



UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA

JÚLIO DE MESQUITA FILHO

Instituto de Biociência

Campus do Litoral Paulista

LETÍCIA MAY FUKUSHIMA

**Coral-Sol um invasor resistente: Avaliação da
toxicidade aguda de contaminantes associados às atividades petrolífera e
petroquímica sobre a espécie *Tubastraea coccinea***

SÃO VICENTE
2021

LETÍCIA MAY FUKUSHIMA

**Coral-Sol um invasor resistente: Avaliação da
toxicidade aguda de contaminantes associados às atividades petrolífera e
petroquímica sobre a espécie *Tubastraea coccinea***

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado à
Universidade Estadual Paulista Júlio de
Mesquita Filho - Campus Litoral Paulista para
obtenção do título de bacharel em Ciências
Biológicas com habilitação em Biologia
Marinha.

Orientador: Prof. Dr. Denis Moledo de Souza
Abessa

Co-orientador(a): Dra. Kátia Cristina Cruz Capel

F961c	Fukushima, Leticia Coral-Sol um invasor resistente: Avaliação da toxicidade aguda de contaminantes associados às atividades petrolífera e petroquímica sobre a espécie <i>Tubastraea coccinea</i> / Leticia Fukushima. -- São Vicente, 2022 53 p. : tabs., fotos, mapas Trabalho de conclusão de curso (Bacharelado - Ciências Biológicas) - Universidade Estadual Paulista (Unesp), Instituto de Biociências, São Vicente Orientador: Denis Abessa Coorientadora: Katia Capel 1. Poluição aquática. 2. Indústrias petroquímica e petrolífera. 3. Corais. 4. Ecotoxicologia. 5. Biomonitoramento. I. Título.
-------	---

Sistema de geração automática de fichas catalográficas da Unesp. Biblioteca do Instituto de Biociências, São Vicente. Dados fornecidos pelo autor(a).

Essa ficha não pode ser modificada.

AGRADECIMENTOS

Agradeço a todos que participaram das experiências e aprendizados vividos durante esses cinco anos.

Primeiramente aos meus pais e a minha irmã por todo o amor, suporte, por compreenderem meus momentos de ausência e sempre acreditarem em mim. A minha sobrinha Mia Sayuri, que é a luz da minha vida e que me ensina todos os dias como ser uma pessoa e uma bióloga melhor com todas as suas perguntas e curiosidades sobre a vida!

Da mesma maneira agradeço meus amigos, aos antigos que apesar de não terem relação com a vida que construí dentro do meu processo de formação como bióloga mas que possuem um papel fundamental na minha formação como pessoa num todo e aos que fiz durante a graduação, pela cumplicidade e por dividirem e compartilharem tantos momentos incríveis, em especial a turma XVI, o grupinho bom e a República da Jovens Camponesas sou extremamente grata por ter vocês ao meu lado!!!

Ao Prof. Dr. Denis Abessa e a Dra. Kátia Capel pela orientação e as valiosas contribuições para esse estudo, agradeço muito pela confiança e oportunidade.

Aos funcionários e professores da UNESP/CLP pela competência e auxílio em diversos momentos. Ao laboratório NEPEA por toda ajuda, pelas diversas conversas produtivas, além de todos os momentos de descontração, sempre muito valiosos e energizantes. Especialmente a Débora e ao Caio que foram fundamentais para alguns dos processos realizados.

Por fim, a FAPESP pelo financiamento da pesquisa no país.

Muito obrigada a todos.

Resumo:

As indústrias petrolífera e petroquímica, são consideradas importantes fontes poluidoras para os ambientes marinhos e costeiros. O Brasil tem sido palco de acidentes ambientais marinhos envolvendo estas indústrias, como o incêndio no Terminal Petroquímico da Ultracargo, no ano de 2015 em Santos, e o surgimento de manchas de óleo nas regiões nordeste e sudeste em 2019 e 2020. Regiões tropicais e subtropicais são particularmente suscetíveis aos impactos ambientais decorrentes dessas atividades, incluindo-se os possíveis efeitos nos ambientes recifais que predominam nessas áreas. O Brasil abriga uma fauna coralínea considerada única no mundo, que vem sofrendo diversas pressões ambientais, com muitas espécies atualmente ameaçadas. Corais do gênero *Tubastraea* (Coral-sol) são invasores na costa brasileira, e têm se adaptado aos ecossistemas marinhos nacionais. O objetivo deste estudo foi avaliar efeitos biológicos adversos de frações solúveis dos óleos bunker-C, e diesel marinho, de amostras do óleo oriundo do derramamento ocorrido no NE, e do líquido gerador de espuma Agefoam 2133 sobre a espécie *Tubastraea coccinea*, por meio de teste de toxicidade aguda. Os testes ocorreram em triplicatas no qual colônias com 9-30 pólipos foram expostas aos contaminantes durante 96 horas. Foi observado 100% de sobrevivência dos organismos do controle e contaminantes, com exceção das maiores concentrações das substâncias LGE-Agefoam 2133, FSA do diesel marítimo e da amostra de petróleo do derrame no Nordeste em 2019. Para o LGE e a FSA do diesel marítimo, houve efeitos significativos em comparação com o controle nas maiores concentrações, sendo então, determinadas as Concentração de Efeito Observado (CEO) e da Concentração de Efeito Não Observado (CENO), as quais foram, 1% e 100% respectivamente. As demais substâncias (FSA dos óleos do NE e bunker), não apresentaram efeitos deletérios e subletais significativos. O estudo apresenta as primeiras informações sobre os efeitos desses compostos em corais escleractíneos no Brasil.

Palavras-chave: Poluição aquática, indústrias petroquímica e petrolífera, corais, ecotoxicologia, biomonitoramento.

Abstract:

The oil and petrochemical industry are an important source of pollution to the marine and coastal environments. Brazil has been the scenario of marine environmental accidents involving this industry, such as the major fire at the Ultracargo Terminal in 2015 in Santos, and the appearance of large amounts of mysterious oil slicks on the North East and South East regions in 2019 and 2020. Tropical and subtropical regions are particularly susceptible to the environmental impacts from oil spills, including possible effects on the reef ecosystem, which are abundant within these areas. Brazil harbors a coral fauna considered unique in the world, which has been suffering from numberless environmental pressures, with many species currently threatened. Corals of the genus *Tubastraea* (Sun corals) are non-indigenous species on the Brazilian coast, which are becoming adapted to the local ecosystems. This study aimed to evaluate biological hazards of soluble fractions of fuel oil, marine diesel, samples of spilled oil in the NE, and the Aqueous Film Forming Foam Agefoam 2133 on the species *Tubastraea coccinea*, through acute toxicity tests. The tests took place in triplicates, in which colonies with 9-30 polyps were exposed to contaminants for 96 hours. Organisms from the controls and most of the test-dilutions presented 100% survival, except for the highest concentrations of substances LGE-Agefoam 2133, FSA from marine diesel, and the oil sample from the Northeast spill in 2019. The highest concentrations of AFFF and WSF of marine diesel showed significant effects compared to the control, being determined as the lowest-observed-effect concentration (LOEC) and the no-observed-effect concentration (NOEC), which were, 1% and 100% respectively. Other substances (WSF from NE oil slicks and bunker C fuel oil) did not cause significant deleterious and sublethal effects. The study provided the first information on the effects of these compounds on scleractinian corals in Brazil.

Keywords: Water pollution, petrochemical and oil industries, corals, ecotoxicology, biomonitoring.

LISTA DE SIGLAS

ABNT – Associação Brasileira de Normas Técnicas

AEI – Agentes Extintores de Incêndios

AFFF – Aqueous Film-Forming Foam (Espuma formadora de filme aquoso)

AH – Hidrocarbonetos alifáticos

CENO – Concentrações de Efeito Não Observado

CEO – Concentrações de Efeito Observado

CL50 – Concentração que causou 50% de letalidade aos organismos

DMA – Diesel marítimo

FSA – Fração solúvel em água

HPA – Hidrocarbonetos Policíclicos Aromáticos

HTP – Hidrocarbonetos totais de petróleo

ISO – Organização Internacional de Normalização

MF – Marine Fuel

MGO – Marine Gasoil

LGE – Líquido Gerador de Espuma

PFAS – Substâncias per - polifluoralquilados

PFC – Perfluoroquímicos

PFOA – Ácido Perfluorooctanóico

PFOS – Sulfato de Perfluorooctano

POP – Poluentes Orgânicos Persistentes

REBIO – Reserva Biológica

REVIS – Refúgio de Vida Silvestre

SPP – Espécie

LISTA DE FIGURAS

- Figura 1** - Mapa com os pontos de coleta de *Tubastraea coccinea* no Arquipélago de Alcatrazes - São Paulo..... **18**
- Figura 2** - Estrutura de armazenamento das colônias de *Tubastraea coccinea*..... **19**
- Figura 3** - Efeitos observados ao final dos experimentos com *T. coccinea*.(A) – Pólipo com esqueleto aparente na concentração 0,01% do LGE–Agefoam 2133; (B) – Pólipo com esqueleto aparente na concentração 0,001% do LGE–Agefoam 2133; (C) – Pólipo quebrado na concentração 100% do Bunker; (D) – Pólipo em alto estágio de decomposição na concentração 100% do LGE–Agefoam 2133; (E) – Pólipo em alto estágio de decomposição na concentração 100% do Diesel Marítimo..... **29**
- Figura 4** - Taxas médias de sobrevivência (%) e dos efeitos subletais (%) com os respectivos desvios padrões de *Tubastraea coccinea* exposta aos contaminantes após 96h. (A) Taxa média do efeito subletal do contaminante LGE–Agefoam 2133; (B) Taxa média de sobrevivência do contaminante LGE–Agefoam 2133; (C) Taxa média do efeito subletal da Fração Solúvel PNE; (D) Taxa média de sobrevivência da Fração Solúvel PNE; (E) Taxa média do efeito subletal da Fração Solúvel DMA; (F) Taxa média de sobrevivência da Fração Solúvel DMA; (G) Taxa média do efeito subletal da Fração Solúvel do Bunker..... **30**

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Resumo das condições do sistema-teste utilizado.....	27
Tabela 2 - Concentrações de letalidade a 50% dos pólipos de <i>Tubastraea coccinea</i> (CL50 - 24-96h) e Concentrações de Efeito não Observável (CENO) e de Efeito Observável (CEO) das substâncias.....	28
Tabela 3 - Concentrações que apresentaram efeitos subletais.....	29

Sumário

Introdução	12
Objetivo	15
2.1. Objetivo Geral	15
2.2. Objetivos Específicos	16
Materiais e métodos	16
3.1 Espécie-teste	16
3.2. Amostragem	17
3.3. Substâncias teste	19
3.3.1. Líquidos Geradores de Espumas - Agefoam 2133	19
3.3.2. Petróleo e seus derivados	21
3.3.2.1. Óleo oriundo do derramamento ocorrido entre 2019 e 2020	23
3.3.2.2. Combustíveis Marítimos	24
3.3.2.3. Fração Solúvel das substâncias teste	25
3.4. Ensaio Ecotoxicológicos	26
3.5. Análises estatísticas	27
Resultados	28
Discussão	32
Conclusão	38
Referências	40
Apêndice I - Parâmetros físico-químicos dos ensaios com AEI e FSA do petróleo bruto e seus derivados	52

1. Introdução

A poluição marinha vem sendo apontada como uma das maiores preocupações ambientais globais (Barbier *et al.*, 2011). Em decorrência do histórico da ocupação territorial desordenada das regiões costeiras e dos critérios pouco rigorosos quanto à disposição de resíduos (Bremaeker, 2003), os oceanos tornaram-se grandes receptores de contaminantes. O despejo direto e indireto de poluentes e resíduos nos mares obedece a opções econômicas simplistas, que consideram, erroneamente, a capacidade de diluição e assimilação dos oceanos (Nipper, 2000; Marques Jr *et al.*, 2009). Atrela-se também a exploração dos inúmeros serviços ecossistêmicos providos pelos ambientes marinhos, sendo alguns dos principais exemplos as indústrias petrolífera e petroquímica, que historicamente têm sido consideradas grandes fontes potencialmente poluidoras (Kataoka, 2001).

Tais indústrias têm como insumo primário o petróleo, um combustível fóssil não renovável, que apresenta uma gama infinita de utilidades e aplicações a partir do seu refinamento (Farah, 2008; Farias, 2013). Atualmente, o petróleo é considerado a principal fonte de energia primária do mundo (Bozelli *et al.*, 2008). Sua importância e influência econômica e política são inquestionáveis (IEA, 2011). Contudo, inúmeros trabalhos científicos discutem os impactos ambientais decorrentes da exploração do petróleo, cujo potencial tóxico, extensão das áreas afetadas e impactos subsequentes (e.g. explosão e incêndios causados por combustíveis e poluição por plástico) têm aumentado nas duas últimas décadas, como consequência de sua produção e uso crescentes (Sardi, 2017).

Muitas das substâncias tóxicas resultantes das atividades petrolíferas (em especial os componentes do petróleo e seus derivados, como os hidrocarbonetos alifáticos (AH), hidrocarbonetos policíclicos aromáticos (HPA) e metais pesados), são praticamente onipresentes nos ecossistemas costeiros e marinhos e podem alterar o funcionamento desses ambientes (Cerqueira, *et al.*, 2020). A toxicidade aguda desses xenobióticos (i.e., compostos

químicos estranhos a um organismo ou sistema biológico) já foi demonstrada em diversos tipos de invertebrados bentônicos, como por exemplo *Crassostrea rhizophorae* (ostra), *Hediste diversicolor* (poliqueta), *Hydrobia ulva* (gastropoda) e *Cyathura carinata* (isopoda) (Paixão, *et al.*, 2007; Xavier, 2020). Além da contaminação direta, resultante principalmente de vazamentos e derramamentos, acidentes com produtos refinados do petróleo muitas vezes envolvem incêndios e requerem o consequente uso de Agentes Extintores de Incêndios (AEI) contendo substâncias supressoras de chama, como os per- e polifluoroalquilados (PFAS), que da mesma forma, apresentam uma série de preocupações quanto à sua disposição e em ambientes aquáticos (e.g. Daniel *et al.*, 2020; Carmo *et al.*, 2019; Carvalho *et al.*, 2019).

De modo igual, uma infinidade de outros compostos químicos têm sido detectados e quantificados nos ambientes marinhos e costeiros, alguns inclusive atingindo níveis alarmantes (e.g. Martin *et al.*, 2003; Parolini *et al.*, 2013, 2016; Guerranti *et al.*, 2019; Figueiredo *et al.*, 2020; Fontes *et al.*, 2020). A existência desta vasta gama de xenobióticos comumente utilizados (e.g. bisfenol-A, ftalatos e biocidas) pelo ser humano nas atividades cotidianas torna difícil prever, de modo seguro, seus possíveis efeitos, devido às inúmeras interações entre contaminantes ou entre eles e os fatores físico-químicos da água, que pode muitas vezes potencializar os efeitos tóxicos (Johnston & Roberts, 2009).

As probabilidades de contaminação aquática decorrentes da indústria do petróleo são mais elevadas nas regiões tropicais e subtropicais, uma vez que cerca de 60% da produção de petróleo global se concentra nessas áreas. Além disso, em muitos países, os padrões e regulamentações ambientais para esse tipo de atividade, quando existem, são muitas vezes mínimos ou inexecutáveis (Zhang *et al.*, 2019), ou deixam de ser cumpridos. A regulamentação falha dificulta e limita a identificação e estimativa dos riscos impostos pelo despejo de contaminantes, bem como também a tomada de decisões para o manejo,

conservação e proteção dos ecossistemas marinhos (Cajaraville *et al.*, 2000). Isso demonstra que estudos nessa temática são fortemente necessários (Moraes *et al.*, 2001).

Por se distribuírem predominantemente em regiões tropicais, os ambientes recifais podem ser apontados como um dos ecossistemas mais suscetíveis aos impactos da indústria petrolífera e seus subprodutos (Johannes, 1975). Mesmo cobrindo apenas 0,2% dos ambientes oceânicos, os recifes de corais são ecossistemas altamente biodiversos (McAllister, 1995). Eles possuem grande importância e influência nas regiões costeiras, e estima-se que cerca de 850 milhões de pessoas possuem algum tipo de dependência dos serviços oferecidos por estes ambientes (MMA, 2000; Ferreira & Maida, 2006). Contudo, devido a uma série de negligências envolvendo a gestão costeira e a escassez de ações eficazes de proteção à estes ambientes, modelos mais pessimistas preveem que, mantendo o ritmo atual, 75% das espécies desse ambiente vão estar classificadas entre os níveis muito alto ou críticos de ameaça até 2050 (Burke, *et al.*, 2011).

A fauna coralínea brasileira está distribuída por praticamente toda a costa, do Maranhão à Santa Catarina, apesar de grandes discontinuidades (Leão *et al.* 2016; Pereira-Filho *et al.* 2019). Atualmente são descritas 21 espécies de corais escleractíneos de águas rasas, das quais 5 são formas endêmicas, 2 constam na lista de animais ameaçados de extinção (ICMBio/MMA, 2018), e 2 são espécies exóticas invasoras (Leão *et al.* 2019). Considerada única devido ao elevado número de endemismos quando comparada com o Caribe e Pacífico, a fauna coralínea brasileira inclui algumas das espécies mais resilientes e tolerantes a estresse e mudanças ambientais do mundo (Banha *et al.* 2020; Mies *et al.* 2020).

Um fator adicional às pressões ambientais que ameaçam o equilíbrio das comunidades recifais no Brasil é a introdução de espécies exóticas (Luz *et al.*, 2020). As espécies *Tubastraea coccinea* e *T. tagusensis* foram introduzidas na década de 1980 (Castro & Pires, 2001) e se disseminaram rapidamente ao longo da costa brasileira, onde vêm causando

diversos impactos ambientais (Creed *et al.*, 2017; Luz & Kitahara, 2017; Miranda, *et al.*, 2018; Silva, *et al.*, 2019; Guilhem, *et al.*, 2020). Como forma de evitar a proliferação do coral-sol em locais recentemente invadidos e controlar a abundância populacional em áreas de conservação, ações de manejo para a retirada manual das colônias vêm sendo realizadas em diversas localidades (e.g. Barros & Pompei, 2015; Oigman-Pszczol *et al.*, 2017; ICMBio/MMA, 2019; Barreto, 2021). Se tratando então de uma espécie exótica e de grande abundância, para a qual a remoção de indivíduos do ambiente natural é estimulada, a utilização dessa espécie invasora como modelo para estimar os efeitos de contaminantes sobre corais é altamente benéfica e evita a retirada de espécies nativas.

Levando em consideração que na última década o Brasil foi palco de enormes acidentes ambientais marinhos resultantes das indústrias do petróleo, como o caso do incêndio no Terminal Petroquímico da Ultracargo (2015) em Santos e o surgimento de manchas de óleo na região nordeste em 2019, muitos estudos foram e estão sendo realizados acerca dos impactos em decorrências desses eventos. Contudo pouco ainda se sabe dos efeitos desses poluentes antrópicos nos ambientes recifais brasileiros.

2. Objetivo

2.1. Objetivo Geral

O presente estudo visa avaliar a toxicidade aguda de diferentes classes de poluentes, como Líquidos Geradores de Espuma (LGE) e frações solúveis preparadas a partir de diferentes tipos de óleo, sobre o coral invasor *Tubastraea coccinea*.

2.2. Objetivos Específicos

- Avaliar os efeitos biológicos adversos das frações solúveis de diesel marítimo, bunker-C e óleo bruto (proveniente do derramamento em 2019) por meio de ensaios de toxicidade aguda com o coral *T. coccinea*;
- Avaliar os efeitos biológicos adversos da espuma supressora de chamas (Aqueous Film Forming Foams - AFFF), usada no incêndio ocorrido em terminal petroquímico do porto de Santos, por meio de ensaios de toxicidade aguda com o coral *T. coccinea*;
- Estimar as concentrações de efeito observado (CEO) e de efeito não observado (CENO);
- Observar, se possível, a ocorrência de efeitos subletais que possam ser usados como *endpoint* de toxicidade, antes da ocorrência da morte dos animais, como por exemplo, perda de cor, presença de lesões visíveis, redução de tamanho, entre outros;
- Discutir a adequabilidade da espécie *T. coccinea* como organismo bioindicador para estimar efeitos da poluição sobre corais.

3. Materiais e métodos

3.1 Espécie-teste

A espécie *Tubastraea coccinea* Lesson, 1829, popularmente conhecida como coral-sol, pertence à família Dendrophylliidae e à ordem Scleractinia, que abrange espécies que secretam um esqueleto calcário. As espécies do gênero *Tubastraea* são azooxanteladas, ou seja, não dependem da simbiose com algas dinoflageladas para nutrição (Cairns, 2000; Daly *et al.*, 2003). Originária da Ilha de Bora Bora e Polinésia Francesa, a espécie é atualmente cosmopolita e considerada uma espécie exótica invasora em diversas regiões do mundo (Cairns, 1994; Creed *et al.*, 2017; Luz *et al.*, 2020).

O primeiro registro desse gênero no Brasil foi ao final da década de 1980 na Bacia de Campos, Rio de Janeiro, em plataformas de petróleo (Castro & Pires, 2001). Constatadas a presença de apenas duas espécies, *T. coccinea* e *T. tagusensis*, são os únicos representantes de sua ordem a serem introduzidas em águas brasileiras (de Paula & Creed, 2004). Atualmente, a sua distribuição geográfica no Brasil, apesar de descontinuada, estende-se por cerca de 3.500 km de costa desde o Ceará (02° 29'S, 39° 51'W) (Braga, *et al.*, 2021) até Santa Catarina (27° 17'S, 48° 22'O) (Capel, 2012), sendo encontradas em diversos tipos de substratos naturais e artificiais (Creed *et al.*, 2017; Capel *et al.*, 2019).

Diversos fatores estão vinculados ao sucesso da invasão do coral-sol, como por exemplo as suas características biológicas, incluindo variadas estratégias reprodutivas (de Paula *et al.*, 2014; Luz *et al.*, 2020), maturidade reprodutiva precoce (Glynn *et al.*, 2018), crescimento acelerado e uma elevada taxa de recrutamento (Costa *et al.*, 2014). Além disso, as duas espécies são consideradas ótimos competidores (Capel *et al.*, 2014; Hennessey & Sammarco, 2014), pois, assim como outros escleractíneos, são capazes de produzir diferentes compostos metabólicos secundários que têm o potencial de causar a necrose tecidual de outros corais (Lages *et al.*, 2011). As espécies apresentam também uma notável capacidade regenerativa (Luz *et al.*, 2018) e assim como a maioria das espécies invasoras não possui muitos predadores naturais (Moreira & Creed, 2012). Quanto às tolerâncias ambientais, segundo de Paula & Creed (2005) as espécies têm grande tolerância ecológica ao resistir a variações de temperatura e à dessecação.

3.2. Amostragem

Os organismos utilizados foram coletados durante operações de remoção do coral-sol realizadas no Refúgio de Vida Silvestre do Arquipélago de Alcatrazes pela equipe gestora da unidade em parceria com pesquisadores do Centro de Biologia Marinha da Universidade de

São Paulo - CEBIMAR-USP (Figura 1). Cerca de 250 colônias foram coletadas manualmente com auxílio de marreta e talhadeira, sendo utilizadas 51 colônias no presente estudo.

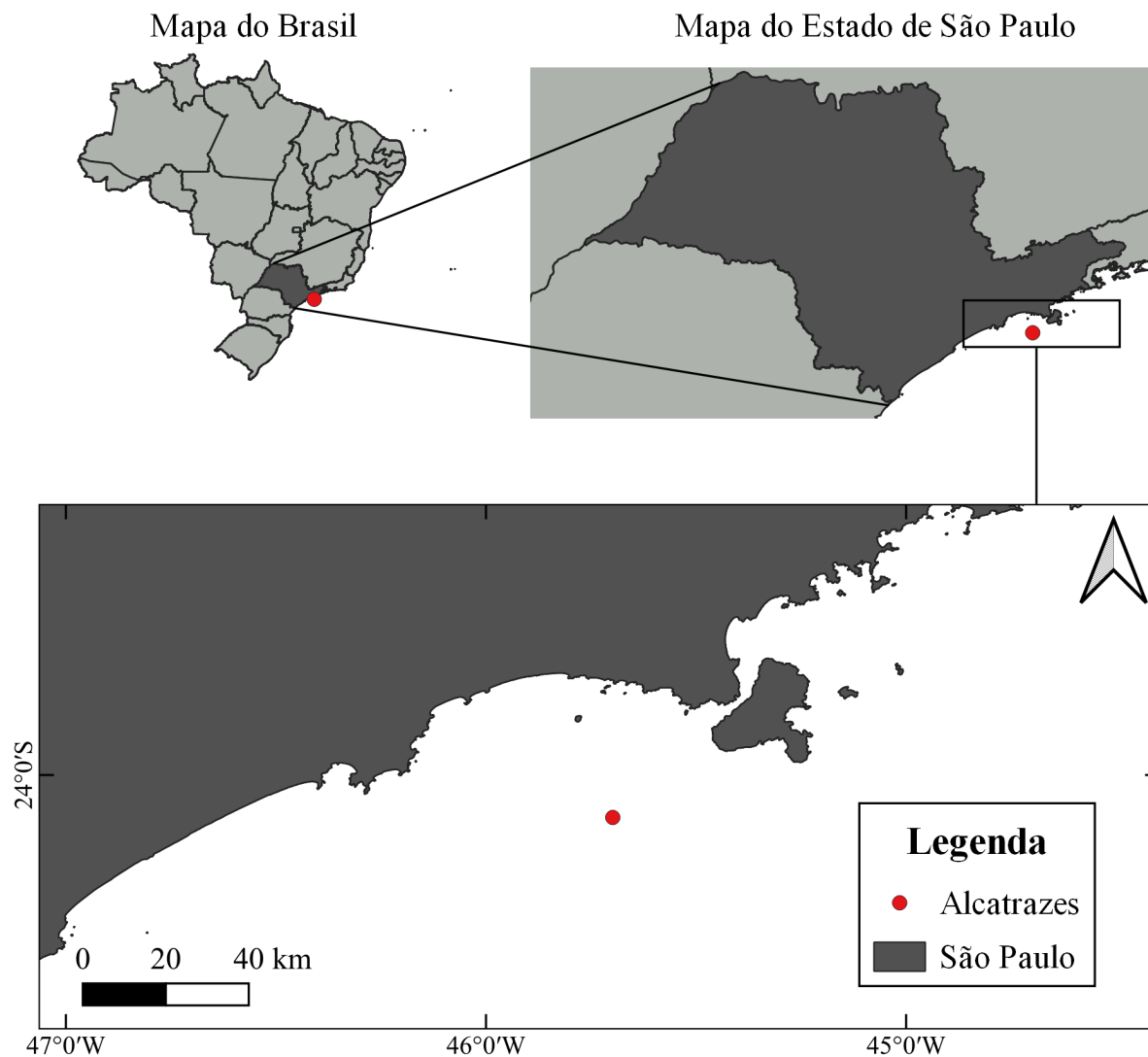


Figura 1. Mapa com os pontos de coleta de *Tubastraea coccinea* no Arquipélago de Alcatrazes - São Paulo.

Após a coleta, as colônias de *Tubastraea coccinea* foram previamente mantidas na base do CEBIMar-USP, em tanques com fluxo constante de água do mar filtrada, e posteriormente transportadas para o laboratório do Núcleo de Estudos sobre Poluição e Ecotoxicologia Aquática (NEPEA), sediado no Campus do Litoral Paulista da Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho" – UNESP (CLP-UNESP) (Figura 2). Para a realização dos experimentos, as colônias foram aclimatadas durante 4 dias com a troca parcial

da água em dias alternados por água do mar reconstituída (Red Sea®) à salinidade 35%, temperatura de 23°C, permanecendo com aeração constante e fotoperíodo 12/12h (claro/escuro).



Figura 2. Estrutura de armazenamento das colônias de *Tubastraea coccinea*. **Fonte:** Letícia Fukushima

3.3. Substâncias teste

3.3.1. Líquidos Geradores de Espumas - Agefoam 2133

Os Líquidos Geradores de Espumas (LGE ou AFFF - *aqueous film forming foam*) são misturas variadas e complexas de produtos químicos, em especial os perfluoroquímicos (PFCs), como os tensoativos per- e polifluoroalquilados (PFAS) (Moody & Field, 1999). PFASs são cadeias de carbono lineares ou ramificadas com moléculas fluoradas ligadas a elas com uma variedade de componentes reativos em uma extremidade. É a presença desta porção perfluoroalquil (C_nF_{2n+1}), que possui uma ligação carbono-flúor extremamente forte e estável, que confere propriedades únicas e importantes aos PFAS, como estabilidade térmica,

maior atividade de superfície em concentrações muito baixas, natureza hidrofóbica e lipofóbica (Kissa, 2001; Van *et al.*, 2020).

Dentre os PFAS mais estudados destacam-se o ácido perfluorooctanóico (PFOA) e o sulfato de perfluorooctano (PFOS), os quais apresentam uma alta capacidade de bioacumulação em vários grupos de animais (Gulkowska *et al.*, 2006; Solla *et al.*, 2012). Além disso, devido às suas características muitos PFAS se ligam fortemente às proteínas, em vez de se acumularem em lipídios, e por isso foram classificados durante a Convenção de Estocolmo sobre Poluentes Orgânicos Persistentes (2009) como poluentes orgânicos persistentes (POPs), aumentando ainda mais as chances de atingirem locais remotos (Suja *et al.*, 2009; Newman, 2015).

Apesar dos perigos, os PFAS são usados em uma variedade de produtos comerciais (Konwick *et al.*, 2008; McCarthy *et al.*, 2017). Um exemplo é sua utilização em casos de explosões e incêndios nas centrais de armazenamento e instalações industriais petroquímicas, sendo este, um dos mais severos impactos ambientais envolvendo esse tipo de indústria (Chang & Lin, 2006). Apesar disso, seus efeitos ecológicos são ainda pouco conhecidos (Carvalho *et al.*, 2019) e há uma deficiência na regulamentação de seu uso em níveis globais, nacional e regional (Carmo *et al.*, 2019).

O caso mais recente e de maior proporção envolvendo a utilização de PFAS em ambientes marinhos do Brasil foi o acidente ocorrido em 2015 no município de Santos, litoral sul de São Paulo, quando um grande incêndio ocorreu no Terminal Petroquímico de armazenamento de combustíveis da empresa Ultracargo, pertencente ao Grupo Aratu/Tequimar. Esse episódio teve duração de nove dias, sendo considerado o maior acidente do gênero já registrado no país. Em consequência, para auxiliar na supressão do fogo e resfriamento dos cinco tanques de gasolina e um de etanol que se encontravam em chamas, às

equipes responsáveis pelo controle da emergência utilizaram grandes quantidades de água do Sistema Estuarino de Santos (SES), juntamente com diferentes marcas de LGE - AFFF

Em eventos de incêndio de grande magnitude é recomendado o uso de LGE por conta de suas características que reduzem a tensão superficial onde está ocorrendo a chama, reduzindo o contato entre o combustível e o oxigênio (formando uma película sobre o combustível), proporcionando assim um recobrimento contínuo e o resfriamento da superfície do material em combustão, suprimindo e impedindo o reinício do fogo (Figueredo *et al.*, 1999).

No ensaio com o Líquido Gerador de Espuma - AFFF Ageofoam 2133, foi utilizada uma amostra fornecida pelo IBAMA em sua formulação comercial. A preparação juntamente com a definição das concentrações das diluições foram baseadas em estudos anteriores realizados com invertebrados tropicais (Carvalho *et al.*, 2019; Daniel *et al.*, 2021). O LGE foi diluído primeiramente a 1% em água do mar reconstituída à salinidade 35, a partir disso, foram realizadas as séries de diluição.

3.3.2. Petróleo e seus derivados

O petróleo consiste na mistura complexa de vários compostos orgânicos distintos, principalmente hidrocarbonetos (Neff, 1980). Entretanto, sua composição, assim como a de seus derivados, varia de acordo com a sua região de origem. Alguns dos hidrocarbonetos mais estudados são os de cadeia curta, que incluem os hidrocarbonetos policíclicos aromáticos (HPA) leves, hidrocarbonetos voláteis monoaromáticos (BTEX) e hidrocarbonetos de cadeia longa, incluindo-se HPA pesados (Pont, 2012).

Os HPA são em sua maioria voláteis e possuem um baixo tempo de permanência no ambiente aquático. Representam cerca de 20% o total de hidrocarbonetos do petróleo e são

os mais biologicamente tóxicos de todos os compostos petrolíferos (Heath, 1995), sendo um dos principais compostos determinantes da toxicidade do petróleo para organismos aquáticos (Connell e Miller, 1981; French, 1991; Spies, 1987). Já os hidrocarbonetos voláteis monoaromáticos, como o benzeno, tolueno, etilbenzeno e xileno, são associados a toxicidade de alguns tipos de derivados do petróleo, como a gasolina e o óleo diesel (Barron *et al.*, 1999; Rodrigues *et al.*, 2010). Os hidrocarbonetos de cadeia longa, apesar de apresentarem maior persistência no ambiente aquático, são considerados menos tóxicos (Neff, 1980).

Uma vez em contato com meio marinho, o petróleo ou seus subprodutos passam por diversos processos como por exemplo a solubilização de compostos polares e de baixo peso molecular, a evaporação dos componentes voláteis presentes na superfície da água e a deposição dos não voláteis no sedimento. Além disso, um processo importante é o de emulsificação, no qual os compostos hidrofóbicos se aglutinam, ocorrendo um entranhamento de água em seu interior, que aumenta o seu volume e densidade, fazendo o mousse originado afundar. Nesse processo, alguns hidrocarbonetos se solubilizam, formando uma fração solúvel em água (FSA) (Neff, 1985; Capone e Bauer, 1992). Essas alterações podem tornar os compostos mais tóxicos que os compostos originais (Kingston 2002).

A fração solúvel em água (FSA) é então descrita como uma mistura tóxica e complexa de hidrocarbonetos (Lari *et al.* 2016), e a caracterização dos efeitos adversos produzidos por tal fração é relevante para uma estimativa adequada dos impactos de derramamento de óleo e seus subprodutos. Além disso, estudos revelam que as FSA de óleos refinados tendem a ser mais tóxicas do que as FSA de petróleo bruto para várias espécies, como peixes (Speight, 2011), crustáceos, moluscos e equinodermes (Santana *et al.*, 2021), pois essa fração contém compostos mais reativos e mais facilmente absorvidos pelos organismos aquáticos, podendo ocasionar sérios distúrbios em diversos níveis biológicos (Heath, 1995). Experimentos utilizando a FSA de óleos têm sido bastante utilizados na avaliação da toxicidade dos

derivados do petróleo, já que esta apresenta maior quantidade de constituintes dissolvidos e dispersos de forma estável na água (Girling *et al.*, 1992).

3.3.2.1. Óleo oriundo do derramamento ocorrido entre 2019 e 2020

De agosto de 2019 e ao longo de 2020, o litoral do nordeste (NE) brasileiro e parte da costa sudeste brasileira foram impactados pela aparição de significativas quantidades de petróleo (Cerqueira *et al.*, 2020). Foram relatadas mais de 5.380 toneladas de óleo cru, ao longo de 2.890 km de costa, potencialmente tóxico, removidas dos ambientes costeiros e marinhos e cuja origem ainda permanece em aberto (Escobar, 2019; Brum *et al.*, 2020). Este foi considerado o maior acidente de petróleo da história do Brasil e o mais severo desastre ambiental já registrado nas regiões costeiras tropicais da América do Sul, considerando todos os impactos (Magris & Giarrizzo, 2020).

O estudo de Lourenço *et al.*, (2020) realizou a caracterização química de uma amostra do óleo e apesar de tratar-se de um petróleo extremamente denso, processos como evaporação, dissolução, emulsificação, biodegradação e fotooxidação não modificaram sua composição como esperado (e.g. Ali *et al.*, 1995; Guo *et al.*, 2010; Fingas, 2015). No entanto, foi constatado um alto potencial tóxico devido à presença de hidrocarbonetos leves, sendo a solubilidade, a biodisponibilidade e a toxicidade destes componentes para os organismos marinhos considerados superiores aos dos hidrocarbonetos pesados (Alford *et al.*, 2015), o que aumenta a probabilidade de efeitos negativos para os ecossistemas costeiros como um todo devido à liberação de compostos tóxicos na coluna d'água.

Outro fator, ainda mais preocupante, é que parte do petróleo que não foi removido pode estar preso em sedimentos costeiros e marinhos rasos, bem como em estruturas duras (e.g. recifes). Esse petróleo acumulado pode liberar lentamente compostos tóxicos no meio ambiente, ameaçando a recuperação do ecossistema a longo prazo das áreas afetadas, além de

eventos meteorológicos energéticos poderem ressuspender o óleo de volta à coluna de água, levando-o em direção à costa (Lourenço *et al.*, 2020). A amostra utilizada no presente estudo foi coletada no litoral da Bahia e cedida pelo MSc Gabriel Izar (UFBA). Sua análise química está sendo realizada pelo grupo do Prof. Rafael Lourenço (IO-USP), para uma maior compreensão de sua composição e concentrações dos compostos tóxicos.

3.3.2.2. Combustíveis Marítimos

Nas últimas décadas os vazamentos de subprodutos de petróleo, como combustíveis marítimos, têm sido registrados com mais frequência, sendo considerados um dos derivados de petróleo mais encontrado e que afeta ambientes aquáticos continentais em diferentes países (Katsumiti *et al.*, 2008; Schmidt-Etkin, 2011). A problemática envolvendo esses eventos é a formação das frações solúveis, após o óleo entrar em contato com a água, pois sua toxicidade depende não apenas da concentração total de hidrocarbonetos, mas sim da composição de hidrocarbonetos, em especial a presença de substâncias solúveis, que compõem a fração solúvel em água (FSA) (Speight & El-Gendy, 2017).

Segundo a MARPOL 73/38 (S/D, p. 23), os combustíveis marítimos são uma mistura homogênea de hidrocarbonetos derivados de petróleo. Regulamentados pela norma ISO 8217, os combustíveis são classificados em duas categorias a depender da sua produção (Cordeiro, 2016). Os residuais ou bunker (Marine fuel - MF) são produzidos a partir de formulações contendo principalmente frações pesadas da destilação (resíduos). Estes são divididos em seis tipos de combustível dependendo de sua viscosidade cinemática a 50 °C (desde o MF 10 até o MF 700). Já os óleos diluentes e os produzidos a partir das frações mais leves do processo de refino são chamados de diesel marítimo (DMA) ou marine gasoil (MGO) (Petrobras, 2021).

Como descrito por Pereira *et al.*, (2018), o óleo diesel é o combustível padrão usado em grandes e pequenas embarcações de pesca e de recreio. Já o óleo bunker é utilizado em

navios comerciais devido à sua eficiência e vantagens econômicas (Tagasaki *et al.*, 2002). Sua composição é uma mistura complexa de hidrocarbonetos alifáticos e aromáticos (Kokushi *et al.*, 2012). Segundo Zajic & Supplisson (1972) o bunker é mais pesado que o óleo diesel, originado de um resíduo altamente não volátil da destilação do óleo cru; também pode conter ceras, asfaltenos e enxofre, dependendo de sua origem e uso pretendido.

O estudo realizado por de Santana *et al.* (2021) caracterizou amostras de diesel marítimo e óleo de bunker (os mesmos utilizados no presente trabalho) e suas respectivas frações solúveis em água para hidrocarbonetos totais de petróleo (HTPs) e hidrocarbonetos policíclicos aromáticos (HPAs). Seus resultados indicam que os combustíveis navais representam uma fonte relevante de hidrocarbonetos solúveis para os ambientes marinhos.

3.3.2.3. Fração Solúvel das substâncias teste

Nos ensaios com óleo bruto, diesel marítimo e bunker-C foi realizada a extração da fração solúvel dos contaminantes seguindo as normas ABNT 15469 (2007) e baseado no estudo de Rodrigues *et al.* (2010) com modificações em relação ao tempo de preparação de diluição.

Desse modo, as substâncias foram diluídas na proporção de 1:9, sendo uma parte do soluto para nove partes de água do mar reconstituída (Red Sea®) à salinidade 35. Após a diluição, iniciou-se a agitação do conteúdo por meio de agitador magnético em condição de baixa energia (160 rpm) para formar gotículas de óleo e permitir a solubilização dos compostos solúveis durante 20h. Terminada essa etapa, o agitador foi desligado e a solução ficou em repouso por cerca de 1 hora, quando se tornou visível a diferenciação das duas fases: a FI (fração insolúvel) e a FSA. Com isso, a FI foi retirada através do uso de um funil de separação, iniciando-se assim o processo da diluição seriada a partir da camada aquosa (solução estoque). Todos os procedimentos foram realizados em local ausente de luz desde o

início até a inoculação dos organismos, para minimizar assim a perda e/ou degradação dos compostos.

3.4. Ensaios Ecotoxicológicos

Os ensaios ecotoxicológicos foram desenhados para avaliar a toxicidade aguda em um intervalo de 24-96h, determinando assim toxicidade característica inerente de cada substância a partir da observação da menor concentração de efeito observado (CEO - i.e., primeira concentração em que ocorreu efeito significativo) e da concentração de efeito não observado (CENO - i.e., a maior concentração em que não houve efeito significativo) (CONSEMA, 129/2006), utilizando como organismo-teste o coral invasor *Tubastraea coccinea*.

Para os experimentos foram utilizadas quatro substâncias: (1) LGE- Agefoam 2133, nas concentrações 1%, 0,1%, 0,01%, e 0,001%; (2) FSA bunker-C nas concentrações 100%, 10%, 1%, e 0,1%; (3) FSA diesel marinho (DMA) nas concentrações 100%, 10%, 1%, e 0,1%; e (4) FSA óleo bruto proveniente do derramamento em 2019, nas concentrações 10%, 1%, e 0,1%. Para cada substância testada, foi preparado um controle negativo, no qual os organismos foram mantidos em água do mar limpa (no caso, água de diluição, que foi água do mar reconstituída da marca Red Sea®).

O sistema foi configurado em triplicata, incluindo concentrações nominais e controles negativos. As câmaras de ensaio consistiram em recipientes de vidro contendo 500 mL com uma colônia por frasco. O experimento durou 96 horas e foi mantido em condições controladas de temperatura (23 ± 2 ° C), fotoperíodo (12 h: 12 h; claro: escuro) e aeração constante (Tabela 1).

Tabela 1 – Resumo das condições do sistema-teste utilizado.

Sistema teste para <i>Tubastraea coccinea</i>	
Tipo de teste	Estático
Recipiente de ensaio	Pote de vidro de 500 mL
Água de diluição	Água do mar reconstituída
Temperatura	23 ± 2°C
Fotoperíodo	12h:12h (claro:escuro)
Aeração	Presente
Volume da solução	500 mL
Replicatas por concentração	Três réplicas
Organismos por concentração	Uma colônia (9 ~ 30 pólipos cada)
Expressão do resultado	CI50-96h
Efeito observado	Mortalidade e efeitos subletais
Aceitabilidade do ensaio	90% de sobrevivência no controle

Decorrido o tempo de 96h de exposição aos químicos, as colônias foram observadas para a contagem do número de pólipos que apresentaram sobrevivência e/ou mortalidade. Os animais mortos normalmente apresentaram evidências de decomposição e parcial ou total exposição de seu esqueleto. Ao longo dos experimentos, as colônias foram monitoradas para avaliar a presença de possíveis efeitos subletais, como por exemplo a perda de tecido e a fragmentação do esqueleto.

3.5. Análises estatísticas

Com base nos resultados obtidos de cada ensaio, os conjuntos de dados foram primeiramente verificados para normalidade e homocedasticidade por meio dos programas *Past* e GraphPad Prism v6, respectivamente. Como os dados não apresentaram distribuição normal, foi realizado o teste não-paramétrico de Mann-Whitney e os resultados obtidos de cada contaminante foram apenas plotados em gráficos bloxplot. Quando foi verificada

diferença significativa entre a sobrevivência dos organismos expostos às substâncias e os controles, foram estimadas a CEO (Concentração de Efeito Observado) e a CENO (Concentração de Efeito Não Observado).

4. Resultados

Todos os ensaios apresentaram 100% de sobrevivência dos organismos do tratamento controle e quase todas as outras diluições, com exceção das maiores concentrações das substâncias LGE-Agefoam 2133, óleo diesel e da amostra de petróleo do derrame no Nordeste. As substâncias LGE-Agefoam 2133 e a FSA do diesel marítimo apresentaram efeitos significativos em comparação com o controle em suas maiores concentrações, e somente para esses poluentes foi possível calcular a Concentração de Efeito Observado (CEO) e a Concentração de Efeito Não Observado (CENO). As demais FSA (óleo do Nordeste e óleo bunker), não produziram efeitos deletérios e subletais estatisticamente significativos em nenhuma das concentrações testadas. Não foi possível calcular a concentrações de letalidade a 50% (CL50) para nenhum dos poluentes testados (Tabela 2).

Tabela 2 - Concentrações de letalidade a 50% dos pólipos de *Tubastraea coccinea* (CL50 - 24-96h) e Concentrações de Efeito não Observável (CENO) e de Efeito Observável (CEO) das substâncias.

Substâncias	CENO (%)	CEO(%)	CL50 _{24-96h} (%)
LGE-Agefoam 2133	1%	1%	-
FSA Bunker-C	-	-	-
FSA Diesel marítimo	100%	100%	-
FSA Óleo bruto (NE)	-	-	-

(-) Indica que não foi possível calcular

Efeitos subletais como a perda de tecido com a exposição aparente do esqueleto calcário na porção septal de alguns pólipos foram observados apenas a partir da concentração

0,001 para a substância LGE-Agefoam 2133 e na concentração 10% do diesel marítimo (neste caso somente em uma das réplicas). Outro efeito subletal observado foi a fragilidade do esqueleto ao final dos experimentos das substâncias óleo bunker e óleo bruto (amostras do nordeste), quando notou-se que em algumas colônias havia pólipos com o esqueleto quebrado (Figura 3) (Tabela 3). Contudo nenhum dos resultados se mostraram significativos estatisticamente.

Tabela 3 - Concentrações que apresentaram efeitos subletais

Substâncias	Efeitos subletais	
	Perda tecidual	Esqueleto quebrado
LGE-Agefoam 2133	> 0,001	-
FSA Bunker-C	-	100%
FSA Diesel marítimo	10%	-
FSA Óleo bruto (NE)	-	> 0,1%

(-) Indica a que não apresentou o efeito subletal

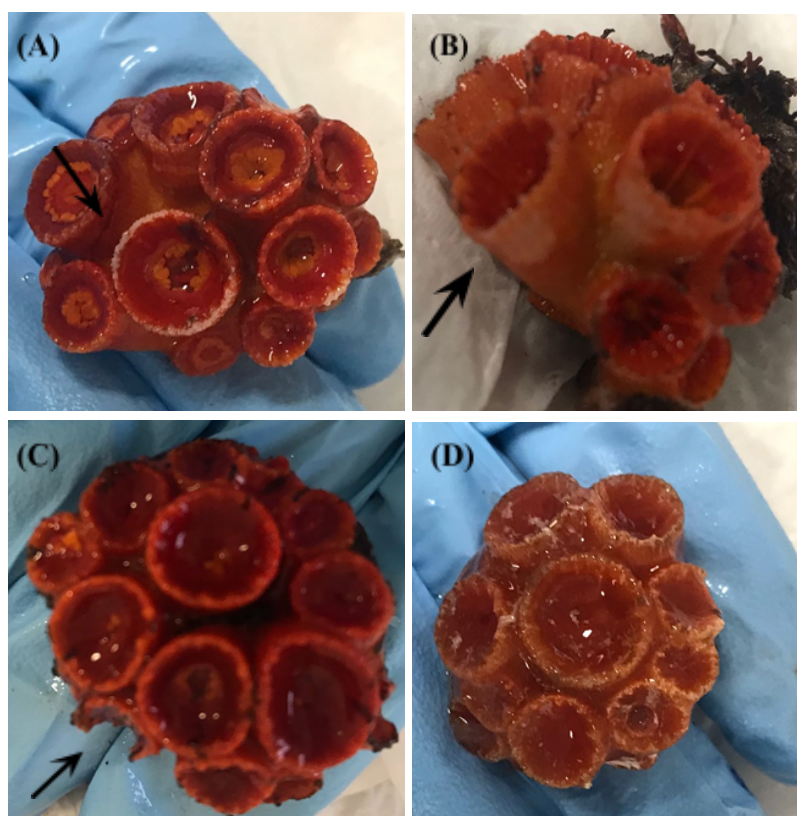
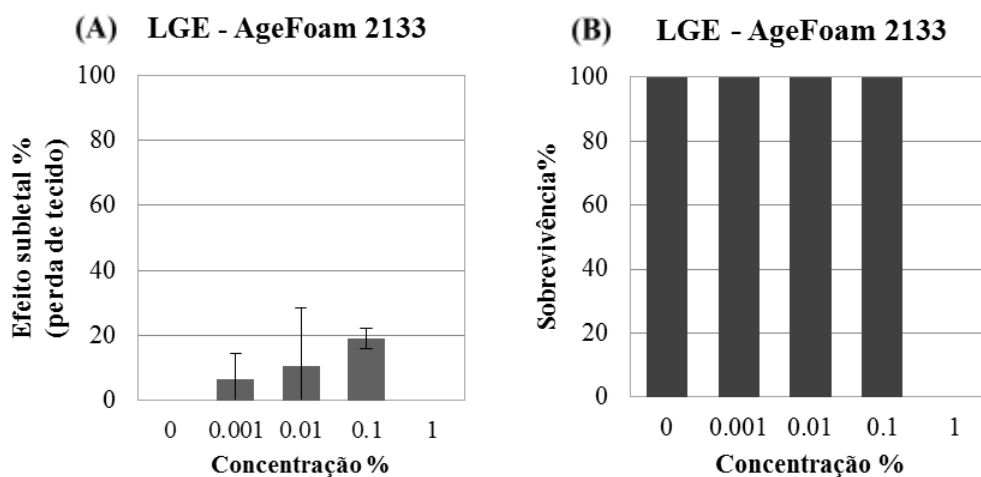




Figura 3. Efeitos observados ao final dos experimentos com *T. coccinea*. (A) – Pólipo com esqueleto aparente na concentração 0,01% do LGE–Agefoam 2133; (B) – Pólipo com esqueleto aparente na concentração 0,001% do LGE–AgeFoam 2133; (C) – Pólipo quebrado na concentração 100% do Bunker; (D) – Pólipo em alto estágio de decomposição na concentração 1% do LGE–Agefoam 2133; (E) – Pólipo em alto estágio de decomposição na concentração 100% do Diesel Marítimo.

Os parâmetros físico-químicos analisados nos ensaios apresentaram-se dentro dos limites aceitáveis para a espécie (Apêndice I). Inclusive, os valores referentes à sobrevivência dos controles apresentaram valores superiores aos limites sugeridos para a espécie.



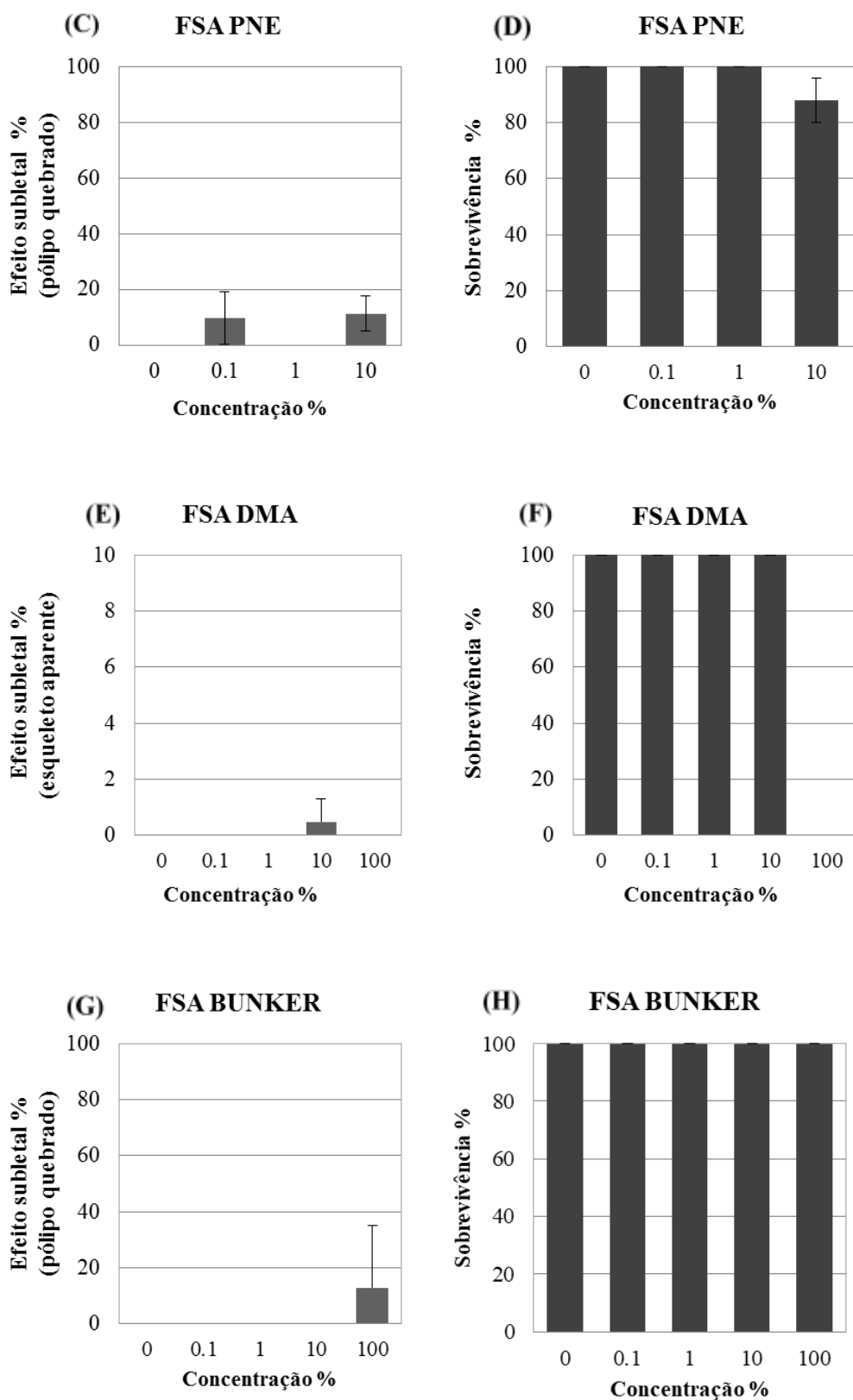


Figura 4. Gráfico com as taxas médias de sobrevivência (%) e dos efeitos subletais (%) com os respectivos desvios padrões de *Tubastraea coccinea* após 96h exposta aos contaminantes. (A) Taxa média do efeito subletal do contaminante LGE–Agefoam 2133; (B) Taxa média de sobrevivência do contaminante LGE–Agefoam 2133;

(C) Taxa média do efeito subletal da Fração Solúvel PNE; (D) Taxa média de sobrevivência da Fração Solúvel PNE; (E) Taxa média do efeito subletal da Fração Solúvel DMA; (F) Taxa média de sobrevivência da Fração Solúvel DMA; (G) Taxa média do efeito subletal da Fração Solúvel do Bunker; (H) Taxa média de sobrevivência da Fração Solúvel do Bunker.

5. Discussão

A pesquisa sobre os impactos do petróleo e seus subprodutos sobre os ambientes recifais, em especial nas comunidades coralíneas, ainda é limitada (Johannes, 1975; Turner & Renegar, 2017). Os resultados obtidos dos testes de mortalidade nas FSA dos óleos sugerem que a espécie *Tubastraea coccinea* é resistente às substâncias testadas, já que a letalidade foi observada apenas na maior concentração (100% e 10%) para duas delas: FSA do diesel marítimo e amostras de petróleo do NE. A FSA do diesel marítimo foi mais tóxica em termos de toxicidade aguda quando comparado ao óleo bunker e a amostra de petróleo do derramamento em 2019 e 2020, que apresentaram efeitos subletais não significativos. Entretanto, a presença de efeitos subletais, após 96h de exposição sugere a possibilidade dessas duas FSA causarem efeitos significativos em períodos mais longos de exposição, o mesmo ocorrendo em concentrações mais baixas da FSA do diesel marítimo. Mais estudos então se fazem necessários para avaliar as respostas de *T. coccinea* a frações solúveis de óleo. Santana *et al.* (2021) encontraram resultados similares para *Artemia salina* utilizando as mesmas substâncias, no qual a FSA do óleo diesel apresentou toxicidade aguda bastante expressiva enquanto o óleo bunker apresentou uma toxicidade crônica.

A espécie *T. coccinea* é considerada cosmopolita, encontrada em todos os oceanos em regiões tropicais e subtropicais em profundidades de até 110 metros, sendo comumente reportada em grande abundância em plataformas de petróleo (Fotheringham, 1981; Sammarco *et al.*, 2004; Creed *et al.*, 2017). Além disso, outros autores relatam o crescimento exponencial do coral-sol em substratos artificiais como portos e marinas em muitas localidades do Atlântico (Sammarco *et al.*, 2004, 2012; Mangelli & Creed 2012; Tanasovici *et*

al., 2020). É de amplo conhecimento que marinas, cais e portos são locais bastante impactados por hidrocarbonetos e surfactantes fluorados (Rezende & Botter, 2004). Deste modo, a presença do coral-sol em alta abundância nessas localidades pode indicar uma certa tolerância do gênero *Tubastraea* à contaminantes. Mais estudos utilizando colônias de locais impactados devem ser realizados, visando comparar sua sensibilidade com a de organismos de locais mais preservados, para averiguação dessa hipótese.

Outros trabalhos com resultados similares com os dados apresentados como Reimer (1975) investigou os corais *Pocillopora damicornis*, *Pavona gigantea*, *Psammocora (Stephanaria) stellata* e *Porites furcata*, indicando que certas espécies podem sobreviver a exposições diretas de curta duração (0.5 - 30 minutos) ao diesel marítimo e bunker. Grant (1970) em seu estudo com o coral *Favia speciosa* não encontrou sinais visíveis de lesão durante seis dias de observações após a exposição ao óleo superficial. Nessa mesma linha, Lewis (1971) estudou experimentalmente o efeito do óleo nos corais expondo várias espécies (*Porites petites*, *Agaricia agaricites*, *Favia fragum* e *Madracis asperula*) ao petróleo bruto de Barbados e Corexit 7664 em diferentes concentrações. Ambos os poluentes não afetam negativamente todos os corais em baixas concentrações (10 e 50 ppm) (Lewis, 1971).

Contudo, observações de curto prazo podem ser enganosas. Embora inicialmente não haja diferenças evidentes entre os controles e as colônias expostas ao óleo, efeitos subletais como a extrusão de algas dinoflageladas simbiotes e a regressão e morte dos tecido podem afetar significativamente os corais em exposições de longa duração, como por exemplo os vazamentos de óleo que muitas vezes ficam por semanas na superfície (Reimer, 1975; Elgershuizen & De Kruijf, 1976). Mesmo que não significativos estatisticamente, foram observados na presente pesquisa efeitos subletais como por exemplo uma maior fragilidade do esqueleto calcário, resultando na quebra de fragmentos do esqueleto de alguns pólipos ao

final do experimento com óleo bunker e amostras do derramamento no Nordeste, e também a perda de tecido na borda de pólipos submetidos aos tratamentos com diesel marítimo.

A fragilidade do esqueleto em corais foi reportada no estudo de Zanotti *et al.* (2021), que descreve o primeiro relato de doença em corais escleractíneos azooxantelados frente a um desequilíbrio da comunidade microbiana associada, cujo o efeito subletal pode estar relacionada com a maior frequência de um gênero bacteriano conhecido por ter capacidade de bioerosão. É descrito na literatura uma relação direta entre a saúde dos corais e sua comunidade simbiote (microrganismos fundamentais) e que condições bióticas e abióticas do meio ambiente podem desencadear o estresse dos corais, desequilibrando essa relação, o que, por sua vez, pode levar a várias doenças do hospedeiro (Apprill *et al.*, 2013; Hernandez-Agreda *et al.*, 2017; Röthig *et al.*, 2017). Essa pode ser uma possível explicação para o enfraquecimento do esqueleto de algumas colônias observado neste trabalho, uma vez que os contaminantes testados podem comprometer a saúde dos corais e/ou de sua microbiota associada.

No trabalho realizado por Reimer (1975) com a espécie *Pocillopora damicornis* mostrou resultados análogos em relação a perda tecidual (efeito subletal) descrito pela presente pesquisa. Em seus experimentos foram comparados os efeitos de diferentes tempos de exposição direta ao diesel marítimo e óleo bunker. No primeiro teste, em que as colônias foram imersas em uma solução com o contaminante por 1 minuto e em seguida colocadas em aquários com água do mar limpa, o óleo diesel demonstrou ser mais tóxico (as colônias perderam quase todo o tecido vivo em 13 dias) em relação ao óleo bunker (no mesmo período 70 - 84 % das colônias apresentaram o mesmo efeito) (Reimer, 1975). Em um segundo teste, apenas com diesel marítimo e com um tempo maior de exposição direta (30 minutos), as colônias apresentaram uma ruptura e descamação do tecido, especialmente nas bordas, em

menos de 24 horas após o início do experimento; após 17 dias, 70% dos pólipos da colônia estavam mortos (Reimer, 1975).

Além disso, o trabalho realizado por Elgershuizen & De Kruijf (1976) com *Madracis mirabilis* discute a magnitude dos efeitos das FSA de óleos em comparação ao óleo bruto, e seus resultados revelam que o dispersante misturado com água do mar foi inicialmente um pouco mais tóxico que os óleos, mas a recuperação das colônias foi mais lenta. Ou seja, os danos permanentes mais intensos foram causados pelo dispersante, em contraste com o efeito dos óleos, que parece ser mais temporário (Elgershuizen & De Kruijf, 1976). Estes achados de certa forma corroboram os resultados obtidos no presente estudo, inclusive sugerindo que alguns efeitos ocorrem em longo prazo.

Outro aspecto pertinente são os impactos na relação simbiótica dos corais com as algas dinoflageladas. É comprovado que a exposição e a bioacumulação de hidrocarbonetos em corais zooxantelados podem tanto causar a extrusão em massa, como também diminuir a taxa de crescimento ou até mesmo levar à morte dessas algas simbiontes (Reimer, 1975; Cook, 1983; Müller, et al., 2021). Contudo, no estudo de Reimer (1975) apesar dos níveis significativos de branqueamento observado nas colônias que foram imersas por apenas 0.5 minutos em soluções com dois tipos de combustível marítimo, (dentro de 5-13 dias após a exposição ao óleo), todas as colônias se recuperaram em um mês (Reimer, 1975). Porém, grandes desastres como o ocorrido entre 2019 e 2020 na costa brasileira carecem de estudos sobre o impacto resultante da longa exposição aos contaminantes, especialmente as respostas a longo prazo.

Além disso, fica evidente que pesquisas visando detectar e quantificar os efeitos tóxicos do petróleo e seus subprodutos sobre fauna coralínea brasileira são extremamente escassas. Somente a Petrobras no ano de 2020 registrou vazamentos de cerca de 216,5 m³ de petróleo e derivados, no qual, segundo seu Relatório de Sustentabilidade (2020), equivale

aproximadamente a um volume de 217.000 mil litros. Outro ponto agravante é que 98% desses vazamentos foram em ambientes marinhos e costeiros. Ainda neste mesmo relatório, consta que o volume médio vazado por outras empresas do setor de óleo e gás em 2019 é de cerca de 616,8 m³, não incluindo derivações clandestinas, o que aumenta ainda mais a preocupação em relação à saúde dos ecossistemas marinhos e costeiros brasileiros (Petrobras, 2020). Esses dados ressaltam a necessidade urgente de geração de informações básicas sobre os efeitos tóxicos do óleo em corais para conservação e proteção das espécies, principalmente aquelas endêmicas.

No teste com o LGE-Agefoam 2133 também foi observada a perda tecidual em alguns pólipos a partir da menor concentração do poluente (0.001%), sendo que na maior concentração (1%) houve a degradação total dos tecidos levando a morte das colônias a partir de 48h de experimento. Sabe-se que os LGE, por conterem substâncias tensoativas na sua composição, têm o potencial de dissolver os corpos de organismos menores (Cara *et al.*, 2021; Carvalho *et al.*, 2019; da Silva *et al.*, 2019). A exposição às substâncias tensoativas produz desestruturação física das membranas celulares (por dissolução) e/ou aumento da permeabilidade, provocando morte celular e degradação de tecidos (Lewis, 1992).

No Brasil, o comércio de LGE não é controlado e as diluições de uso recomendadas variam entre 1 e 3%, de acordo com o fabricante. No entanto, os resultados obtidos para *Tubastraea coccinea* mostram que os LGE são capazes de causar efeitos tóxicos aos organismos em diluições até mil vezes menores do que as recomendadas (diluições testadas de 0,001%), resultados que são compatíveis com aqueles reportados para efeitos de LGE em microinvertebrados (Cara *et al.*, 2021; Carvalho *et al.*, 2019; da Silva *et al.*, 2019). Além disso, uma diversidade de estudos apontam a bioacumulação, transferência trófica e toxicidade de longo prazo para os componentes tóxicos presentes nos LGE em outras espécies (Conder, *et al.*, 2008; Langberg, *et al.*, 2019). Sendo assim, destaca-se a necessidade de

reavaliar as normas de regulamentação acopladas à realização de mais estudos para compreender o efeito desse poluente em outras espécies coralíneas.

Outro fator importante em relação aos LGE diz respeito ao fato destas formulações comerciais serem misturas complexas de uma grande quantidade de substâncias, das quais se destacam os ácidos perfluorooctanóicos (PFOA) e o sulfato de perfluorooctano (PFOS) (Parsons *et al.*, 2008). Embora as substâncias per- e polifluoroalquiladas sejam encontradas frequentemente em concentrações muito baixas no meio ambiente de maneira individual, isto é, cada uma de maneira isolada para causar efeitos perigosos, a ocorrência de suas misturas em combinação com a exposição crônica/subcrônica de longo prazo pode ser uma preocupação ambiental significativa (Ahrens & Bundschuh, 2014).

No caso da espuma testada (Agefoam 2133), utilizada em decorrência do incêndio no Terminal Petroquímico de armazenamento de combustíveis da empresa Ultracargo em 2019, os resultados significativos para *T. coccinea* foram apenas na maior concentração (1%), que causaram a mortalidade total das colônias. Daniel *et al.* (2021) aponta, para a mesma substância, uma alta sensibilidade para outros invertebrados marinhos, como *Artemia* sp. e embriões de *Echinometra lucunter*. No teste com *Artemia* sp. os primeiros efeitos tóxicos observados foram na concentração 0,01%, já nos embriões de *E. lucunter* foram observados efeitos a partir da concentração mais baixa utilizada (0,0001%), no qual houve um comprometimento do desenvolvimento embrionário e causando aumento na incidência de anormalidades (Daniel, *et al.*, 2021). Por outro lado, experimentos feitos pelo nosso grupo de pesquisa com peixes da espécie *Poecilia vivipara* evidenciaram efeitos letais somente nas concentrações mais altas, de modo similar ao presente estudo (e dados ainda não publicados).

O mesmo estudo de Daniel *et al.* (2021) observou os efeitos tóxicos em *Artemia* sp. a partir de misturas binárias de LGEs com FSA de gasolina. No caso da espuma Agefoam 2133, seus resultados indicam que dependendo da composição da mistura (quantidade de cada

uma das partes de LGE e FSA da gasolina) ela pode apresentar um sinergismo (quando o efeito é mais severo do que o esperado) ou antagonismo (quando o efeito é mais baixo do que o esperado), com predomínio das interações sinérgicas. Portanto, a magnitude e a duração dos impactos causados vai além dos resultados apresentados por conta das potenciais interações entre os contaminantes envolvidos e também aqueles já presentes no ambiente, produzindo assim um cenário de alta ameaça aos ecossistemas locais.

A fim de potencialmente usar a espécie *T. coccinea* para monitoramento de exposição e recuperação de derramamento de óleo (ou outro poluente), e considerando que esta espécie invasora tende a se adaptar e ocorrer em grande abundância em território brasileiro, mais estudos são necessários, envolvendo a determinação de mais endpoints de saúde (ou seja, visual e parâmetros gerais e de crescimento) incluindo aspectos fisiológicos, histopatológicos, bioquímicos, e moleculares, entre outros, assim como a capacidade de bioacumular contaminantes químicos.

6. Conclusão

De maneira geral, a espécie *Tubastraea coccinea* demonstrou alta tolerância à exposição a poluentes químicos (frações solúveis de óleo e LGE). Efeitos de letalidade foram observados após a exposição à FSA do diesel marítimo e ao LGE Agefoam 2133, nas concentrações mais altas. Para estas substâncias, as CEO foram, respectivamente, 100% e 1%. Além disso, evidenciou-se a presença de efeitos subletais (exposição aparente do esqueleto calcário na porção septal de alguns pólipos e fragilidade do esqueleto) em concentrações mais baixas, assim como entre os organismos expostos à FSA do óleo do NE. São ainda necessários mais estudos avaliando os efeitos a médio a longo prazo, bem como com outros endpoints subletais ou sub-individuais, de modo a fornecer assim informações mais detalhadas sobre a sensibilidade de coral-sol. Ainda assim, os resultados obtidos

indicam que concentrações até mil vezes menores que o recomendado para o comércio de LGE já são capazes de causar efeitos negativos no coral-sol, destacando-se a importância de reavaliar a regulamentação desse poluente. Por fim, os achados relatados neste estudo ampliam o nosso conhecimento acerca dos impactos dos derramamentos de óleo, subprodutos e contaminantes associados em ambientes recifais brasileiros, considerando que o uso de coral-sol evita a necessidade de coleta e experimentação com espécies nativas.

7. Referências

ABNT. (2007). NBR 15.469: Ecotoxicologia aquática - Preservação e preparo de amostras. Rio de Janeiro, p.7.

Ahrens, L., & Bundschuh, M. (2014). Fate and effects of poly- and perfluoroalkyl substances in the aquatic environment: A review. *Environmental toxicology and chemistry*, 33(9), 1921-1929. Disponível em: <https://doi.org/10.1002/etc.2663>

Alford, J.; Peterson, M.; Green, C. (2015). Impacts of Oil Spill Disasters on Marine Habitats and Fisheries in North America. *CRC Press*, Boca Raton. Disponível em: <https://www.jstor.org/stable/24642327>

Ali, L.N.; Mantourab, R.F.; Rowland, S.J. (1995). The dissolution and photodegradation of Kuwaiti crude oil in seawater. Part 2: a laboratory photodegradation apparatus and photo-degradation kinetics of a model seawater soluble hydrocarbon (phenanthrene). *Mar. Environ. Res.*, 40:319-335. Disponível em: [https://doi.org/10.1016/0141-1136\(94\)00149-J](https://doi.org/10.1016/0141-1136(94)00149-J)

Anderson, J.W., et al. (1974). Characteristics of dispersions and water-soluble extracts of crude and refined oils and their toxicity to estuarine crustaceans and fish. *Mar. Biol.* 27:75-88. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/BF00394763>

Apprill, A., Marlow, H. Q., Martindale, M. Q., & Rappé, M. S. (2012). Specificity of associations between bacteria and the coral *Pocillopora meandrina* during early development. *Applied and environmental microbiology*, 78(20), 7467-7475. Disponível em: <https://doi.org/10.1128/AEM.01232-12>.

Banha, T.N.S., et al. (2019). Low coral mortality during the most intense bleaching event ever recorded in subtropical Southwestern Atlantic reefs. *Coral Reefs*. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/s00338-019-01856-y>

Barbier, E.B., et al. (2011) The value of estuarine and coastal ecosystem services. *Ecological Monographs*, 81:169–193. Disponível em: <https://doi.org/10.1890/10-1510.1>

Barreto, M. O. S. M. S. (2021). Subsídios para o plano controle da invasão do Coral-Sol (*Tubastraea coccinea* Lesson, 1829) na Reserva Biológica Marinha do Arvoredo e entorno: Efeitos sobre a comunidade nativa, modelagem da adequabilidade de habitat e dispersão de propágulos.

Barros, G.M., & Pompei, C. (2015) Monitoramento Extensivo e Manejo do Coral-Sol *Tubastraea* spp.(Cnidaria, Anthozoa) na Estação Ecológica de Tamoios, RJ, BRASIL.

Barron, M. G., Podrabsky, T., Ogle, S., & Ricker, R. W. (1999). Are aromatic hydrocarbons the primary determinant of petroleum toxicity to aquatic organisms?. *Aquatic Toxicology*, 46(3-4), 253-268. [https://doi.org/10.1016/S0166-445X\(98\)00127-1](https://doi.org/10.1016/S0166-445X(98)00127-1)

Bozelli, R. L. et al. (2008) Impactos ambientais da exploração e produção de petróleo na Bacia de Campos, RJ. Brasília, IV Encontro Nacional da Anppas.

Braga, M.D.A., et al. (2021). Retirement risks: Invasive coral on old oil platform on the Brazilian equatorial continental shelf. *Mar. Pollut. Bull.*, 165:112-156. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2021.112156>

Bremaeker, F.E.J. de. (2003). Implicações dos movimentos migratórios dos municípios no período 1980-1991. ABEP.

Brum, H.D.; Campo-Silva, J.V.; Oliveira, E.G. (2020). Brazil oil spill response: government inaction. *Sci.*, 367:155-156. Disponível em: <https://doi.org/10.1126/science.aba0369>

Burke, L., et al. (2011). Reefs at risk revisited. *World Resources Institute*.

Cairns, S.D. (1994). Scleractinia of the temperate north Pacific. *Smithson Contrib Zool* 557:1-150.

Cairns, S.D. (2000). A revision of the shallow-water azooxanthellate Scleractinia of the Western Atlantic. *Studies on the Fauna of Curacao and other Caribbean Islands*.

Cajaraville, M.P., et al. (2000). The use of biomarkers to assess the impact of pollution in coastal environments of the Iberian Peninsula: a practical approach. *The Sci. of the Total Environ.* 247:295-311. Disponível em: [https://doi.org/10.1016/S0048-9697\(99\)00499-4](https://doi.org/10.1016/S0048-9697(99)00499-4)

Capel, K.C.C. (2012). Scleractinia (Cnidaria: Anthozoa) da Reserva Biológica Marinha do Arvoredo (SC), com ênfase na estrutura espaço temporal da formação mais meridional de corais recifais no Oceano Atlântico. (Universidade Federal de Santa Catarina).

Capel, K.C.C., et al. (2014) ‘Another tool towards invasion? Polyp “bail-out” in *Tubastraea coccinea*’. *Coral Reefs*, 33(4):1165.

Capel, K.C.C., et al. (2019). Multiple introductions and secondary dispersion of *Tubastraea* spp. in the Southwestern Atlantic. *Scientific reports*, 9(1):1-11. Disponível em: <https://doi.org/10.1038/s41598-019-50442-3>

Cara, Á. L., et al. (2021). Could Aqueous Film-Forming Foams (AFFFs) and Encapsulator Agents (EAs) Interfere on the Reproduction and Growth of *Daphnia similis*?. *Water, Air, & Soil Pollution*, 232(10), 1-9. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/s11270-021-05362-2>

Carvalho, M.U., et al. (2019). Chronic effects of fires suppressors on the reproduction of the copepod *Nitocra* sp. *Revista de Ciências Agrícolas*, 36(SPE), 82-94. Disponível em: <https://doi.org/10.22267/rcia.1936e.109>

Capone, D. G. and Bauer, J. E. (1992) *Environmental Microbiology*, Clarendon Press, Oxford.

Castro, C.B. & Pires, D. (2001). Brazilian coral reefs: what we already know and what is still missing. *Bull. Mar. Sci.* 69:357-371.

Cerqueira, W.R.P., et al. (2020). Registro de petróleo em poríferos e cnidários durante o impacto agudo de derramamento no Nordeste brasileiro em 2019. *Scientia Plena*, 16(8). Disponível em: <https://doi.org/10.14808/sci.plena.2020.088001>

Chang, J.I. & Lin, C.C. (2006). A study of storage tank accidents. *Journal of loss prevention in the process industries*, 19(1):51–59. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.jlp.2005.05.015>

Cook, C. B., & Knap, A. H. (1983). Effects of crude oil and chemical dispersant on photosynthesis in the brain coral *Diploria strigosa*. *Marine Biology*, 78(1), 21-27. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/BF00392967>

Conder, J.M., et al. (2008). Are PFCAs bioaccumulative? A critical review and comparison with regulatory criteria and persistent lipophilic compounds. *Environmental science & technology*, 42(4), 995-1003. Disponível em: <https://doi.org/10.1021/es070895g>

Connel, D.W. & Miller, G.J. (1981). Petroleum hydrocarbons in aquatic ecosystems - behaviour and effects of sublethal concentrations. *Critical Reviews in Environmental Control*, v.11, p.37-104.

CONSEMA (2006) - Conselho Estadual do Meio Ambiente. Resolução n.º 129, de 24 de novembro de 2006. Secretaria do Meio Ambiente do Estado do Rio Grande do Sul, Porto Alegre.

Cordeiro, F. F. (2016). Atributos que influenciam a decisão de compra de combustível marítimo (bunker) no Brasil (Doctoral dissertation).

Costa, T.J., et al. (2014). Expansion of an invasive coral species over Abrolhos Bank, Southwestern Atlantic. *Mar. Pollut. Bull.*, 85:252–253. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2014.06.002>

Creed, J.C. (2006). Two invasive alien azooxanthellate corals, *Tubastraea coccinea* and *Tubastraea tagusensis*, dominate the native zooxanthellate *Mussismilia hispida* in Brazil. *Coral Reefs*, 25:350. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/s00338-006-0105-x>

Creed, J.C., et al. (2017). The invasion of the azooxanthellate coral *Tubastraea* (Scleractinia: Dendrophylliidae) throughout the world: history, pathways and vectors. *Bio. Invas.*, 19(1):283-305. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/s10530-016-1279-y>

Daly, M.; Fautin, D.G.; Cappola, V.A. (2003). Systematics of the hexacorallia (Cnidaria: Anthozoa). *Zoo. Jour. Linnean Socie.*, 139(3):419-437. Disponível em: <https://doi.org/10.1046/j.1096-3642.2003.00084.x>

Daniel, G., et al. (2021). Fire Suppression Agents combined with gasoline in aquatic ecosystems: a mixture approach. *Environ. Toxicol. Chemist.*, 40(3): 767779. Disponível em: <https://doi.org/10.1002/etc.4889>

da Silva., et al. (2019). Aqueous Film Foam Formings (AFFF) are very toxic to aquatic microcrustaceans. *Water, Air, & Soil Pollut.*, 230: 260. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/s11270-019-4291-x>

de Paula, A.F. & Creed, J.C. (2004). Two Species of the Coral *Tubastraea* (Cnidaria, Scleractinia) in Brazil: a Case of Accidental Introduction. *Bull. Mar. Sci.*, 74(1):175-183.

de Paula, A.F. & Creed, J.C. (2005). Spatial distribution and abundance of nonindigenous coral genus *Tubastraea* (Cnidaria, Scleractinia) around Ilha Grande, Brazil. *Brazil Journal of Biology*, 65.

de Paula, A.F.; Pires, D.O.; Creed, J.C. (2014). Reproductive strategies of two invasive sun corals (*Tubastraea* spp.) in the southwestern Atlantic. *Jour. Mar. Biol. Associat. United Kingdom*, 94:481-492. Disponível em: <https://doi.org/10.1017/S0025315413001446>

Elgershuizen, J. H. B. W., & De Kruijf, H. A. M. (1976). Toxicity of crude oils and a dispersant to the stony coral *Madracis mirabilis*. *Marine pollution bulletin*, 7(2), 22-25. Disponível em: [https://doi.org/10.1016/0025-326X\(76\)90305-2](https://doi.org/10.1016/0025-326X(76)90305-2)

Escobar, H. (2019). Mysterious oil spill threatens marine biodiversity haven in Brazil. *Science*.

Farah, M.A. (2013). Petróleo e seus derivados: definição, constituição, aplicação, especificações e características de qualidade. Rio de Janeiro, RJ.

Farias, R.F. de. (2008). Introdução à química do petróleo. Ciência Moderna; Rio de Janeiro, RJ.

Ferreira, B.P. & Maida, M. (2006). Monitoramento dos recifes de coral do Brasil. Brasília, DF: MMA, Secretaria de Biodiversidade e Florestas.

Figueiredo, J.; Loureiro, S.; Martins, R. (2020). Hazard of novel anti-fouling nanomaterials and biocides DCOIT and silver to marine organisms. *Environ. Sci.: Nano*, 7(6):1670-1680. Disponível em: <https://doi.org/10.1039/D0EN00023J>

Fingas, M. (2015). Oil and Petroleum Evaporation. *Handbook of Oil Spill Sci Tech*, 205-223.

Fontes, M.K.; Maranho, L.A.; Pereira, C.D.S. (2020). Review on the occurrence and biological effects of illicit drugs in aquatic ecosystems. *Environ.l Sci. Pollut. Res.*, 1-37. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/s11356-020-08375-2>

Fotheringham, N. (1981). Observations on the effects of oil field structures on their biotic environment: platform fouling community. In *Environmental Effects of Offshore Oil Production* (pp. 179-208). Springer, Boston, MA. Disponível em: https://doi.org/10.1007/978-1-4684-1110-2_8

French, D. P. (1991). Estimation of exposure and resulting mortality of aquatic biota following spills of toxic substances using a numerical model. In *Aquatic Toxicology and Risk Assessment: Fourteenth Volume*. ASTM International.

Girling, A.E.; Markarian, R.K., & Bennett, D. (1992). Aquatic toxicity testing of oil products-some recommendations. *Chemosphere*, 24(10), 1469-1472. Disponível em: [https://doi.org/10.1016/0045-6535\(92\)90268-V](https://doi.org/10.1016/0045-6535(92)90268-V)

Glynn, P.W., et al. (2008). Reproductive ecology of the azooxanthellate coral *Tubastraea coccinea* in the Equatorial Eastern Pacific: Part V. Dendrophylliidae. *Mar. Bio.*, 153:529-544. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1007/s00227-008-0926-y>

Grant, E. M. (1970). Notes on an experiment upon the effect of crude oil on live corals.

Guerranti, C., et al. (2019). Microplastics in cosmetics: Environmental issues and needs for global bans. *Environ. toxicol. Pharmacol.*, 68:75-79. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.etap.2019.03.007>

Guilhem, I.F., Masi, B.P., & Creed, J.C. (2020). Impact of invasive *Tubastraea* spp.(Cnidaria: *Anthozoa*) on the growth of the space dominating tropical rocky-shore zoantharia *Palythoa caribaeorum* (Duchassaing and Michelotti, 1860). *Aquatic Invasions*, 15(1).

Guo, L.G., et al. (2010). Evaluation on biodegradability of hydrocarbon biomarkers in two crude oils under laboratory conditions. *Huan Jing Ke Xue* 31:1897-1903.

Gulkowska, A., et al. (2006). Persistent perfluorinated acids in seafood collected from two cities of China. *Environ. Sci. Tech.*, 40(12):3736-3741. Disponível em: <https://doi.org/10.1021/es060286t>

Heath, A.G. (1995). Water Pollution and Fish Physiology. 2nd Ed. *Lewis Publishers*.

Hennessey, S.M. & Sammarco, P.W. (2014). Competition for space in two invasive Indo-Pacific corals - *Tubastraea micranthus* and *Tubastraea coccinea*: Laboratory experimentation', *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*. *Else. B.V.*, 459(43):144-150. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.jembe.2014.05.021>

Hernandez-Agreda, A., Gates, R. D., & Ainsworth, T. D. (2017). Defining the core microbiome in corals' microbial soup. *Trends in Microbiology*, 25(2), 125-140. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.tim.2016.11.003>

IEA – International Energy Agency. (2011). World Energy Outlook. November 2011.

ICMBio/MMA. (2018). Livro Vermelho da Fauna Brasileira Ameaçada de Extinção: Volume VII – Invertebrados. 1(7). Brasília, DF.

ICMBio/MMA. (2019). Plano Nacional de Prevenção, Controle e Monitoramento do Coral-sol (*Tubastraea* spp.) no Brasil. Brasília, DF.

Johannes, R.E. (1975). Pollution and degradation of coral reef communities. In *Elsev. Ocean. Series*, 12:13-51. Disponível em: [https://doi.org/10.1016/S0422-9894\(08\)71107-3](https://doi.org/10.1016/S0422-9894(08)71107-3)

Johnston, E.L. & Roberts, D.A. (2009). Contaminants reduce the richness and evenness of marine communities: a review and meta-analysis. *Environ. Pollut.*, 157:1745-1752. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2009.02.017>

Kataoka, A.P.A.G. (2001). Biodegradação de resíduo oleoso de refinaria de petróleo por microrganismos isolados de “landfarming”. Rio Claro, Brasil (PhD Thesis - IB, Unesp).

Katsumiti, A., et al. (2008). An assessment of acute biomarker responses in the demersal catfish (*Cathorops spixii*) after the Vicuña Oil Spill in a harbour estuarine area in Southern Brazil. *Environ Monitoring and Assessment*, 152(1):209-222. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/s10661-008-0309-3>

Kissa, E. (Ed.). (2001). Fluorinated surfactants and repellents (Vol. 97). CRC Press.

Kingston, P.F. (2002). Long-term environmental impact of oil spills. *Spill Science & Technology Bulletin*, 7(1-2), 53-61. Disponível em: [https://doi.org/10.1016/S1353-2561\(02\)00051-8](https://doi.org/10.1016/S1353-2561(02)00051-8)

Kokushi, E.; Uno, S.; Harada, T.; Koyama, J. (2012). ¹H NMR-Based Metabolomics approach to assess toxicity of Bunker a heavy oil to freshwater carp, *Cyprinus carpio*. *Environ Toxicol* 27:404–414.

Lages, B.G., et al. (2011). Change in tropical rocky shore communities due to an alien coral invasion. *Mar. Ecol. Prog. Series*, 438:85-96. Disponível em: <https://doi.org/10.3354/meps09290>

Lari, E.; Abtahi, B.; Hashtroudi, M.S. (2016) The effect of the water soluble fraction of crude oil on survival, physiology and behaviour of Caspian roach, *Rutilus caspicus* (Yakovlev, 1870). *Aquat Toxicol* 170:330–334. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.aquatox.2015.09.003>

Langberg, H. A., et al. (2019). Bioaccumulation of fluorotelomer sulfonates and perfluoroalkyl acids in marine organisms living in aqueous film-forming foam impacted waters. *Environmental science & technology*, 53(18), 10951-10960. Disponível em: <https://doi.org/10.1021/acs.est.9b00927>

Leão, Z.M.; Kikuchi, R.K.; Testa, V. (2003). Corals and coral reefs of Brazil. In Latin American coral reefs. *Elsev. Sci.*, 9-452. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/B978-044451388-5/50003-5>

Leão, Z.M., et al. (2016). Brazilian coral reefs in a period of global change: a synthesis. *Braz. J. Oceanogr.*, 64:97-116. Disponível em: <https://doi.org/10.1590/S1679-875920160916064sp2>

Lewis, J. B. (1971). Effect of crude oil and an oil-spill dispersant on reef corals. *Marine pollution bulletin*, 2(4), 59-62. Disponível em: [https://doi.org/10.1016/0025-326X\(71\)90211-6](https://doi.org/10.1016/0025-326X(71)90211-6)

Lourenço, R.A., et al. (2020). Mysterious oil spill along Brazil's northeast and southeast seaboard (2019–2020): Trying to find answers and filling data gaps. *Mar. Pollut. Bull.*, 156:111219. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2020.111219>

Luz, B.L.P. & Kitahara, M.V. (2017). Could the invasive scleractinians *Tubastraea coccinea* and *T. tagusensis* replace the dominant zoantharia *Palythoa caribaeorum* in the Brazilian subtidal? *Coral Reefs*, 36:875. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/s00338-017-1578-5>

Luz, B.L.P. *et al.* (2018). A polyp from nothing: The extreme regeneration capacity of the Atlantic invasive sun corals *Tubastraea coccinea* and *T. tagusensis* (Anthozoa, Scleractinia). *Jour. Experim. Mar. Biol. Ecol.*, 503:60-65. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.jembe.2018.02.002>

Luz, B.L.P., *et al.* (2020). Life-history traits of *Tubastraea coccinea*: Reproduction, development, and larval competence. *Ecol. Evol.*, 10(13):6223-6238. Disponível em: <https://doi.org/10.1002/ece3.6346>

Mies, M., *et al.* (2020). South Atlantic coral reefs are major global warming refugia and less susceptible to bleaching. *Frontiers in Mar. Sci.*, 7:514. Disponível em: <https://doi.org/10.3389/fmars.2020.00514>

Magris, R.A. & Giarrizzo, T. (2020). Mysterious oil spill in the Atlantic Ocean threatens marine biodiversity and local people in Brazil. *Mar. Pollut. Bull.*, 153:110961. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2020.110961>

Mangelli, T. S., & Creed, J. C. (2012). Análise comparativa da abundância do coral invasor *Tubastraea* spp:(Cnidaria, Anthozoa) em substratos naturais e artificiais na Ilha Grande, Rio de Janeiro, Brasil. *Iheringia. Série Zoologia*, 102, 122-130.

MARPOL 73/78 – Anexo II. Regras para o controle da poluição por substâncias líquidas nocivas a granel.

Martin, J.W., *et al.* (2003). Bioconcentration and tissue distribution of perfluorinated acids in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Environ. Toxicol. Chemist.: An International Journal*, 22(1):196-204. Disponível em: <https://doi.org/10.1002/etc.5620220126>

Marques, Jr. A.N.; Moraes, R.B.C.; Maurat, M.C. (2009). Poluição marinha. In: Pereira, R.C. Soares-Gomes, A. *Biologia Marinha*. Rio de Janeiro: *Interciência*, 14:505-528.

MMA. (2000). Avaliação e ações prioritárias para a conservação da biodiversidade da Zona Costeira. Instituto Chico Mendes de Conservação da Biodiversidade (ICMBio). Brasília.

Miranda, R. J., *et al.* (2018). Impact of invasive corals *Tubastraea* spp. on native coral recruitment. *Marine Ecology Progress Series*, 605, 125-133. Disponível em: <https://doi.org/10.3354/meps12731>

Moody, C. A. & Field, J. A. (2000). Perfluorinated surfactants and the environmental implications of their use in fire-fighting foams. *Environ. Sci. & Techn.*, 34(18), 3864-3870. Disponível em: <https://doi.org/10.1021/es991359u>

Moraes, R., et al. (2001). Efeitos de poluentes em organismos marinhos. *Arte & Ciência*.

Moreira, T.S., & Creed, J.C. (2012). Invasive, non-indigenous corals in a tropical rocky shore environment: No evidence for generalist predation. *Jour. Experi. Mar. Biol. Ecol.*, 438, 7-13. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.jembe.2012.09.015>

Müller, M. N., et al. (2021). Cellular accumulation of crude oil compounds reduces the competitive fitness of the coral symbiont *Symbiodinium glynnii*. *Environmental Pollution*, 289, 117938. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2021.117938>

Neff, J.M. (1980). Polycyclic aromatic hydrocarbons in the aquatic environment. *Biol. Conserv.*; (United Kingdom), 18(1).

Neff, J.M. (1985). Polycyclic aromatic hydrocarbons. In: RAND, G. M. AND S. R. PETROCELLI. *Fundamentals Aquatic Toxicology*. Bristol, PA: Taylor & Francis, p.416-454.

Nipper M. (2000). Current approaches and future directions for contaminant-related impact assessments in coastal environments: Brazilian perspective. *Aquat. Ecosyst. Health Manag. Socie.*, 3:433-447. Disponível em: <https://doi.org/10.1080/14634980008650680>

Oigman-Pszczol, S., et al. (2017). O controle da invasão do coral-sol no Brasil não é uma causa perdida. *Ciência e Cultura*, 69(1), 56-59. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.21800/2317-66602017000100019>

Paixão, J. F. D., et al. (2007). Estimating the gasoline components and formulations toxicity to microalgae (*Tetraselmis chuii*) and oyster (*Crassostrea rhizophorae*) embryos: an approach to minimize environmental pollution risk. *Environmental Research*, 103(3), 365-374. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.envres.2006.06.015>

Parolini, M., et al. (2013). Sub-lethal effects caused by the cocaine metabolite benzoylecgonine to the freshwater mussel *Dreissena polymorpha*. *Sci. Total Environ.* 444:43-50. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2012.11.076>

Parolini, M., et al. (2016). Genotoxic effects induced by the exposure to an environmental mixture of illicit drugs to the zebra mussel. *Ecotoxicol. Environ. Saf.*, 132:26-30. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2016.05.022>

Parsons, J.R., Saez, M., Dolfing, J. & De Voogt, P. (2008). Biodegradation of perfluorinated compounds. *Reviews of Environmental Contamination and Toxicology*. 196(1): 53–71. Disponível em: http://dx.doi.org/10.1007/978-0-387-78444-1_2

Pereira T. M., et al. (2018) Effects of the watersoluble fraction of diesel oil (WSD) on the fertilization and development of a sea urchin (*Echinometra lucunter*). *Ecotox Environ Safe* 162:59–62. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2018.06.040>

Pereira-Filho, G. H., et al. (2019). The southernmost Atlantic coral reef is off the subtropical island of Queimada Grande (24°S), Brazil. *Bull. Mar. Sci.* 1:1. Disponível em: <https://doi.org/10.5343/bms.2018.0056>

Pont, G.D. (2012). Toxicidade do óleo diesel para o peixe *Astyanax Altiparanae*.

Reimer, A.A. (1975). Effects of crude oil on corals. *Marine Pollution Bulletin*, 6, 39-43. Disponível em: [https://doi.org/10.1016/0025-326X\(75\)90297-0](https://doi.org/10.1016/0025-326X(75)90297-0)

Rezende, J. H., & Botter, R. C. (2004). Programa de Gestão de Resíduos e Efluentes para marinas de águas interiores, terminais hidroviários de passageiros e embarcações de turismo e lazer em reservatórios. *Revista Engenharia Sanitária e Ambiental*,

Rodrigues, R. V., et al. (2010). Deleterious effects of water-soluble fraction of petroleum, diesel and gasoline on marine pejerrey *Odontesthes argentinensis* larvae. *Science of the Total Environment*, 408(9), 2054-2059. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2010.01.063>

Röthig, T., Yum, L. K., Kremb, S. G., Roik, A., & Voolstra, C. R. (2017). Microbial community composition of deep-sea corals from the Red Sea provides insight into functional adaption to a unique environment. *Scientific Reports*, 7(1), 1-9. Disponível em: <https://doi.org/10.1038/srep44714>

Saá, A. C. A., et al. (2020). Unraveling interactions: do temperature and competition with native species affect the performance of the non-indigenous sun coral *Tubastraea coccinea*?. *Coral Reefs*, 39(1), 99-117. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/s00338-019-01870-0>

Sammarco, P. W., Atchison, A. D., & Boland, G. S. (2004). Expansion of coral communities within the Northern Gulf of Mexico via offshore oil and gas platforms. *Marine Ecology Progress Series*, 280, 129-143.

Sammarco, P. W., Brazeau, D. A., & Sinclair, J. (2012). Genetic connectivity in scleractinian corals across the northern Gulf of Mexico: oil/gas platforms, and relationship to the Flower Garden Banks. *PloS one*, 7(4). Disponível em: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0030144>

Santana, D. C. N., et al. (2021). Levels of hydrocarbons and toxicity of water-soluble fractions of maritime fuels on neotropical invertebrates. *Ecotoxicology*, 30(10). Disponível em: <https://doi.org/10.1007/s10646-021-02486-3>

Sardi, A.E. (2017). Biomonitoring and risk assessment tools to manage impact of diesel oil in tropical coastal habitats. Disponível em: <https://hdl.handle.net/10037/11169>

Schmidt-Etkin, D. (2011). Spill Occurrences: A World Overview. In: Oil Spill Science and Technology. Boston: *Gulf Professional Publishing*, 7-48. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/B978-1-85617-943-0.10002-4>

Silva, R., et al. (2019). Sun coral invasion of shallow rocky reefs: effects on mobile invertebrate assemblages in Southeastern Brazil. *Biological Invasions*, 21(4), 1339-1350. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/s10530-018-1903-0>

Speight, J.G. (2011). Production, properties and environmental impact of hydrocarbon fuel conversion. *Advances in Clean Hydrocarbon Fuel Processing*, 54–82. Disponível em: <https://doi.org/10.1533/9780857093783.1.54>

Speight, J. G., & El-Gendy, N. S. (2017). Introduction to petroleum biotechnology. *Gulf Professional Publishing*.

Spies, R.B. (1987). The biological effects of petroleum hydrocarbons in the sea: assessments from the field and microcosms. Long-term environmental effects of offshore oil and gas development, 411.

Solla, S.R.; Silva, A.O.; Letcher, R.J. (2012). Highly elevated levels of perfluorooctane sulfonate and other perfluorinated acids found in biota and surface water downstream of an international airport, Hamilton, Ontario, Canada. *Environ int*, 39(1):19–26. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.envint.2011.09.011>

Suja, F.; Pramanik, B.K.; Zain, S.M. (2009). Contamination, bioaccumulation and toxic effects of perfluorinated chemicals (PFCs) in the water environment: a review paper. *Water Sci Tech*, 60(6):1533. Disponível em: <https://doi.org/10.2166/wst.2009.504>

Tagasaki K, Tajima H, Nakashima M, Ishida H (2002) Combustion characteristics of trouble-making bunker fuel oil. *MTZ Worldw* 63:18–20. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/BF03227548>

Turner, N. R., & Renegar, D. A. (2017). Petroleum hydrocarbon toxicity to corals: A review. *Marine Pollution Bulletin*, 119(2), 1-16. Disponível em : <https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2017.04.050>

Xavier, C. A. C. (2020). Single and combined effects of four emerging pollutants and two polycyclic aromatic hydrocarbons on the macroinvertebrate communities from the Minho estuary under different temperature rise scenarios.

Zajic JE, Supplisson B (1972) Emulsification and degradation of “Bunker C” fuel oil by microorganisms. *Biotechnol Bioeng* 14:331–343.

Zanotti, A.A., et al. (2020). Microbiome of the Southwestern Atlantic invasive scleractinian coral, *Tubastraea tagusensis*. *Animal microbiome*, 2(1), 1-8. Disponível em: <https://doi.org/10.1186/s42523-020-00047-3>

Zhang, B., et al. (2019). Marine oil spills-Oil pollution, sources and effects. *In World seas: an environ.* 391-406. Disponível em: <https://doi.org/10.14295/ras.v23i1.12128>

Apêndice I - Parâmetros físico-químicos dos ensaios com AEI e FSA do petróleo bruto e seus derivados medidos no início e ao final do experimento.

Parâmetros	Concentrações (%) - Óleo bruto - amostras PNE 2019-2020			
	Controle	0,1	1	10
pH	7,91/7,34	7,94/7,78	7,9/7,85	7,95/7,73
Salinidade	35	35	35	35
OD (mg/L)	7,22/7,91	6,53/8,06	7,75/7,89	7,75/7,92

Parâmetros	Concentrações (%) - Bunker				
	Controle	0,1	1	10	100
pH	8,11/7,94	8,29/8,01	8,27/7,87	8,29/7,84	8,22/7,7
Salinidade	35	35	35	35	35
OD (mg/L)	5,98/7,09	5,7/6,51	5,13/6,52	5,84/6,12	5,4/5,48

Amônia NH ₃ (ppm)	0,08	0,08	0,08	0,08	0,08
---------------------------------	------	------	------	------	------

Parâmetros	Concentrações (%) - Diesel				
	Controle	0,1	1	10	100
pH	7,94/7,8	7,99/7,8	7,96/7,83	7,97/7,84	7,9/7,71
Salinidade	35	35	35	35	35
OD (mg/L)	7,59/8,38	7,2/8,72	7,2/8,18	7,16/8,42	7,52/8,06

Parâmetros	Concentrações (%) - Agefoam 2133				
	Controle	0,001	0,01	0,1	1
pH	8,38/8,04	8,52/7,99	8,53/7,97	8,48/7,77	8,33/7,54
Salinidade	35	35	35	35	35
OD (mg/L)	6,2/6,35	5,4/5,98	5,9/6,13	5,1/5,81	4,9/5,86
Amônia NH ₃ (ppm)	0,08	0,08	0,08	0,08	0,08

(/) = Delimita inicial e final.



UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
"JÚLIO DE MESQUITA FILHO"
Instituto de Biociências
Câmpus do Litoral Paulista



PARECER FINAL DO TRABALHO DE CONCLUSÃO DE CURSO
APRESENTAÇÃO REMOTA

Discente: LETÍCIA MAY FUKUSHIMA

Título: *"Coral-Sol um invasor resistente: Avaliação da toxicidade aguda de contaminantes associados as atividades petrolífera e petroquímica sobre a espécie Tubastraea coccinea"*

Orientador: Prof. Dr. Denis Moledo de Souza Abessa

Curso/Habilitação: Bacharelado em Ciências Biológicas/Biologia Marinha

COMISSÃO EXAMINADORA	CONCEITO
Prof. Dr. Denis Moledo de Souza Abessa	Aprovada
Prof. Dr. Miguel Mies	aprovado

CONCEITO FINAL:

A Comissão Examinadora abaixo assinada conclui que a discente **Letícia May Fukushima** obteve o seguinte conceito:

☒ APROVADO

☐ REPROVADO

São Vicente, 02 de fevereiro de 2022.

Prof. Dr. Denis Moledo de Souza Abessa
(Orientador)

Prof. Dr. Miguel Mies