	2910	1455	1455	
		20/jun	116380	23276	40733	23276	2910	2910	0	5820	4365	0	17460	29100	0	5820	14550	2910	1455	2910	2910	
		21/jun	69828	29095	34914	11638	0	0	4365	0	4365	0	21825	14550	0	2910	0	2910	0	2910	1455	
	F2	19/jun	58190	11638	0	23276		2410	2410	7230	3615	1205	14460	12050	1205	5819	0	0	1455	0	0	
		20/jun	69828	29095	11638	11638	0	4365	1455	4365	2910	1455	14550	0	0	2910	0	0	0	0	1455	
		21/jun	122199	0	11638	23276	0	2910	0	0	2910	1455	0	29100	0	8730	2910	0	1455	0	4365	
		26/jun	58190	0	0	0	0	2910	0	0	0	0	16005	0	0	8730	7275	0	1455	0	1455	
		4/jul	46552	0	0	0	2910	0	1455	7275	4365	1455	0	21825	0	0	0	0	4365	0	1455	
		13/jul	81466	5819	0	69828	5820	1455	2910	1455	2910	0	14550	14550	2910	0	5820	0	2910	0	1455	
	F3	19/jun	11638	17457	5819	29095		4820	0	7230	4820	2410	12050	18075	2410	0	4820	0	0	2910	2910	
		20/jun	58190	58190	17457	46552	0	0	0	0	4365	0	7275	0	0	0	0	0	1455	0	1455	
		21/jun	58190	17457	0	11638	0	0	1455	8730	2910	0	0	0	0	0	5820	0	1455	2910	0	
		26/jun	11638	0	0	11638	0	0	0	8730	0	2910	14550	29100	0	0	2910	2910	0	1455	1455	
		4/jul	11638	11638	0	23276	0	4365	0	0	2910	1455	14550	0	0	4365	2910	0	0	1455	0	
		13/jul	23276	0	0	23276	0	1455	0	2910	0	1455	36375	0	0	2910	1455	0	1455	0	2910	0
	PETRÓLEO	F4	19/jun	29095	0	5819	0		0	0	0	0	0	7230	0	72737,5	4820	4820	5820	0	0	
			20/jun	0	5819	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
			21/jun	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
26/jun			87285	0	11638	23276	0	5820	0	0	0	0	0	0	0	5820	0	0	0	0	0	
4/jul			29095	0	5819	69828	0	0	0	0	0	0	0	29100	1455	5820	0	4365	0	0	0	
13/jul			0	0	5819	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
F5		19/jun	58190	0	0	11638		0	0	0	3615	0	6025	8435	0	0	0	0	0	0	0	
		20/jun	11638	0	0	0	0	0	0	0	0	0	7275	2910	0	0	0	0	0	0	0	
		21/jun	17457	0	0	0	0	0	0	0	0	0	7275	14550	0	0	0	0	0	0	0	
		26/jun	0	0	17457	0	0	0	0	0	0	4365	0	29100	0	0	0	0	0	0	0	
		4/jul	0	0	0	0	1455	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
		13/jul	58190	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
F6		19/jun	87285	0	0	11638		3615	0	0	2410	2410	4820	0	0	8728,5	3615	0	0	0	1455	
		20/jun	0	5819	0	0	1455	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
		21/jun	23276	0	0	11638	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
		26/jun	116380	0	0	0	0	0	0	0	0	0	17460	0	0	0	0	0	0	0	0	
		4/jul	58190	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
		13/jul																				

Continua

Continuação do anexo 5

Grupo		DIATOMÁCEAS																DINOFLAGELADOS			
Réplica	Data	FITOFLAGELADOS	Penatas	Cêntricas	<i>S. costatum</i>	<i>C. laevis</i>	<i>C. criophylum</i>	<i>D. brightwellii</i>	<i>E. cornuta</i>	<i>G. flaccida</i>	<i>H. cuneiformis</i>	<i>N. closterium</i>	<i>N. longissima</i>	<i>P. normani</i>	<i>P. delicatissima</i>	<i>T. nitzschioides</i>	<i>T. frauenfeldii</i>	<i>P. compressum</i>	<i>P. micans</i>	<i>P. divergens</i>	
PETRÓLEO + DISPERSANTE	F7	19/jun	58190	29095	23276	0	0	0	6025	0	0	0	3615	0	0	2410	0	2910	0	0	
		20/jun	0	0	5819	5819	0	0	0	0	0	1455	2910	0	0	0	0	0	0	0	
		21/jun	11638	0	0	0	0	0	0	0	0	0	2910	0	0	0	0	0	0	0	
		26/jun	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	2910	0	0	0	0	0	0	0	
		4/jul	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	2910	1455	0	0	0	0	0	0	
		13/jul	5819	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
		F8	19/jun	29095	0	17457	29095	0	6025	0	2410	1205	2410	0	0	0	0	2410	0	4365	1455
			20/jun																		
			21/jun																		
			26/jun	11638	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
			4/jul	116380	0	0	11638	0	0	0	0	0	1455	0	0	0	0	0	0	0	
			13/jul	58190	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
	F9	19/jun	40733	11638	5819	11638	0	7230	3615	0	0	18075	1205	1205	14547,5	2410	0	1455	0	0	

ANEXO 6

Densidade total do fitoplâncton (cel.L⁻¹) nos mesocosmos controle e nos tratados com petróleo e com a mistura petróleo e dispersante no período entre 19 de junho a 13 de julho de 2002.

Tratamento	Data	Densidade (cél.L ⁻¹)			Média (cél.L ⁻¹)	Desvio padrão
		F1	F2	F3		
Controle	19/6	194469	144963	126464	155299	35161
	20/6	298240	155664	197849	217251	73241
	21/6	202220	210948	110565	174578	55608
	26/6	-	96020	88751	92386	5140
	4/7	-	91657	82927	87292	6173
	13/7	-	213858	96022	154940	83323
Petróleo						
	Data	F4	F5	F6		
	19/6	130342	87903	125977	114740	23344
	20/6	5819	21823	7274	11639	8850
	21/6	-	39282	36369	37826	2060
	26/6	133839	50922	133840	106200	47872
	4/7	145482	1455	58190	68376	72552
	13/7	5819	58190	-	32005	37032
Petróleo + Dispersante						
	Data	F7	F8	F9		
	19/6	127931	95927	124391	116083	17545
	20/6	16003	-	-	-	-
	21/6	14548	-	-	-	-
	26/6	4365	11638	-	8002	5143
	4/7	4365	129473	-	66919	88465
	13/7	5819	59645	-	32732	38061

ANEXO 7

Densidade de células (cél.L⁻¹) das microalgas *Tetraselmis chuii* e *Skeletonema costatum* obtida nos testes de toxicidade conduzidos em laboratório com a fração solúvel (FSA) do **PETRÓLEO ARLE/URAL**, nas diluições de 25 e 50% e a 100%, a cada 24 horas de exposição.

Diluição da FSA	<i>T. chuii</i>				<i>S. costatum</i>			
	Horas				Horas			
	24	48	72	96	24	48	72	96
Controle	45650	90750	156000	261800	15400	55000	215050	363000
	41250	98450	203500	413050	15400	62150	160600	385550
	33550	86350	143000	357500	15125	60500	217250	440000
média	40150	91850	167500	344116,7	15308,33	59216,67	197633,3	396183,3
desvio	6124,54	6124,54	31847,29	76508,01	158,7713	3743,773	32090,67	39585,99
25 %	30800	57200	211750	352000	21450	45100	298750	660000
	31350	54175	239250	281050	18700	36850	241250	675000
	33550	49500	223850	329450	14300	42350	235000	608750
média	31900	53625	224950	320833,3	18150	41433,33	258333,3	647916,7
desvio	1455,16	3879,35	13782,96	36251,36	3606,591	4200,694	35141,08	34738,61
50 %	29150	74580	181500	*	31350	60500	250000	496250
	33000	52800	323400	303050	24750	53900	217500	407500
	25300	44000	193050	247500	17600	51700	197500	475000
média	29150	57126,67	232650	275275	24566,67	55366,67	221666,7	459583,3
desvio	3850,00	15742,43	78803,70	39279,78	6876,833	4579,665	26496,86	46340
100 %	27500	50050	217800	313500	19800	26950	97500	220000
	21450	44000	262166	297000	16500	31900	150000	247500
	16500	68200	144100	194150	16500	28050	116250	270000
média	21816,67	54083,33	208022	245575	17600	28966,67	121250	245833,3
desvio	5509,16	12594,08	59637,25	64671,99	1905,256	2599,199	26604,75	25041,63

* Amostra perdida

ANEXO 8

Densidade de células (cél.L⁻¹) das microalgas *Tetraselmis chuii* e *Skeletonema costatum* obtida nos testes de toxicidade conduzidos em laboratório com a fração dispersa do **PETRÓLEO ARLE/URAL** com o **DISPERSANTE** Corexit 9500® (FDA), nas diluições de 25 e 50% e a 100%, a cada 24 horas de exposição.

Diluição da FDA	<i>T. chuii</i>				<i>S. costatum</i>			
	Horas				Horas			
	24	48	72	96	24	48	72	96
Controle	45650	90750	156000	261800	15400	55000	215050	363000
	41250	98450	203500	413050	15400	62150	160600	385550
	33550	86350	143000	357500	15125	60500	217250	440000
média	40.150	91.850	167.500	344.116,7	15.308,3	59.216,7	197.633,3	396.183,3
desvio	6.124,5	6.124,5	31.847,3	76.508,0	158,8	3.743,8	32.090,7	39.586,0
25 %	27500	61050	133100	215050	5500	3300	2200	0
	26950	53900	140800	188750	6600	2200	2200	1100
	22000	56100	91850	168850	7700	2200	3300	1100
média	25.483,3	57.016,7	121.916,7	190.883,3	6.600	2.566,7	2.566,7	733,3
desvio	3.029,2	3.662,1	26.321,6	23.173,8	1.100	635,1	635,1	635,1
50 %	34100	41800	37950	53900	3300	0	0	0
	27225	44550	37950	38500	2200	550	0	0
	28050	44000	37950	47300	3850	0	0	0
média	29.791,7	43.450	37.950	46.566,7	3.116,7	183,3	0	0
desvio	3.753,9	1.455,2	0	7.726,2	840,2	317,5	0	0
100 %	27500	19250	27500	15950	1100	0	0	0
	22000	13750	28050	18700	2200	0	0	0
	24200	20900	29150	17600	2200	0	0	0
média	24.566,7	17.966,7	28.233,3	17.416,7	1.833,3	0	0	0
desvio	2.768,3	3.743,8	840,2	1.384,1	635,1	0	0	0

ANEXO 9

Abundância relativa (%) dos grupos zooplancctônicos presentes nas amostras coletadas nos mesocosmos **CONTROLE** no período entre 19 de junho e 13 de julho de 2002.

Réplica	Grupos	19/jun	20/jun	21/jun	26/jun	4/jul	13/jul
F 1	L. polychaeta	1,07	1,41	1,15			
	Cladocera	2,64	3,30	2,17			
	Chaetognatha	0	0	0			
	L. gastropoda	0,08	0,27	0,13			
	L. bivalvia	0,08	0,67	0,25			
	Hydromedusae	0,16	0,54	0,64			
	L. decapoda	0,04	0,74	0,13			
	Appendicularia	10,55	0,07	0			
	Copepoda	85,33	92,93	95,29			
	Siphonophorae	0	0	0,25			
	Salpa	0	0,07	0			
	L. cirripedia	0	0	0			
	Ctenophorae	0	0	0			
	Sergestideo	0	0	0			
não identificado	0,04	0	0				
F 2	L. polychaeta	0,04	0,10	0,16	0	1,52	0
	Cladocera	6,81	9,08	10,22	26,67	21,57	0
	Chaetognatha	0,27	0,10	0,08	0,62	3,05	9,09
	L. gastropoda	0,27	1,53	0,91	1,64	0,76	0
	L. bivalvia	1,08	1,43	2,14	1,64	1,27	0
	Hydromedusae	0,18	0,54	0,49	5,44	2,28	0
	L. decapoda	0,04	0,05	0	0	3,05	0
	Appendicularia	13,40	21,13	15,17	0,10	0	0
	Copepoda	77,28	65,75	70,24	58,67	65,23	90,91
	Siphonophorae	0,22	0	0	0	0	0
	Salpa	0,36	0,20	0,25	5,13	0	0
	L. cirripedia	0	0,10	0,33	0	1,27	0
	Ctenophorae	0	0	0	0,10	0	0
	Sergestideo	0	0	0	0	0	0
não identificado	0,04	0	0	0	0	0	
F 3	L. polychaeta	0,21	0	0,18	0	0	0,53
	Cladocera	15,35	2,87	15,66	22,24	32,00	1,06
	Chaetognatha	0,57	1,44	0,18	2,05	3,71	2,66
	L. gastropoda	0,21	0,29	0,09	0,26	0	0,53
	L. bivalvia	0,14	1,87	0,36	0,34	0	1,60
	Hydromedusae	0,07	0,43	0,55	2,91	0,29	0,53
	L. decapoda	0,07	1,44	0,09	0,26	0,29	2,66
	Appendicularia	5,19	29,89	45,54	7,53	0	2,13
	Copepoda	78,18	61,78	0	64,33	63,71	88,30
	Siphonophorae	0	0	0	0	0	0
	Salpa	0	0	0,09	0	0	0
	L. cirripedia	0	0	0	0	0	0
	Ctenophorae	0	0	0,09	0	0	0
	Sergestideo	0	0	0	0,09	0	0
não identificado	0	0	0	0	0	0	

Continua

Continuação do anexo 9

Abundância relativa (%) dos grupos zooplancônicos presentes nas amostras coletadas nos mesocosmos com **PETROLEO** no período entre 19 de junho e 13 de julho de 2002.

Réplica	Grupos	19/jun	20/jun	21/jun	26/jun	4/jul	13/jul
F 4	L. polychaeta	0,61	0,15	0,30	0	0	0
	Cladocera	16,23	9,61	0,52	0	0	0
	Chaetognatha	0,34	0,15	0	0	0	0
	L. gastropoda	0,14	0,07	0,07	0	0	0
	L. bivalvia	0	0,07	0,30	0	0	0
	Hydromedusae	0,07	0,22	0,52	1,19	0	0
	L. decapoda	0,20	0,07	0	0	0	0
	Appendicularia	2,77	50,34	14,90	0	0	0
	Copepoda	79,24	39,09	83,40	98,81	100	100
	Siphonophorae	0	0	0	0	0	0
	Salpa	0,20	0,07	0	0	0	0
	L. cirripedia	0	0,07	0	0	0	0
	Ctenophorae	0,20	0	0	0	0	0
	Sergestideo	0	0	0	0	0	0
	não identificado	0	0	0	0	0	0
F 5	L. polychaeta	0,62	0,52	0,65	2,78	0	0
	Cladocera	6,73	1,43	0	0	0	0
	Chaetognatha	0,45	0,13	0	0	0	0
	L. gastropoda	0,62	0,52	0,36	0	0	0
	L. bivalvia	0	1,82	0,65	3,70	0	0
	Hydromedusae	0,17	1,17	0,73	6,48	0	0
	L. decapoda	0	0	0	0	0	0
	Appendicularia	24,47	13,51	0,58	0	0	0
	Copepoda	66,78	79,87	96,88	83,33	98,68	100
	Siphonophorae	0	0,13	0,07	0	0	0
	Salpa	0	0,13	0,07	0	0	0
	L. cirripedia	0	0,65	0	3,70	0	0
	Ctenophorae	0	0	0	0	0	0
	Sergestideo	0	0,13	0	0	0	0
	Heteropoda	0,17	0	0	0	0	0
Não identificado	0	0	0	0	1,32	0	
F 6	L. polychaeta	0,77	0,75	0,83	1,04	0	
	Cladocera	6,42	1,44	0,06	0	0	
	Chaetognatha	0,28	0,06	0	0	0	
	L. gastropoda	0,22	0	0	1,04	0	
	L. bivalvia	0,11	0,13	0,44	2,08	0	
	Hydromedusae	0,17	0,44	0,51	0	0	
	L. decapoda	0,22	0,06	0,06	0	0	
	Appendicularia	39,40	2,95	0	0	0	
	Copepoda	52,91	94,10	98,10	95,83	100	
	Siphonophorae	0	0,06	0	0	0	
	Salpa	0,06	0	0	0	0	
	L. cirripedia	0,06	0	0	0	0	
	Ctenophorae	0	0	0	0	0	
	Sergestideo	0	0	0	0	0	
	Heteropoda	0,17	0	0	0	0	
não identificado	0	0	0	0	0		

Continua

Continuação do anexo 9

Abundância relativa (%) dos grupos zooplancônicos presentes nas amostras coletadas nos mesocosmos com **PETRÓLEO E DISPERSANTE** no período entre 19 de junho e 13 de julho de 2002.

Réplica	Grupos	19/jun	20/jun	21/jun	26/jun	4/jul	13/jul
F 7	L. polychaeta	0,86	2,50	5,88	0	0	0
	Cladocera	18,10	0,00	0	0	0	0
	Chaetognatha	0,62	0	0	0	0	0
	L. gastropoda	0,78	0	0	0	0	0
	L. bivalvia	1,33	0	0	0	0	0
	Hydromedusae	0,08	0	0	0	0	0
	L. decapoda	0,08	0	0	0	0	0
	Appendicularia	28,39	1,67	1,47	0	0	0
	Copepoda	49,61	95,83	92,65	100	95,60	97,78
	Siphonophorae	0,08	0	0	0	0	0
	Salpa	0	0	0	0	0	0
	L. cirripedia	0,08	0	0	0	2,20	2,22
	Ctenophorae	0	0	0	0	0	0
	Sergestideo	0	0	0	0	0	0
não identificado	0	0	0	0	2,20	0	
F 8	L. polychaeta	0,51	0	0			0
	Cladocera	14,83	0	0			0
	Chaetognatha	0,45	0	0			0
	L. gastropoda	0,13	0	0			0
	L. bivalvia	0,96	0	0			0
	Hydromedusae	0,32	0	0			0
	L. decapoda	0	0	0			0
	Appendicularia	11,25	0	0			0
	Copepoda	70,97	100	0			100
	Siphonophorae	0	0	0			0
	Salpa	0,06	0	0			0
	L. cirripedia	0,19	0	0			0
	Ctenophorae	0,06	0	0			0
	Sergestideo	0	0	0			0
não identificado	0,26	0	0			0	

ANEXO 10

Abundância relativa dos copépodes coletados nas diferentes réplicas dos mesocosmos controle e naqueles tratados com petróleo e com a mistura petróleo e dispersante, durante um experimento simulado de petróleo na praia de Itaorna, Angra dos Reis, em 19 de junho de 2002

ESPÉCIES/ESTAÇÕES	Réplicas															
	F1	%	F2	%	F3	%	F4	%	F5	%	F6	%	F7	%	F8	%
Ordem Calanoida	108	26,02	115	28,12	11	3,901	7	2,3	31	26,496	16	6,107	7	4,4025	106	42,23
Família Calanidae	0		0		0		0		0		0		0		1	0,40
Temora stylifera	0		0		3	1,064	4	1,32	1	0,8547	2	0,763	2	1,2579	2	0,80
Temora sp.	7	1,687	14	3,423	13	4,61	14	4,61	8	6,8376	8	3,053	5	3,1447	18	7,17
Acartia liljeborgi	0		1	0,244	0		4	1,32	0		3	1,145	4	2,5157	0	
Família Paracalanidae	0		0		0		0		0		0		0		0	
Paracalanus crassirostris	0		0		0		0		1	0,8547	1	0,382	1	0,6289	0	
Paracalanus quasimodo	9	2,169	9	2,2	3	1,064	4	1,32	1	0,8547	9	3,435	7	4,4025	12	4,78
Acrocalanus longicornis	0		0		0		0		0		0		0		0	
Clausocalanus furcatus	3	0,723	0		0		13	4,28	4	3,4188	0		2	1,2579	7	2,79
Pseudodiaptomus acutus	165	39,76	225	55,01	241	85,46	209	68,8	29	24,786	188	71,76	116	72,956	73	29,08
Família Eucalanidae	0		0		0		0		0		0		0		0	
Subeucalanus pileatus	0		0		0		0		0		0		0		0	
Família Pontellidae	0		0		0		0		0		0		0		0	
Calanopia americana	0		0		0		0		0		0		1	0,6289	0	
Danificados	0		0		3	1,064	0		0		0		0		0	
Ordem Cyclopoida	0		0		0		0		0		0		0		0	
Família Oithonidae	0		0		0		0		0		0		0		0	
Oithona plumifera	0		0		0		0		0		0		0		0	
Oithona hebes	120	28,92	44	10,76	8	2,837	46	15,1	39	33,333	34	12,98	14	8,805	27	10,76
Oithona oculata	0		0		0		0		0		0		0		0	
Oithona nana	0		0		0		0		0		0		0		0	
Oithona sp.	0		0		0		0		0		0		0		0	
Nauplio de Cyclopoida	2	0,482	0		0		2	0,66	0		1	0,382	0		0	
Ordem Poecilostomatoida	0		0		0		0		0		0		0		0	
Família Oncaeidae	0		0		0		0		0		0		0		0	
Oncaea venusta	0		0		0		1	0,33	1	0,8547	0		0		2	0,80
Oncaea curta	0		0		0		0		0		0		0		0	
Família Corycaidae	0		0		0		0		0		0		0		0	
Corycaeus giesbrechti	0		1	0,244	0		0		2	1,7094	0		0		1	0,40
Ordem Harpacticoida	0		0		0		0		0		0		0		0	
Família Miracidae	0		0		0		0		0		0		0		0	
Macrosetella gracilis	0		0		0		0		0		0		0		0	
Família Euterpinidae	0		0		0		0		0		0		0		0	
Euterpina acutifrons	1	0,241	0		0		0		0		0		0		0	
Família Clytemnestridae	0		0		0		0		0		0		0		0	
Clytemnestra scutellata	0		0		0		0		0		0		0		2	0,80
Harpacticoida bentônico	0		0		0		0		0		0		0		0	
Copepoda Parasita	0		0		0		0		0		0		0		0	
TOTAL	415		409		282		304		117		262		159		251	

Continua

Continuação do anexo 10

Abundância relativa dos copépodes coletados nas diferentes réplicas dos mesocosmos controle e naqueles tratados com petróleo e com a mistura petróleo e dispersante, durante um experimento simulado de petróleo na praia na praia de Itaorna, Angra dos Reis, em **20 de junho** de 2002.

ESPÉCIES/ESTAÇÕES	Réplicas															
	F1	%	F2	%	F3	%	F4	%	F5	%	F6	%	F7	%	F8	%
Ordem Calanoida	20	14,71	16	4,692	17	7,359	20	10,4	26	20,8	56	18,79	38	35,185		
Família Calanidae	0		0		0		0		0		0		0			
Temora stylifera	2	1,471	2	0,587	1	0,433	0		1	0,8	3	1,007	0			
Temora sp.	2	1,471	19	5,572	19	8,225	7	3,65	6	4,8	12	4,027	3	2,7778		
Acartia liljeborgi	1	0,735	3	0,88	0		1	0,52	1	0,8	6	2,013	1	0,9259		
Família Paracalanidae	0		0		0		0		0		0		0			
Paracalanus crassirostris	0		1	0,293	0		0		0		0		0			
Paracalanus quasimodo	5	3,676	5	1,466	3	1,299	2	1,04	3	2,4	2	0,671	0			
Acrocalanus longicornis	0		0		0		0		0		0		0			
Clausocalanus furcatus	0		6	1,76	0		0		0		0		0			
Pseudodiaptomus acutus	81	59,56	273	80,06	168	72,73	47	24,5	42	33,6	82	27,52	10	9,2593		
Família Eucalanidae	0		0		0		1	0,52	0		0		0			
Subeucalanus pileatus	0		0		0		0		0		0		0			
Família Pontellidae	1	0,735	1	0,293	0		0		0		0		0			
Calanopia americana	0		2	0,587	0		0		0		0		0			
Danificados	0		0		2	0,866	0		0		0		0			
Ordem Cyclopoida	0		0		0		0		0		0		0			
Família Oithonidae	0		0		0		0		0		0		0			
Oithona plumifera	0		0		0		0		0		0		0			
Oithona hebes	23	16,91	12	3,519	18	7,792	109	56,8	45	36	126	42,28	55	50,926		
Oithona oculata	0		0		0		2		0		5		0			
Oithona nana	0		0		0		0		0		0		0			
Oithona sp.	0		0		0		2		0		0		0			
Nauplio de Cyclopoida	0		0		1	0,433	1	0,52	0		2	0,671	1	0,9259		
Ordem Poecilostomatoida	0		0		0		0		0		0		0			
Família Oncaeidae	0		0		0		0		0		0		0			
Oncaea venusta	0		0		0		0		0		0		0			
Oncaea curta	0		0		1		0		0		0		0			
Família Corycaidae	0		0		0		0		0		0		0			
Corycaeus giesbrechti	0		1	0,293	1	0,433	0		1	0,8	2	0,671	0			
Ordem Harpacticoida	0		0		0		0		0		0		0			
Família Miracidae	0		0		0		0		0		0		0			
Macrosetella gracilis	0		0		0		0		0		0		0			
Família Euterpinae	0		0		0		0		0		0		0			
Euterpina acutifrons	1	0,735	0		0		0		0		1	0,336	0			
Família Clytemnestridae	0		0		0		0		0		0		0			
Clytemnestra scutellata	0		0		0		0		0		0		0			
Harpacticoida bentônico	0		0		0		0		0		1	0,336	0			
Copepoda Parasita	0		0		0		0		0		0		0			
TOTAL	136		341		231		192		125		298		108			

Continua

Continuação do anexo 10

Abundância relativa dos copépodes coletados nas diferentes réplicas dos mesocosmos controle e naqueles tratados com petróleo e com a mistura petróleo e dispersante, durante um experimento simulado de petróleo na praia de Itaorna, Angra dos Reis, em **21 de junho** de 2002.

ESPÉCIES/ESTAÇÕES	Réplicas															
	F1	%	F2	%	F3	%	F4	%	F5	%	F6	%	F7	%	F8	%
Ordem Calanoida	1	0,5236	2	0,935	4	3,704	20	8,66	36	12,9	72	21,3	10	16,13		
Família Calanidae	0		0		0		0		0		0		0			
Temora stylifera	2	1,0471	2	0,935	0		0		3	1,07	1	0,296	0			
Temora sp.	10	5,2356	30	14,02	13	12,04	9	3,9	9	3,21	18	5,325	5	8,065		
Acartia liljeborgi	0		2	0,935	0		4	1,73	0		1	0,296	0			
Família Paracalanidae	0		0		0		0		0		0		0			
Paracalanus crassirostris	0		0		0		0		1	0,36	0		0			
Paracalanus quasimodo	0		3	1,402	1	0,926	0		3	1,07	2	0,592	0			
Acrocalanus longicornis	0		0		0		0		0		0		0			
Clausocalanus furcatus	0		2		0		0		0		0		0			
Pseudodiaptomus acutus	163	85,34	152	71,03	75	69,44	43	18,6	93	33,2	67	19,82	22	35,48		
Família Eucalanidae	0		0		0		0		0		0		0			
Subeucalanus pileatus	1	0,5236	0		0		0		0		0		0			
Família Pontellidae	0		0		0		0		0		0		0			
Calanopia americana	0		0		0		0		0		0		0			
Danificados	1	0,5236	1	0,467	0		0		0		0		0			
Ordem Cyclopoida	0		0		0		0		0		0		0			
Família Oithonidae	0		0		0		0		0		0		0			
Oithona plumifera	0		0		0		0		0		0		0			
Oithona hebes	10	5,2356	18	8,411	14	12,96	153	66,2	128	45,7	173	51,18	24	38,71		
Oithona oculata	0		1	0,467	1	0,926	1	0,43	3	1,07	4	1,183	0			
Oithona nana	0		0		0		0		0		0		0			
Oithona sp.	0		0		0		0		1	0,36	0		0			
Nauplio de Cyclopoida	1	0,5236	0		0		0		0		0		0			
Ordem Poecilostomatoida	0		0		0		0		0		0		0			
Família Oncaidae	0		0		0		0		0		0		0			
Oncaea venusta	0		0		0		0		0		0		0			
Oncaea curta	1	0,5236	0		0		0		0		0		1	1,613		
Família Corycaidae	0		0		0		0		0		0		0			
Corycaeus giesbrechti	0		1	0,467	0		0		3	1,07	0		0			
Ordem Harpacticoida	0		0		0		0		0		0		0			
Família Miracidae	0		0		0		0		0		0		0			
Macrosetella gracilis	0		0		0		0		0		0		0			
Família Euterpinidae	0		0		0		0		0		0		0			
Euterpina acutifrons	0		0		0		0		0		0		0			
Família Clytemnestridae	0		0		0		0		0		0		0			
Clytemnestra scutellata	0		0		0		0		0		0		0			
Harpacticoida bentônico	0		0		0		1	0,43	0		0		0			
Copepoda Parasita	1	0,5236	0		0		0		0		0		0			
TOTAL	191		214		108		231		280		338		62			

Continua

Continuação do anexo 10

Abundância relativa dos copépodes coletados nas diferentes réplicas dos mesocosmos controle e naqueles tratados com petróleo e com a mistura petróleo e dispersante, durante um experimento simulado de petróleo na praia na praia de Itaorna, Angra dos Reis, em **26 de junho** de 2002.

ESPÉCIES/ESTAÇÕES	Réplicas															
	F1	%	F2	%	F3	%	F4	%	F5	%	F6	%	F7	%	F8	%
Ordem Calanoida			5	3,546	13	7,143	7	7,78	3	3,37	5	4,95	5	19,23		
Família Calanidae			0		0		0		0		0		0			
Temora stylifera			1	0,709	0		0		0		7	6,931	0			
Temora sp.			49	34,75	45	24,73	18	20	15	16,9	0		2	7,692		
Acartia lilljeborgi			2	1,418	0		2	2,22	2	2,25	2	1,98	0			
Família Paracalanidae			0		0		0		0		0		0			
Paracalanus crassirostris			0		1	0,549	0		0		0		0			
Paracalanus quasimodo			3	2,128	3	1,648	0		1	1,12	0		0			
Acrocalanus longicornis			0		0		0		0		0		0			
Clausocalanus furcatus			0		0		0		0		0		0			
Pseudodiaptomus acutus			64	45,39	117	64,29	8	8,89	5	5,62	19	18,81	6	23,08		
Família Eucalanidae			0		0		0		0		0		0			
Subeucalanus pileatus			0		0		0		0		0		0			
Família Pontellidae			0		0		0		0		0		0			
Calanopia americana			1	0,709	1	0,549	0		1	1,12	0		0			
Danificados			0		0		1	1,11	0		0		0			
Ordem Cyclopoida			0		0		0		0		0		0			
Família Oithonidae			0		0		0		0		0		0			
Oithona plumifera			0		0		0		0		0		0			
Oithona hebes			0		2	1,099	53	58,9	55	61,8	59	58,42	11	42,31		
Oithona oculata			1	0,709	0		0		3	3,37	0		0			
Oithona nana			0		0		0		0		0		0			
Oithona sp.			0		0		0		1	1,12	3	2,97	0			
Nauplio de Cyclopoida			0		0		0		2	2,25	3	2,97	0			
Ordem Poecilostomatoida			0		0		0		0		0		0			
Família Oncaeidae			0		0		0		0		0		0			
Oncaea venusta			0		0		0		0		2	1,98	0			
Oncaea curta			0		0		0		0		0		0			
Família Corycaeidae			0		0		0		0		0		0			
Corycaeus giesbrechti			14	9,929	0		0		1	1,12	0		2	7,692		
Ordem Harpacticoida			0		0		0		0		0		0			
Família Miracidae			0		0		0		0		0		0			
Macrosetella gracilis			0		0		0		0		0		0			
Família Euterpinidae			0		0		0		0		0		0			
Euterpina acutifrons			1	0,709	0		0		0		0		0			
Família Clytemnestridae			0		0		0		0		0		0			
Clytemnestra scutellata			0		0		0		0		0		0			
Harpacticoida bentônico			0		0		1	1,11	0		1	0,99	0			
Copepoda Parasita			0		0		0		0		0		0			
TOTAL	0		141		182		90		89		101		26			

Continua

Continuação do anexo 10

Abundância relativa dos copépodes coletados nas diferentes réplicas dos mesocosmos controle e naqueles tratados com petróleo e com a mistura petróleo e dispersante, durante um experimento simulado de petróleo na praia na praia de Itaorna, Angra dos Reis, em **04 de julho** de 2002.

ESPÉCIES/ESTAÇÕES	Réplicas															
	F1	%	F2	%	F3	%	F4	%	F5	%	F6	%	F7	%	F8	%
Ordem Calanoida			4	2,3669	0		29	26,364	6	15	2	28,571	4	57,143	2	50
Família Calanidae			0		0		0		0		0		0		0	
Temora stylifera			0		0		0		0		0		0		0	
Temora sp.			0		93	40,086	4	3,6364	0		0		0		0	
Acartia liljeborgi			0		0		0		0		0		0		0	
Família Paracalanidae			0		0		0		0		0		0		0	
Paracalanus crassirostris			0		1	0,431	5	4,5455	2	5	0		0		0	
Paracalanus quasimodo			0		0		0		0		0		0		0	
Acrocalanus longicornis			0		0		0		0		0		0		0	
Clausocalanus furcatus			0		0		0		0		0		0		0	
Pseudodiaptomus acutus			14	8,284	76	32,759	37	33,636	14	35	2	28,571	0		1	25
Família Eucalanidae			0		0		0		0		0		0		0	
Subeucalanus pileatus			0		0		0		0		0		0		0	
Família Pontellidae			0		0		0		0		0		0		0	
Calanopia americana			0		0		0		0		0		0		0	
Danificados			0		0		0		0		0		0		0	
Ordem Cyclopoida			0		0		0		0		0		0		0	
Família Oithonidae			0		0		0		0		0		0		0	
Oithona plumifera			0		0		0		0		0		0		0	
Oithona hebes			55	32,544	53	22,845	18	16,364	12	30	3	42,857	2	28,571	0	
Oithona oculata			0		0		1	0,9091	5	12,5	0		0		0	
Oithona nana			0		0		0		0		0		0		0	
Oithona sp.			82	48,521	6	2,5862	2	1,8182	0		0		0		0	
Nauplio de Cyclopoida			6	3,5503	0		13	11,818	1	2,5	0		0		0	
Ordem Poecilostomatoida			0		0		0		0		0		0		0	
Família Oncaeidae			0		0		0		0		0		0		0	
Oncaea venusta			0		0		0		0		0		0		0	
Oncaea curta			0		0		0		0		0		0		0	
Família Corycaeidae			0		0		0		0		0		0		0	
Corycaeus giesbrechti			0		0		0		0		0		1	14,286	0	
Ordem Harpacticoida			0		0		0		0		0		0		0	
Família Miracidae			0		0		0		0		0		0		0	
Macrosetella gracilis			0		0		0		0		0		0		0	
Família Euterpinidae			0		0		0		0		0		0		0	
Euterpina acutifrons			0		0		0		0		0		0		0	
Família Clytemnestridae			0		0		0		0		0		0		0	
Clytemnestra scutellata			0		0		0		0		0		0		0	
Harpacticoida bentônico			8	4,7337	3	1,2931	1	0,9091	0		0		0		1	25
			0		0		0		0		0		0		0	
Copepoda Parasita			0		0		0		0		0		0		0	
TOTAL			169		232		110		40		7		7		4	

Continua

Continuação do anexo 10

Abundância relativa dos copépodes coletados nas diferentes réplicas dos mesocosmos controle e naqueles tratados com petróleo e com a mistura petróleo e dispersante, durante um experimento simulado de petróleo na praia de Itaorna, Angra dos Reis, em **13 de julho** de 2002.

ESPÉCIES/ESTAÇÕES	Réplicas															
	F1	%	F2	%	F3	%	F4	%	F5	%	F6	%	F7	%	F8	%
Ordem Calanoida			0		1	0,5848	84	22,826	32	42,667			10	22,222	1	11,111
Família Calanidae			0		0		0		0				0		0	
Temora stylifera			0		0		0		0				1	2,2222	1	11,111
Temora sp.			0		73	42,69	1	0,2717	0				4	8,8889	0	
Acartia lilljeborgi			0		0		4	1,087	1	1,3333			0		0	
Família Paracalanidae			0		0		0		3	4			0		0	
Paracalanus crassirostris			0		2	1,1696	22	5,9783	1	1,3333			0		0	
Paracalanus quasimodo			0		2	1,1696	88	23,913	15	20			2	4,4444	1	11,111
Acrocalanus longicornis			0		1	0,5848	0		0				0		0	
Clausocalanus furcatus			0		2	1,1696	0		0				0		0	
Pseudodiaptomus acutus			3	37,5	45	26,316	9	2,4457	2	2,6667			18	40	0	
Família Eucalanidae			0		0		0		0				0		0	
Subeucalanus pileatus			0		0		0		0				0		0	
Família Pontellidae			0		0		0		0				0		0	
Calanopia americana			0		0		0		0				0		0	
Danificados			0		0		0		0				1	2,2222	3	33,333
Ordem Cyclopoida			0		0		0		0				0		0	
Família Oithonidae			0		0		0		0				0		0	
Oithona plumifera			0		0		0		0				1	2,2222	0	
Oithona hebes			2	25	3	1,7544	144	39,13	15	20			5	11,111	3	33,333
Oithona oculata			0		0		0		0				0		0	
Oithona nana			0		0		0		0				0		0	
Oithona sp.			0		0		13	3,5326	4	5,3333			3	6,6667	0	
Nauplio de Cyclopoida			0		0		0		0				0		0	
Ordem Poecilostomatoida			0		0		0		0				0		0	
Família Oncaeaidae			0		0		0		0				0		0	
Oncaea venusta			0		1	0,5848	0		0				0		0	
Oncaea curta			0		0		0		0				0		0	
Família Corycaeidae			0		0		0		0				0		0	
Corycaeus giesbrechti			2	25	3	1,7544	0		0				0		0	
Ordem Harpacticoida			0		0		0		0				0		0	
Família Miracidae			0		0		0		0				0		0	
Macrosetella gracilis			0		0		0		0				0		0	
Família Euterpinidae			0		0		0		0				0		0	
Euterpina acutifrons			0		0		0		0				0		0	
Família Clytemnestridae			0		0		0		0				0		0	
Clytemnestra scutellata			0		0		0		0				0		0	
Harpacticoida bentônico			1	12,5	38	22,222	3	0,8152	2	2,6667			0		0	
			0		0		0		0				0		0	
Copepoda Parasita			0		0		0		0				0		0	
TOTAL			8		171		368		75				45		9	

Continua

ANEXO 11

Abundância relativa (%) das principais espécies de copépodes nos mesocosmos

CONTROLE

Espécie	Data	19/6	20/6	21/6	26/6	4/7	13/7
<i>Temora stylifera</i>	F1	0,00	1,47	1,05	0,00	0,00	0,00
	F2	0,00	0,59	0,93	0,71	0,00	0,00
	F3	1,06	0,43	0,00	0,00	0,00	0,00
	média	0,35	0,83	0,66	0,24	0,00	0,00
	desvio padrão	0,61	0,56	0,57	0,41	0,00	0,00
<i>Acartia liljeborgi</i>	F1	0,00	0,74	0,00	0,00	0,00	0,00
	F2	0,24	0,88	0,93	1,42	0,00	0,00
	F3	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
	média	0,08	0,54	0,31	0,47	0,00	0,00
	desvio padrão	0,14	0,47	0,54	0,82	0,00	0,00
<i>Paracalanus crassirostris</i>	F1	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
	F2	0,00	0,29	0,00	0,00	0,00	0,00
	F3	0,00	0,00	0,00	0,55	0,43	1,17
	média	0,00	0,10	0,00	0,18	0,14	0,39
	desvio padrão	0,00	0,17	0,00	0,32	0,25	0,68
<i>Paracalanus quasimodo</i>	F1	2,17	3,68	0,00	0,00	0,00	0,00
	F2	2,20	1,47	1,40	2,13	0,00	0,00
	F3	1,06	1,30	0,93	1,65	0,00	1,17
	média	1,81	2,15	0,78	1,26	0,00	0,39
	desvio padrão	0,65	1,33	0,71	1,12	0,00	0,68
<i>Pseudodiaptomus acutus</i>	F1	39,76	59,56	85,34	0,00	0,00	0,00
	F2	55,01	80,06	71,03	45,39	8,28	37,50
	F3	85,46	72,73	69,44	64,29	32,76	26,32
	média	60,08	70,78	75,27	36,56	13,68	21,27
	desvio padrão	23,27	10,39	8,76	33,04	17,03	19,25
<i>Oithona hebes</i>	F1	28,92	16,91	5,24	0,00	0,00	0,00
	F2	10,76	3,52	8,41	0,00	32,54	25,00
	F3	2,84	7,79	12,96	1,10	22,84	1,75
	média	14,17	9,41	8,87	0,37	18,46	8,92
	desvio padrão	13,37	6,84	3,88	0,63	16,71	13,95
<i>Corycaeus giesbrechti</i>	F1	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
	F2	0,24	0,29	0,47	9,93	0,00	25,00
	F3	0,00	0,43	0,00	0,00	0,00	1,75
	média	0,08	0,24	0,16	3,31	0,00	8,92
	desvio padrão	0,14	0,22	0,27	5,73	0,00	13,95

Continua

Continuação do anexo 11

Abundância relativa (%) das principais espécies de copépodes nos mesocosmos tratados
com **PETRÓLEO**

Espécie	Data	19/6	20/6	21/6	26/6	4/7	13/7
<i>Temora stylifera</i>	F4	1,32	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
	F5	0,85	0,80	1,07	0,00	0,00	0,00
	F6	0,76	1,01	0,30	6,93	0,00	0,00
	média	0,98	0,60	0,46	2,31	0,00	0,00
	desvio padrão	0,30	0,53	0,55	4,00	0,00	0,00
<i>Acartia liljeborgi</i>	F4	1,32	0,52	1,73	2,22	0,00	1,09
	F5	0,00	0,80		2,25	0,00	1,33
	F6	1,15	2,01	0,30	1,98	0,00	0,00
	média	0,82	1,11	1,01	2,15	0,00	0,81
	desvio padrão	0,72	0,79	1,02	0,15	0,00	0,71
<i>Paracalanus crassirostris</i>	F4	0,00	0,00	0,00	0,00	4,55	5,98
	F5	0,85	0,00	0,36	0,00	5,00	1,33
	F6	0,38	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
	média	0,41	0,00	0,12	0,00	3,18	2,44
	desvio padrão	0,43	0,00	0,21	0,00	2,76	3,14
<i>Paracalanus quasimodo</i>	F4	1,32	1,04	0,00	0,00	0,00	23,91
	F5	0,85	2,40	1,07	1,12	0,00	20,00
	F6	3,44	0,67	0,59	0,00	0,00	0,00
	média	1,87	1,37	0,55	0,37	0,00	14,64
	desvio padrão	1,38	0,91	0,54	0,65	0,00	12,83
<i>Pseudodiaptomus acutus</i>	F4	68,75	24,48	18,61	8,89	33,64	2,45
	F5	24,79	33,60	33,21	5,62	35,00	2,67
	F6	71,76	27,52	19,82	18,81	28,57	0,00
	média	55,10	28,53	23,88	11,11	32,40	1,70
	desvio padrão	26,29	4,64	8,10	6,87	3,39	1,48
<i>Oithona hebes</i>	F4	15,13	56,77	66,23	58,89	16,36	39,13
	F5	33,33	36,00	45,71	61,80	30,00	20,00
	F6	12,98	42,28	51,18	58,42	42,86	0,00
	média	20,48	45,02	54,38	59,70	29,74	19,71
	desvio padrão	11,18	10,65	10,63	1,83	13,25	19,57
<i>Corycaeus giesbrechti</i>	F4	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
	F5	1,71	0,80	1,07	1,12	0,00	0,00
	F6	0,00	0,67	0,00	0,00	0,00	0,00
	média	0,57	0,49	0,36	0,37	0,00	0,00
	desvio padrão	0,99	0,43	0,62	0,65	0,00	0,00

Continua

Continuação do anexo 11

Abundância relativa (%) das principais espécies de copépodes nos mesocosmos tratados com **PETRÓLEO E DISPERSANTE**

Espécie	Réplica	19/6	20/6	21/6	26/6	4/7	13/7
<i>Temora stylifera</i>	F7	1,26	0,00	0,00	0,00	0,00	2,22
	F8	0,80	0,00	0,00	0,00	0,00	11,11
	média	1,03	0,00	0,00	0,00	0,00	6,67
	desvio padrão	0,33	0,00	0,00	0,00	0,00	6,29
<i>Acartia lilljeborgi</i>	F7	2,52	0,93	0,00	0,00	0,00	0,00
	F8	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
	média	1,26	0,46	0,00	0,00	0,00	0,00
	desvio padrão	1,78	0,65	0,00	0,00	0,00	0,00
<i>Paracalanus crassirostris</i>	F7	0,63	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
	F8	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
	média	0,31	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
	desvio padrão	0,44	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
<i>Paracalanus quasimodo</i>	F7	4,40	0,00	0,00	0,00	0,00	4,44
	F8	4,78	0,00	0,00	0,00	0,00	11,11
	média	4,59	0,00	0,00	0,00	0,00	7,78
	desvio padrão	0,27	0,00	0,00	0,00	0,00	4,71
<i>Pseudodiaptomus acutus</i>	F7	72,96	9,26	35,48	23,08	0,00	40,00
	F8	29,08	0,00	0,00	0,00	25,00	0,00
	média	51,02	4,63	17,74	11,54	12,50	20,00
	desvio padrão	31,02	6,55	25,09	16,32	17,68	28,28
<i>Oithona hebes</i>	F7	8,81	50,93	38,71	42,31	28,57	11,11
	F8	10,76	0,00	0,00	0,00	0,00	33,33
	média	9,78	25,46	19,35	21,15	14,29	22,22
	desvio padrão	1,38	36,01	27,37	29,92	20,20	15,71
<i>Corycaeus giesbrechti</i>	F7	0,00	0,00	0,00	7,69	14,29	0,00
	F8	0,40	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
	média	0,20	0,00	0,00	3,85	7,14	0,00
	desvio padrão	0,28	0,00	0,00	5,44	10,10	0,00

ANEXO 12

Percentual (%) de fêmeas ovadas de *P. acutus* e *O. hebes* nos mesocosmos controle e naqueles tratados com petróleo e com petróleo e dispersante no período entre 19 de junho e 13 de julho de 2002, em Angra dos Reis, RJ. nc = não calculado

Tratamento		<i>Pseudodiaptomus acutus</i>				
CONTROLE	Data da coleta	F1	F2	F3	média	desvio
	19/6	6,67	3,11	6,22	5,33	1,94
	20/6	2,47	5,49	4,22	4,06	1,52
	21/6	11,04	4,61	12,00	9,22	4,02
	26/6		6,25	16,24	11,24	7,06
	4/7		35,70	46,05	40,88	7,32
	13/7		0,00	28,89	14,44	20,43
PETRÓLEO	Data da coleta	F4	F5	F6	média	desvio
	19/6	12,92	10,34	3,19	8,82	5,04
	20/6	14,89	7,14	6,10	9,38	4,81
	21/6	18,60	2,15	5,97	8,91	8,61
	26/6	12,50	0,00	10,53	7,68	6,72
	4/7	13,51	42,86	50,00	35,46	19,34
	13/7	44,44	50,00		47,22	3,93
PETRÓLEO + DISPERSANTE	Data da coleta	F7	F8		média	desvio
	19/6	1,72	12,33		7,03	7,50
	20/6	0,00			nc	nc
	21/6	0,00			nc	nc
	26/6	0,00	0,00		nc	nc
	4/7	0,00	0,00		nc	nc
	13/7	16,67	0,00		8,33	11,79

		<i>Oithona hebes</i>				
CONTROLE	Data da coleta	F1	F2	F3	média	desv
	19/6	2,50	4,55	75,00	27,35	41,28
	20/6	0,00	8,33	11,11	6,48	5,78
	21/6	40,00	27,78	35,71	34,50	6,20
	26/6		0,00	0,00	nc	nc
	4/7		3,64	1,89	2,76	1,24
	13/7		100,00	0,00	50,00	70,71
PETRÓLEO	Data da coleta	F4	F5	F6	média	desv
	19/6	17,39	2,56	14,71	11,55	7,90
	20/6	8,26	4,44	8,73	7,14	2,35
	21/6	3,27	3,13	10,40	5,60	4,16
	26/6	0,00	0,00	5,08	2,54	2,94
	4/7	5,56	41,67	0,00	20,83	22,62
	13/7	1,39	0,00		0,69	0,98
PETRÓLEO + DISPERSANTE	Data da coleta	F7	F8		média	desvio
	19/6	7,14	3,70		5,42	2,43
	20/6	1,82			nc	nc
	21/6	4,17			nc	nc
	26/6	0,00	0,00		nc	nc
	4/7	0,00	0,00		nc	nc
	13/7	0,00	0,00		nc	nc

ANEXO 13

Percentual de náuplios nos mesocosmos controle e naquelas tratadas com petróleo e dispersante químico no experimento conduzido na praia de Itaorna, Angra dos Reis, entre 19 de junho e 13 de julho de 2002.

Tratamento	Data	Náuplios (%)			Média	Desvio
		F1	F2	F3		
Controle	19/6	33,9	42	61	45,63	13,91
	20/6	45	54	58,5	52,50	6,87
	21/6	60,2	67,7	68,6	65,50	4,61
	26/6		44,7	54	49,35	6,58
	4/7		3,2	5	4,10	1,27
	13/7		77,6	12,2	44,90	46,24
Petróleo		F4	F5	F6		
	19/6	38,7	28	39	35,23	6,27
	20/6	39,1	60	6,51	35,20	26,96
	21/6	31	49	36	38,67	9,29
	26/6	66,5	27	2,04	31,85	32,50
	4/7	0	0	0	0	nc
	13/7	0	0		0	nc
Petróleo + dispersante		F7	F8			
	19/6	47	50		48,50	2,12
	20/6	0	0		0,00	0,00
	21/6	32			nc	nc
	26/6	0			nc	nc
	4/7	0	0		0,00	nc
	13/7	10	0		5,00	nc