

UNIVERSIDADE SANTA CECÍLIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM SUSTENTABILIDADE DE
ECOSSISTEMAS COSTEIROS E MARINHOS

JULIANA DOS SANTOS PEREIRA

Embriotoxicidade do ouriço-do-mar (*Echinometra lucunter*)
exposto à fração solúvel de óleo recuperado de uma área de
Proteção Ambiental no Nordeste brasileiro

SANTOS
2023

JULIANA DOS SANTOS PEREIRA

Embriotoxicidade do ouriço-do-mar (*Echinometra lucunter*)
exposto à fração solúvel de óleo recuperado de uma área de
Proteção Ambiental no Nordeste brasileiro

Dissertação apresentada a Universidade
Santa Cecília como parte dos requisitos
para obtenção de título de Mestre em
Ecologia, sob a orientação da Profa. Dra.
Helen Sadauskas Henrique e coorientação
do Prof. Dr. Camilo Dias Seabra Pereira.

SANTOS

2023

DEDICATÓRIA

Dedico a Deus, minha família, amigos e todas as pessoas que colaboraram para a conclusão desse projeto.

AGRADECIMENTOS

Ao apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – Brasil (CAPES) através do Projeto “Caracterização da qualidade ambiental de ecossistemas costeiros afetados por petróleo” agraciado aos pesquisadores Camilo Dias Seabra Pereira e Helen Sadauskas Henrique. Agradeço a bolsa concedida durante o projeto, auxílio CAPES-Código de Financiamento 001.

Agradeço à orientação da Profa. Dra. Helen Sadauskas Henrique, obrigada por todas as oportunidades que recebi, pelos momentos de conversas construtivas, pelo apoio emocional, por estar sempre presente em minhas apresentações, por incentivar meu lado de pesquisadora, por criticar quando foi necessário, por deixar que eu estivesse presente no início da criação do LEBIO (Laboratório de Ecofisiologia e Bioquímica de Organismos Aquáticos), agradeço e desejo muito sucesso em sua carreira.

Ao coorientador Prof. Dr. Camilo Dias Seabra Pereira, por estar presente nos testes, e pela paciência em suas explicações.

Coordenadora Profa. Dra. Ursulla Souza Pereira por todo o suporte durante o mestrado, por abrir as portas do LABOMAC, obrigada pelas críticas construtivas, por deixar eu fazer parte do nosso “Café com Ciência”, pelo profissionalismo, pelas conversas descontraídas.

Ao LECOTOX da UNISANTA, obrigada Profa. Dra. Paloma.

Ao Prof. Dr. Denis Abessa por abrir as portas do NEPEA (UNESP), agradeço a Mestra Debora Cristina por me ensinar e ajudar em todos os testes, por fazer parte das “idéias malucas” e pela amizade.

Ao Dr. Rafael Dolatto e ao Prof. Dr. Marco Grassi do Grupo de Química Ambiental (GQA-UFPR).

As Universidades UNIFESP, Universidad Nacional de Cordoba, Argentina.

Aos professores do Mestrado, aos colegas de curso.

Agradeço a UNISANTA por mais vez fazer parte da realização de um sonho.

EPÍGAFE

*“Se o Senhor é por nós,
quem será contra nós.”*

Romanos 8:31

RESUMO

O petróleo é a principal matriz energética mundial. Dessa forma, sua extração torna-se inevitável, causando, em muitas ocasiões, acidentes com derramamentos, principalmente no ambiente aquático. Ao longo dos anos, notícias relacionadas com derramamento de petróleo em meio aquático tornaram-se constantes, sendo no Brasil, o acidente com petróleo derramado nas praias do Nordeste em 2019, um dos maiores da história do país. A fração solúvel (FS) do petróleo, rica em hidrocarbonetos policíclicos aromáticos (HPAs) e metais, é particularmente tóxica no ambiente aquático, tornando os organismos destes ambientes mais vulneráveis. Testes de toxicidade são amplamente utilizados para se avaliar os efeitos de xenobióticos, como os HPAs e metais, sendo o ouriço-do-mar um dos organismos mais utilizados devido a sua alta sensibilidade a essas substâncias. Dessa forma, este trabalho avaliou a toxicidade, via desenvolvimento embrio-larval, da FS do petróleo, utilizando ouriços-do-mar (*Echinometra lucunter*). No presente estudo, larvas de ouriço-do-mar (*Echinometra lucunter*) foram expostas a cinco concentrações da fração solúvel (FS) do óleo coletado no nordeste brasileiro em 2019 (35,01%; 45,51%; 59,17%; 76,9% e 100%), além do controle (0%). Sendo que, através do desenvolvimento embrio-larval, foram avaliados os valores da CE_{50-42h}; CENO; CEO; além das concentrações dos HPAs e metais na FS 100%. Na fração solúvel 100%, dos 16 HPAs analisados, o fenantreno, antraceno e o dibenzo[a,h]antraceno foram encontrados acima de 1 µg/L, sendo que, para os metais, 24 dos 28 elementos apresentaram concentrações acima do limite de detecção do método, sendo apenas o Sr encontrado acima de 1 µg/L. As FS 35,01; 45,5; 59,17 e 76,9% causaram atraso no desenvolvimento embrio-larval das larvas de ouriço-do-mar em relação ao controle, com total inibição na FS 100%. A CE_{50-42h} foi de 39,45%, com intervalo de confiança entre 37.04% e 42.01%. Sendo o CENO 0% e o CEO 35,01%. A FS do óleo causou efeito (atraso no desenvolvimento embrio-larval) mesmo nas menores concentrações estudadas, provavelmente devido a presença dos HPAs fenantreno, antraceno e o dibenzo[a,h]antraceno e do metal Sr em altas concentrações. A produção de gametas fracos, com consequente diminuição do desenvolvimento embrionário pode ser explicada pelo potencial tóxico dos HPAs e dos metais, que podem causar a degeneração das células germinativas, atrofia e inflamações nas gônadas de invertebrados marinhos. Devido ao fato de os ouriços-do-mar apresentarem rápido desenvolvimento embrio-larval, esses efeitos podem ser

observados e relacionados com a taxa de absorção e acumulação dessas substâncias tóxicas.

Palavras-chave: Óleo intemperizado. CENO. CEO. HPAs. Metais.

ABSTRACT

Evaluation of sea urchin embryo-larval development (*Echinometra lucunter*) exposed to the soluble fraction of spilled oil in Northeast Brazil

Oil is the world's main energy matrix. In this way, its extraction becomes inevitable, causing, on many occasions, accidents with spills, mainly in the aquatic environment. Over the years, news related to oil spills in the aquatic environment have become constant, and in Brazil, the accident with oil spilled on the beaches of the Northeast in 2019, one of the largest in the country's history. The soluble fraction (FS) of petroleum, rich in polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) and metals, is particularly toxic in the aquatic environment, making organisms in these environments more vulnerable. Toxicity tests are widely used to evaluate the effects of xenobiotics, such as PAHs and metals, with the sea urchin being one of the most used organisms due to its high sensitivity to these substances. Thus, this work evaluated the toxicity, via embryo-larval development, of oil FS, using sea urchins (*Echinometra lucunter*). In the present study, sea urchin larvae were exposed to five concentrations of the soluble fraction (SF) of the oil collected in northeastern Brazil in 2019 (35.01%; 45.51%; 59.17%; 76.9% and 100%), in addition to the control (0%). Since, through embryo-larval development, EC₅₀-42h values were evaluated; LOEC; NOEC; in addition to the concentrations of PAHs and metals in FS 100%. In the 100% soluble fraction, of the 16 PAHs analyzed, phenanthrene, anthracene and dibenzo[a,h]anthracene were found above 1 µg/L, and, for metals, 24 of the 28 elements presented concentrations above the detection limit of the method, with only Sr found above 1 µg/L. As FS 35.01; 45.5; 59.17 and 76.9% caused a delay in the embryo-larval development of sea urchin larvae in relation to the control, with inhibition of this development at FS 100%. The EC₅₀-42h was 39.45%, with a confidence interval between 37.04% and 42.01%. Being LOEC 0% and NOEC 35.01%. The FS of the oil caused an effect (delay in the embryo-larval development) even at the lowest concentrations studied, probably due to the presence of phenanthrene, anthracene and dibenzo[a,h]anthracene and Sr metal in high concentrations. The production of weak gametes, with a consequent decrease in embryonic development, can be explained by the toxic potential of PAHs and metals, which can cause degeneration of germ cells, atrophy, and inflammation in the gonads of marine invertebrates. Because sea urchins present rapid embryo-larval

development, these effects can be observed and related to the rate of absorption and accumulation of these toxic substances.

Keywords: WEATHERED OIL. LOEC. NOEC. PAHs. METALS.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1.	Estados afetados pela chegada do óleo	13
Figura 2.	Local da coleta do óleo recuperado	17
Figura 3.	Larva <i>pluteus</i> desenvolvida (A); larvas <i>pluteus</i> não desenvolvidas (B)	20
Figura 4.	Taxa do desenvolvimento embrio-larval (%) das larvas de ouriço-do-mar (<i>Echinometra lucunter</i>) expostas às diferentes concentrações da fração solúvel do óleo coletado na região nordeste brasileiro no ano de 2019. Letras indicam diferença estatística entre os grupos.....	24
Figura 5.	Concentração de efeito em 50% das larvas de ouriço-do-mar (<i>Echinometra lucunter</i>) expostas às diferentes concentrações da fração solúvel do óleo coletado na região nordeste brasileiro no ano de 2019	25

LISTA DE TABELAS

Tabela 1.	Desastres com derramamento de petróleo no ambiente aquático.....	14
Tabela 2.	Dados físico-químicos (pH; oxigênio dissolvido = OD e salinidade) das 5 concentrações da fração solúvel (35,01; 45,5; 59,17; 76,9 e 100%), do óleo coletado na região nordeste brasileiro no ano de 2019, e do controle (0%), no início e ao final das 42 h do teste crônico com ouriço-do-mar (<i>Echinometra lucunter</i>)	21
Tabela 3.	Concentração (µg/L) dos hidrocarbonetos policíclicos aromáticos (HPAs) na fração solúvel (FS) a 100%do óleo coletado na região nordeste brasileiro no ano de 2019.....	22
Tabela 4.	Concentrações (µg/L) dos elementos encontrados na fração solúvel (FS) a 100% do óleo coletado na região do Nordeste brasileiro no ano de 2019	23

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ABNT	Associação Brasileira de Normas Técnicas
ANOVA	Análise de variância
APA	Área de Proteção Ambiental
CONAMA	Conselho Nacional do Meio Ambiente
GC-MS	Cromatografia em Fase Gasosa Acoplada a Espectrometria de Massas
HPA	Hidrocarboneto Policíclico Aromático
KCl	Cloreto de Potássio
mL	Mililitro
NBR	Norma Brasileira
°C	Graus Celsius
µl	Microlitro
UNISANTA	Universidade Santa Cecília
USEPA	Agência de Proteção Ambiental Americana

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	13
2	MATERIAIS E MÉTODOS	16
2.1	PREPARO DAS VIDRARIAS	16
2.2	PREPARO E ANÁLISE FÍSICO-QUÍMICA	16
2.3	ÁREA DE PROTEÇÃO AMBIENTAL COSTA DOS CORAIS	17
2.4	FRAÇÕES SOLÚVEIS	14
2.4.1	Preparo Fração Solúvel 100%	17
2.4.2	Escolha e preparo das concentrações das frações solúveis	18
2.4.3	Extração e análise dos HPAs na fração solúvel 100%	18
2.4.4	Análise dos elementos na Fração Solúvel 100%	19
2.5	COLETA DOS ORGANISMOS	19
2.5.1	Obtenção de gametas	19
2.6	ENSAIO DE TOXICIDADE PARA AVALIAÇÃO DO EFEITO CRÔNICO	20
2.7	ANÁLISE ESTATÍSTICA	21
3	RESULTADOS	21
3.1	ANÁLISE FÍSICO- QUÍMICA	21
3.2	ANÁLISE DOS HPAs NA FRAÇÃO SOLÚVEL 100%	22
3.3	ANÁLISE DOS ELEMENTOS NA FRAÇÃO SOLÚVEL 100%	23
3.4	ENSAIO DE TOXICIDADE PARA AVALIAÇÃO DO EFEITO CRÔNICO	24
4	DISCUSSÃO	25
5	CONCLUSÃO	30
6	REFERÊNCIAS	30
	APÊNDICE I	39

1.INTRODUÇÃO

O ano de 2019 foi marcado por um grande desastre no Brasil decorrente de um misterioso derramamento de óleo afetando cerca de 2890 km de sua costa tropical (ESCOBAR, 2019; DISNER e TORRES, 2020; SOARES, 2020; MAGRIS e GIARRIZZO, 2020; SOARES *et al.*, 2020 a, b). Segundo Lessa, *et al.*, (2021), este desastre foi caracterizado pelo surgimento de manchas de óleo em mais de mil localidades em nove estados do nordeste (Alagoas, Bahia, Ceará, Maranhão, Paraíba, Pernambuco, Piauí, Rio Grande do Norte e Sergipe), além dos Estados do Espírito Santo e Rio de Janeiro. A figura a seguir representa o Brasil em sua porção total e os pontos em vermelhos representam as áreas afetadas pelo óleo. O Brasil compõe a América do Sul e faz fronteira com todos os países dessa porção do continente americano, exceto Equador e Chile.



Esse desastre é considerado como o maior derramamento de óleo abrangendo uma grande extensão nas regiões costeiras tropicais na história do Brasil (SOARES *et al.*, 2020). Esse petróleo afetou 57 unidades de conservação em sete

categorias de manejo, 34 espécies de animais foram afetadas, comunidades planctônicas e bentônicas foram impactadas (SOARES *et al.*, 2022). Sendo o petróleo uma das mais importantes fontes econômicas, responsável pela produção de uma variedade de produtos pelo mundo, ao longo das últimas décadas, a relação entre os países teve um aumento considerável, exporta-se cada vez mais para países vizinhos e longínquos. À medida que o comércio mundial de petróleo cresce, aumenta o risco potencial para a contaminação dos ambientes aquáticos (KIM *et al.*, 2015). Ao longo dos anos, acidentes decorrentes do transporte do petróleo em ambientes aquáticos, tanto dulcícolas quanto marinhos, tornaram-se frequentes em todo o mundo. Vários acidentes já foram reportados, a tabela 1 apresenta diferentes acidentes com suas respectivas quantidades de volumes de óleo derramado, dentre eles podemos citar:

Tabela 1- Desastres com derramamento de petróleo em ambientes aquáticos

Ano	Região afetada	Vol. derramado
1967	Costa da Inglaterra	900 mil barris ¹
1978	Costa franco-inglesa	223.000 toneladas de óleo ¹
1984	Cubatão (São Paulo, Brasil)	700 mil litros de gasolina ¹
1989	Alasca	258 mil barris de petróleo ¹
2000	Duque de Caxias (Rio de Janeiro, Brasil)	1.300.000 litros de óleo combustível ¹
2002	Galiza (Espanha)	10.000.000 de litros de óleo ¹
2010	Golfo do México (EUA)	5.000.000 barris de petróleo ¹
2011	Bacia de Campos (Rio de Janeiro, Brasil)	3.700 de barris de petróleo ¹
2012	Terminal de Osório (Rio Grande do Sul, Brasil)	33,6 mil litros de óleo ²

Fonte: (1) MATOS *et al.*, 2019; SANCHEZ, 2006; GONÇALVES, 2017; (2) GOULART *et al.*, 2021

Análises geoquímicas do óleo encontrado nas praias brasileiras indicaram que as características deste óleo são compatíveis com as do petróleo Venezuelano, indicando que este foi severamente intemperizado ou seria um produto produzido a partir de um de óleo pesado (OLIVEIRA *et al.*, 2020).

As características físico-químicas do petróleo são específicas de cada região. O petróleo é um composto viscoso de carbono e hidrogênio (hidrocarbonetos alifáticos, alicíclicos e aromáticos) com pequenas porções de oxigênio, nitrogênio e enxofre, de coloração que varia entre o negro e o âmbar. Pode ocorrer no estado sólido, em que é conhecido como asfalto, no estado líquido, denominado de óleo cru, e no estado gasoso, como gás natural (GURGEL *et al.*, 2013). O petróleo cru é uma mistura de milhares de moléculas diferentes, e vários processos ocorrem simultaneamente quando o óleo entra em contato com a água do mar (ARAÚJO *et al.*, 2020). A fração solúvel do petróleo é particularmente tóxica para os organismos aquáticos, pois contém uma quantidade significativa de hidrocarbonetos aromáticos (BELMEJO e MARTOS, 2008). Entre os componentes mais tóxicos do petróleo estão os hidrocarbonetos policíclicos aromáticos (HPAs), e os benzeno, tolueno e xileno (BETX). Estas substâncias apresentam considerável solubilidade em água, o que torna os organismos marinhos mais vulneráveis uma vez que, absorvem estes contaminantes pelos tecidos, como brânquias, por ingestão direta da água ou de alimento contaminado. Tanto os HPAs quanto os BETX apresentam efeito tóxico, principalmente devido a sua elevada solubilidade e consequente biodisponibilidade (GESAMP, 1993).

Nesse sentido, os testes de toxicidade são amplamente utilizados para se avaliar os efeitos destas substâncias para os organismos aquáticos. Eles fornecem subsídios fundamentais para uma avaliação direta dos contaminantes pesquisados no ambiente. Os testes de toxicidade são de grande importância na determinação dos efeitos adversos provocados às comunidades aquáticas, causados pela emissão de substâncias tóxicas complexas, sem a preocupação de identificá-las isoladamente (CESAR *et al.*, 1997). A toxicologia aquática surgiu como uma alternativa técnica confiável para prever o impacto de agentes contaminantes sobre as diversas comunidades do ambiente aquático (COUTO *et al.*, 2017; SIMONATO, 2010; RAND *et al.*, 1995). Os testes de toxicidade são executados de forma aguda e crônica, fundamentados no princípio da dose-resposta, possibilitando obter respostas de efeitos a curto, médio ou longo prazo (BITTENCOUR *et al.*, 2018; SELA *et al.*, 2013). Os testes crônicos são realizados para medir os efeitos de substâncias químicas sobre espécies aquáticas por um período que pode abranger parte ou todo o ciclo de vida do organismo-teste (COSTA *et al.*, 2008). Animais bentônicos, territorialistas e de baixa mobilidade podem ser ideais como bioindicadores ambientais, desde que

possuam estruturas fáceis de serem identificadas e que possam indicar a intensidade do poluente. Os ouriços-do-mar são amplamente utilizados, devido algumas vantagens, tais como: sua distribuição geográfica, abundância e fácil coleta, manuseio, manutenção em laboratório e obtenção de gametas (SILVA *et al.*, 2014). Associados ao sincronismo e transparência dos embriões credenciam estes organismos como excelentes modelos de embriologia e biologia do desenvolvimento.

Visando avaliar os possíveis efeitos tóxicos do óleo recuperado da costa do Nordeste, o presente trabalho tem como objetivos: i) Avaliar as concentrações dos HPAs e dos elementos presentes na fração solúvel 100% do óleo e ii) Avaliar a toxicidade da fração solúvel do óleo, através da análise do desenvolvimento embrio-larval do ouriço-do-mar (*Echinometra lucunter*).

O presente trabalho hipotetiza que as concentrações encontradas de HPAs e dos outros elementos na fração solúvel 100% sejam relevantes e as frações solúveis utilizadas causem o retardo no desenvolvimento embrio-larval.

2.MATERIAIS E MÉTODOS

2.1. Preparo das vidrarias

Para o teste, as vidrarias utilizadas foram previamente higienizadas, passando por lavagem rigorosa seguindo a NBR 15350 de 08/2020.

Durante um período de 12 h as vidrarias foram submersas em um recipiente contendo 20 litros de água de torneira com 20 ml de EXTRAN[®]. Ao final desse período cada vidraria passou por processo de lavagem em água corrente de torneira dez vezes seguidas, sendo colocadas em bandejas, em seguida adicionada individualmente, com auxílio de uma seringa, hexano e novamente lavadas duas vezes consecutivas em água corrente. O material novamente foi disposto em bandejas para ser adicionado em cada vidraria álcool 70% com ajuda de borrifador. As vidrarias passaram por lavagem em água corrente duas vezes consecutiva e lavagem final com água destilada por três vezes. Ao final do processo de lavagem, as vidrarias ficaram em bandejas previamente higienizadas e identificadas para processo de secagem natural (ABNT 15350/2020).

2.2. Preparo e análise físico-química da água do mar utilizada nos testes.

Para os testes, foram utilizadas água do mar, sendo retirada do Aquário Municipal de Santos-SP, sendo armazenadas em tambores esterilizados e levados ao laboratório, sendo colocadas sob aeração mecânica para logo em seguida ser filtrada com auxílio de um suporte de filtro e membrana Milipore® de 0,45 µm (ABNT 15350/2020).

Nas análises físico-químicas da água do mar, foram medidas salinidade no refratômetro de modelo KAVI (Lote: 190219/REF:K52-100), tendo o resultado nos padrões entre 30 e 37 g/L, não sendo necessário o ajuste da salinidade. O pH foi medido em aparelho de modelo LECMAR/HANNA sendo mantidos os padrões entre 7,8 e 8,4 (ABNT 15350/2020).

2.3. Área de Proteção Ambiental Costa dos Corais

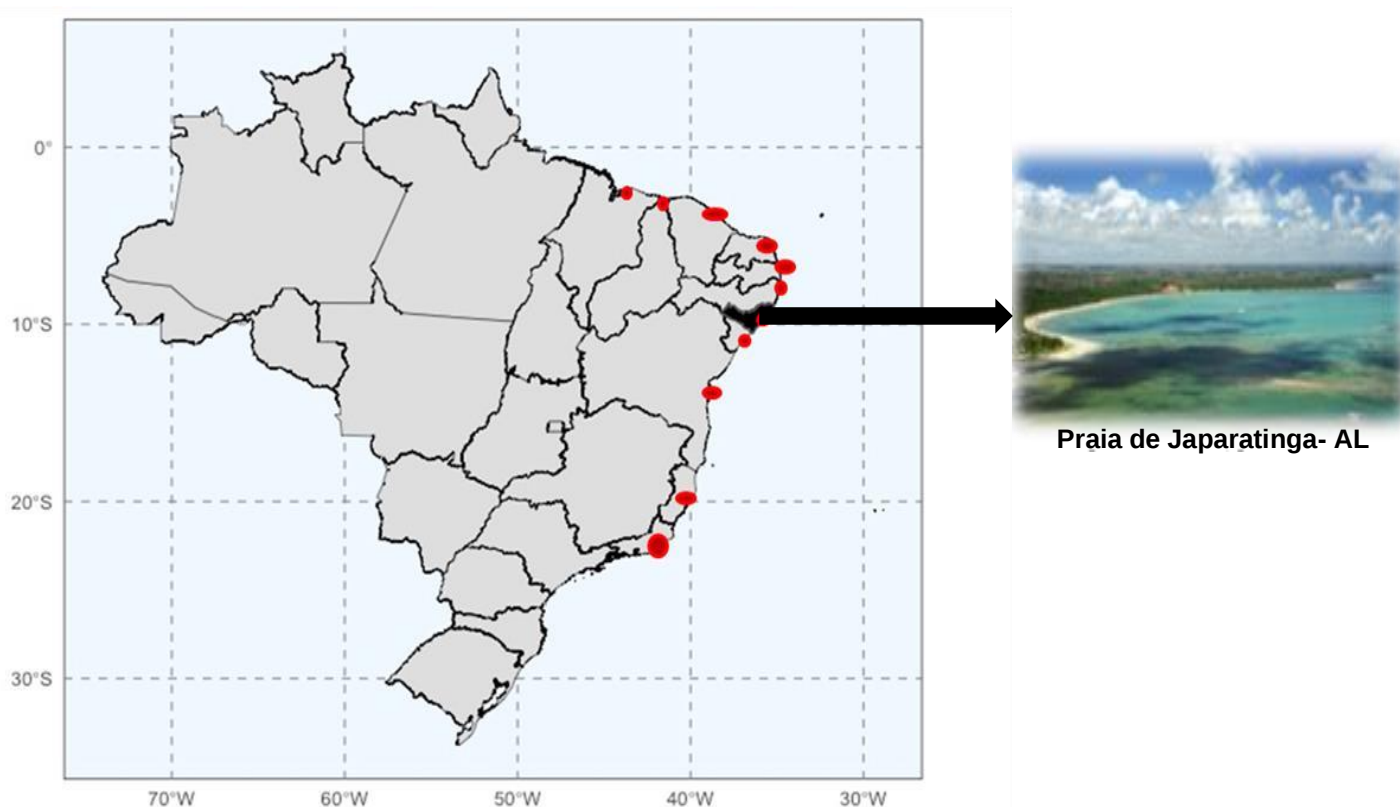


Figura 2. Local da coleta do óleo recuperado
Fonte: Foto: ICMbio; Figura: Elaborada pela autora

Maior unidade de conservação federal marinha do Brasil, com 400 mil ha de área e cerca de 120 km de praia e mangues. Unidade de uso sustentável, compreende os estados de Alagoas e Pernambuco. A amostra recuperada foi retirada da APA dos Corais na praia de Japaratinga- Alagoas (ICMBio).

2.4. Frações Solúveis

2.4.1. Preparo Fração Solúvel 100%

O preparo das frações solúveis (FS) da amostra do óleo coletado na área do desastre seguiu a norma ABNT NBR 15469/ 2007. O óleo foi coletado nos recifes de corais da praia de Japaratinga- Alagoas em 2019 e armazenado em câmaras de refrigeração até ser trazido para o Laboratório de Ecotoxicologia Aquática (LECOTOX) da Universidade Santa Cecília (UNISANTA). Inicialmente, foi preparada a FS 100% através da mistura do óleo com a água do mar, previamente preparada, na proporção 1:9, (óleo:água), sendo preparada um dia antes do início do teste. Dessa forma, 62,1 ml de água do mar acompanhado de 6,9 g da amostra do óleo foram inseridos em um Becker envolto em papel-alumínio e recoberto com papel filme e papel de alumínio. A amostra ficou em agitador magnético com agitação constante por 20 h atingindo um vórtice correspondendo a 1/3 da altura da coluna de água. Ao final do período de agitação, a amostra ficou em repouso por 1 hora para a decantação do material. Logo após, a porção líquida da amostra foi removida cuidadosamente com o auxílio de uma pipeta e armazenada em vidro âmbar em geladeira até o momento do início do teste. Esta amostra corresponde a 100% da FS e foi utilizada para realizar as outras FS, descritas a seguir.

2.4.2. Escolha e preparo das concentrações das Frações Solúveis.

Para a escolha das concentrações utilizadas para o teste da FS, tendo em vista o baixo volume de amostra recuperado, foi utilizado o cálculo do fator de diluição de 1:3; sendo definidas as seguintes concentrações: 35,01%; 45,51%; 59,17%; 76,9% e 100%.

Após a definição das amostras, a FS 100% foi preparada, conforme descrita em item anterior, e fracionada em 5 tubos de ensaio conforme suas respectivas

concentrações e adicionada água do mar filtrada para completar a concentração de 2,5 ml, definida pelo teste em microescala, por tubo de ensaio.

2.4.3. Extração e análise dos HPAs na Fração Solúvel 100%

As análises dos HPAs foram realizadas na Universidade Federal do Paraná (UFPR, Curitiba-PR), no laboratório do Grupo de Química Ambiental liderado pelo Dr. Marco Grassi. Para a extração dos HPAs da FS foi empregado o protocolo de extração líquido-líquido dispersivo assistido por vórtex (VA-DLLME). A quantificação dos HPAs foi feita em um cromatógrafo a gás acoplado a um espectrômetro de massas triplo quádruplo (GC-MS/MS, Shimadzu® modelo QP2010-TQ8040). Adicionalmente em todos os métodos foram realizados controle e garantia de qualidade mediante ensaios de fortificação utilizando padrões analíticos dos HPAs de alta pureza adquiridos na Merck/Sigma Aldrich®.

2.4.4. Análise dos elementos na Fração Solúvel 100%

A quantificação dos elementos foi realizada em um espectrômetro de massas com plasma acoplado indutivamente (Q-ICPMS, Agilent 7500 Series CX technology) equipado com um ASX-100-auto-sampler (CETAC-technologies, Omaha, NE, USA). As análises foram realizadas no Food Science and Technology Institute of Cordoba (YCITAC - Universidad Nacional de Cordoba, Argentina). As concentrações dos elementos presentes na FS foram medidas em triplicata. Material certificado foi utilizado (NIST1548a and NIST 8414) para garantir o controle analítico e o controle de qualidade. Três amostras fortificadas foram preparadas adicionando soluções padrão (10 mg/L e 10 µg/L) contendo todos os elementos analisados para verificar se a matriz digerida poderia influenciar a análise do metal.

2.5. Coleta dos organismos

Os ouriços-do-mar (*Echinometra lucunter*) foram coletados na Ilha das Palmas, localizada na cidade de Guarujá-SP, e armazenados em caixa térmica, com aeração constante e rígido controle da temperatura para evitar que a liberação dos gametas durante o transporte até o LECOTOX da UNISANTA.

2.5.1. Obtenção de gametas

Para a obtenção dos gametas dos ouriços-do-mar, foi realizada a indução através da injeção de 2,5 ml de KCl (0,5 M) na região perioral em dois pontos diametralmente apostos, o organismo foi levemente agitado para que a solução pudesse se espalhar na cavidade celômica (ABNT NBR 15350, 2020). Quando a liberação não ocorria via injeção de KCl, estímulo elétrico com um circuito de corrente alternada e transformador de 35 V foi utilizado. Para a coleta dos gametas das fêmeas, o animal foi deixado com sua parte superior voltada para a entrada do Becker com água do mar filtrada, os gametas dos machos foram identificados e coletados diretamente dos gonóporos com auxílio de uma pipeta Pasteur de ponta fina, colocados em becker no gelo (ABNT NBR 15350, 2020).

2.6. Ensaio de toxicidade para avaliação do efeito crônico de curta duração

Os ensaios de toxicidade foram realizados com base nas normas ABNT NBR 15350 /2020 e ABNT NBR 15469/2007 e adaptado para o teste em microescala (NILIN, *et al*, 2008). Resultado da $Cl_{50}42h = 0,34 \text{ mg/L}$ – Substância de referência: Sulfato de Zinco. Faixa aceitável: 0,15 – 0,58 mg/L $ZnSO_4$ (Conforme Carta Controle).

. Foram utilizados 2,5 ml de cada FS (35,01%; 45,51%; 59,17%; 76,9%; 100%) por tubo de ensaio, sendo que os testes foram realizados com 5 tubos, sendo 4 réplicas e 1 tubo utilizado para análise físico-química (pH, oxigênio dissolvido, salinidade e temperatura). Nas 4 réplicas, foram adicionados 65,5 μL de água com os embriões, o que corresponde a 300 embriões recém-fertilizados, em cada tubo de ensaio. O teste teve duração de 42 h, sendo finalizado com a adição de 0,5 ml de formol tamponado com bórax em cada tubo para posterior análise.

Ao final do ensaio, as amostras foram analisadas em câmara de SedgwickRafter, observando a ocorrência de normalidade ou anormalidade nos 100 primeiros organismos em cada réplica. A observação teve início nos tubos controles para ser utilizado como referência nas outras concentrações. Larvas normais foram consideradas quando em estágio *pluteus* e larvas anormais foram consideradas

quando em estágio anterior ou em atraso do *pluteus* (ovo, mórula, blástula e gástrula) (ABNT 15350/2020) (Figura 01).

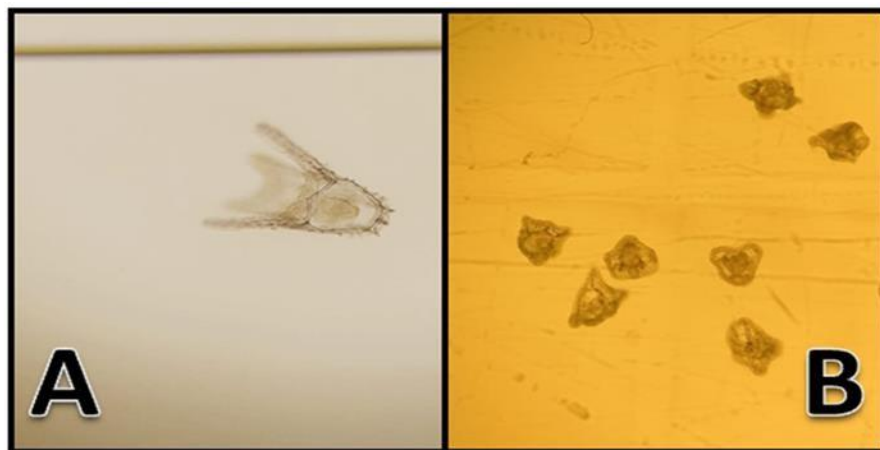


Figura 3. Larva *pluteus* desenvolvida (A); larvas *pluteus* não desenvolvidas (B).
Fonte: Elaborado pela autora.

2.7. Análise estatística

Todos os dados estão apresentados como média $\pm$ erro padrão da média ($n=4$). Diferença estatística foi aceita em $P<0,05$. Os dados foram testados quando a normalidade e variância. Diferença estatística entre os tratamentos foi determinada via análise de variância de um fator (One-Way ANOVA), seguido pelo teste *a posteriori* de Holm-Sidak.

As concentrações efetivas de amostra capazes de inibir o desenvolvimento embrio-larval do ouriço-do-mar em 50% (metade da concentração efetiva máxima, ou EC50) foram calculadas por meio de regressão não linear, selecionando-se a equação de regressão que melhor se ajustasse aos dados, considerando o valor de R^2 , absoluto soma dos quadrados e intervalos de confiança de 95%, usando o software GraphPad Prism.

3.RESULTADOS

3.1. Análise físico-química

Os valores de pH e oxigênio dissolvido (OD) variaram de 7,98 a 8,02 e de 8,09 a 8,70 no início e ao final das 42 h do teste, respectivamente, estando de acordo com a ABNT 15350, 2020. O OD variou de 6,25 a 6,54 mg/L, e de 5,85 a 6,60 mg/L no início e ao final das 42 h do teste, respectivamente. A salinidade foi de 31 ppt para todas as concentrações da FS no início do teste e variou de 34 a 35 ao final das 42 h de teste (Tabela 2).

Tabela 2- Dados físico-químicos (pH; oxigênio dissolvido = OD e salinidade) das 5 concentrações da fração solúvel (35,01; 45,51; 59,17; 76,9 e 100%), do óleo coletado na região nordeste brasileiro no ano de 2019, e do controle (0%), no início e ao final das 42 h do teste crônico com ouriço-do-mar (*Echinometra lucunter*).

Fração Solúvel (%)	pH		DO (mg/L)		Salinidade (ppt)	
	Inicial	Final	Inicial	Final	Inicial	Final
0 (controle)	8,00	8,70	6,41	6,60	31	34
35,01	8,00	8,18	6,54	6,36	31	35
45,51	7,98	8,09	6,53	6,42	31	35
59,17	8,01	8,15	6,51	6,34	31	35
76,9	8,01	8,18	6,45	6,41	31	35
100	8,02	8,33	6,27	5,85	31	35

Fonte: Elaborada pela autora

3.2. Análise dos HPAs na Fração Solúvel 100%

A concentração dos 16 HPAs prioritários analisados na FS a 100% estão demonstrados na Tabela 2. Todos os 16 HPAs, separados na Tabela 2 pelo peso molecular, foram identificados na amostra. Os HPAs apresentaram concentrações que variaram de 0,109 a 1,963 µg/L. Em uma escala, do menor para o maior, da concentração dos HPAs temos: acenaftaleno<acenafteno<naftaleno<fluoranteno<benzo[k]fluoranteno<fluoreno<benzo[b]fluoranteno<benzo[a]pireno<benzo[a]antraceno<benzo[g,h,i]perileno<criseno<indeno[1,2,3-cd]pireno<pireno<dibenzo [a,h]antraceno<antraceno<fenantreno. Os HPAs que apresentaram concentrações acima de 1 µg/L foram o fenantreno, antraceno e o dibenzo[a,h]antraceno.

Tabela 3. Concentração ($\mu\text{g/L}$) dos hidrocarbonetos policíclicos aromáticos (HPAs) na fração solúvel (FS) a 100% do óleo coletado na região nordeste brasileiro no ano de 2019.

HPAs	Concentração ($\mu\text{g/L}$)	Massa molar (g/mol)
Baixo peso molecular		
Naftaleno	0,146	128
Acenaftaleno	0,109	152
Acenafteno	0,129	154
Fluoreno	0,226	166
Antraceno	1,890	178
Fenantreno	1,963	178
ΣHPAs	4,07	
Alto peso molecular		
Fluoranteno	0,148	202
Pireno	0,755	202
Benzo[a]antraceno	0,381	228
Criseno	0,437	228
Benzo[a]pireno	0,356	252
Benzo[b]fluoranteno	0,290	252
Benzo[k]fluoranteno	0,155	252
Benzo[g,h,i]perileno	0,404	268
Dibenzo[a,h]antraceno	1,037	278
Indeno[1,2,3- cd]pireno	0,616	278
ΣHPAs	4,57	
Σ16HPAs	9,042	

Fonte: Elaborada pela autora

3.3. Análise dos elementos na Fração Solúvel 100%

As concentrações dos 28 elementos analisados na FS a 100% estão demonstradas na Tabela 3. Dentre os 28, quatro estavam abaixo do limite de detecção do método (LOD), sendo eles Al; Ti; As; e Fe. Os outros 24 elementos apresentaram concentrações que variaram de 2,35 a 9 521,09 $\mu\text{g/L}$. Em uma escala, do menor para o maior, da concentração dos elementos temos: La < W < Y < Ce < Nb < Sn < Hg < V < Au < Zr < Cr < Mg < Ni < Cd < Ag < Mo < Si < Bi < Cu < Pb < Ba < Rb < Sr < Zn. Os elementos que apresentaram concentrações acima de 1 $\mu\text{g/L}$ foram os metais traços Sr e Zn com 8581,74 e 9521,09, respectivamente.

Tabela 04. Concentrações (µg/L) dos elementos encontrados na fração solúvel (FS) a 100% do óleo coletado na região do Nordeste brasileiro no ano de 2019.

Elementos na FS 100%	ug/L
Metais leves	
Alumínio (Al)	<LOD
Magnésio (Mg)	23,14
Rubídio (Rb)	308,71
Titânio (Ti)	<LOD
Bário(Ba)	136,41
Metais pesados	
Prata (Ag)	43,19
Arsênio (As)	<LOD
Ouro (Au)	8,37
Bismuto (Bi)	113,91
Cadmio (Cd)	39,98
Cromo(Cr)	10,87
Cobre (Cu)	117,24
Ferro (Fe)	<LOD
Mercúrio (Hg)	2,98
Molibilênio(Mo)	55,17
Nióbio (Nb)	2,59
Níquel (Ni)	27,43
Chumbo (Pb)	120,73
Selênio (Se)	99,62
Estanho (Sn)	2,89
Estrôncio (Sr)	8.581,74
Vanádio (V)	3,75
Tungstenio (W)	2,39
Zinco (Zn)	9.521,09
Zircônio (Zr)	9,37
Metais de transição	
Ítrio (Y)	2,42
Lantanídeo	
Lantânio (La)	2,35
Cério (Ce)	2,51

LOD = abaixo do limite de detecção do método.

Fonte: Elaborado pela autora

3.4. Ensaio de toxicidade para avaliação do efeito crônico

Todas as concentrações da FS do óleo coletado no nordeste brasileiro em 2019 apresentaram toxicidade ao *E. lucunter* (Figura 2), na qual foi avaliada através

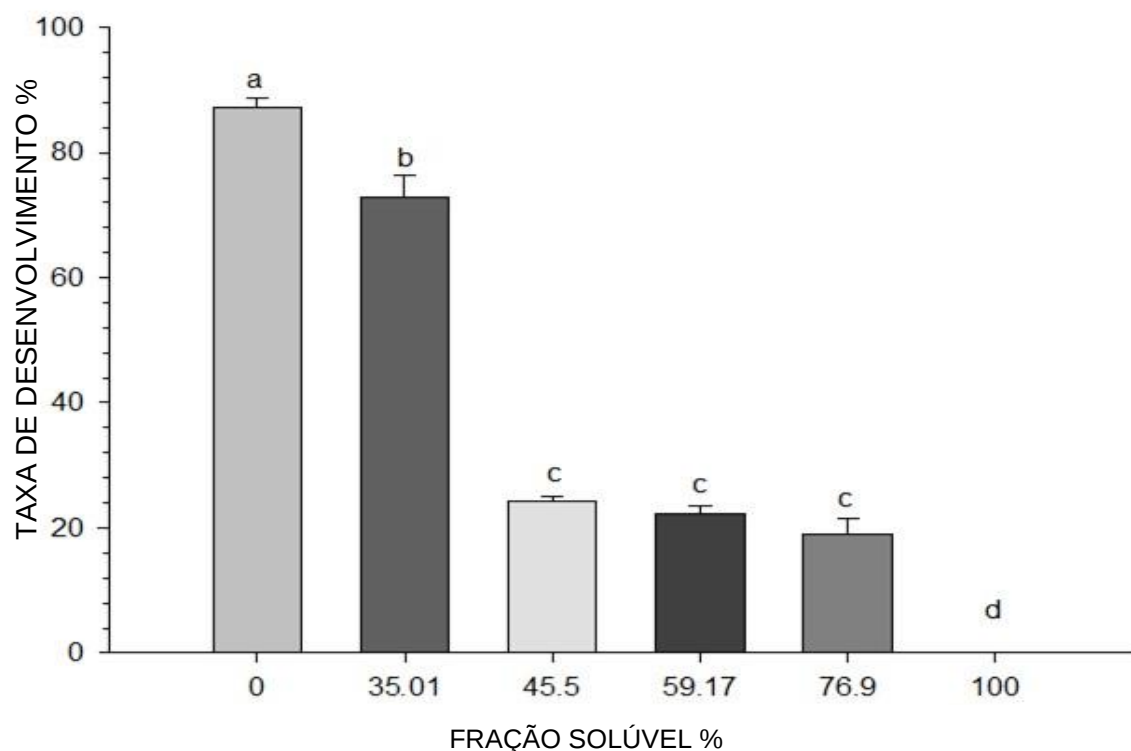


Figura 4. Porcentagem do desenvolvimento embrio-larval (%) das larvas de ouriço-do-mar (*Echinometra lucunter*) expostas às diferentes concentrações da fração solúvel do óleo coletado na região nordeste brasileiro no ano de 2019. Letras indicam diferença estatística entre os grupos.
Fonte: Elaborado pela autora

Quando foi calculada a concentração de efeito em 50% (EC_{50}), na concentração de 39,45% temos 50% de efeito na população estudada (Figura 03), com intervalo de confiança entre 37,04% e 42,01%.

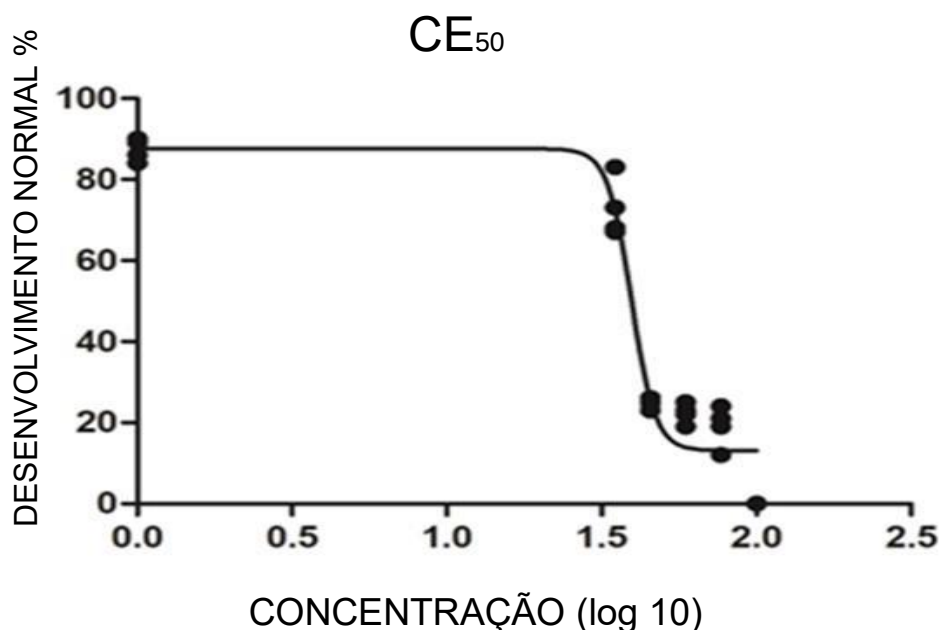


Figura 5. Concentração de efeito em 50% das larvas de ouriço-do-mar (*Echinometra lucunter*) expostas às diferentes concentrações da fração solúvel do óleo coletado na região nordeste brasileiro no ano de 2019.

Fonte: da autora

4.DISCUSSÃO

No presente estudo, a FS 100% do óleo estudado, causou o atraso e a inibição do desenvolvimento embrio-larval do ouriço-do-mar. O teste crônico de toxicidade apresentou uma queda significativa no desenvolvimento embrio-larval a partir da fração 35,01%, com total inibição na FS de 100%, sendo o valor da CE₅₀ de 39,45%. Esses efeitos podem ser devido ao fato de os ouriços-do-mar apresentarem rápido desenvolvimento embrio-larval, o que permite uma observação, em menor escala de tempo, da taxa de absorção e acumulação das substâncias tóxicas, como HPAs e metais (RINGWOD, 1999).

Óleos densos resultam da biodegradação de óleos convencionais, em condições geológicas específicas, como é o caso do petróleo utilizado no presente estudo (OLIVEIRA *et al.*, 2020). Petróleo oriundo de regiões de baixa temperatura, é mais pesado, viscoso e com alta composição de HPAs de alto peso molecular; asfaltenos; resinas e metais (CASSANI e EGLINTON, 1986; SPEIGHT *et al.*, 1991; HUE, 2007; HUANG *et al.*, 2020; OLIVEIRA *et al.*, 2020). Apesar disso, a FS do óleo avaliado neste estudo apresentou uma baixa concentração dos HPAs (9,042 µg/L) quando comparado com a FS de outros óleos já estudados de outras regiões. Como

por exemplo, concentrações dos HPAs de 189,43; 0,563 e 17,084; de 171 a 2 176; e de 781,12 µg/L foram encontrados na FS de um óleo pesado brasileiro; no óleo do Depwater Horizon; óleo crus provenientes da planta de exploração do Kuwaiti e petróleo bunker brasileiro, respectivamente (SAED *et al.*, 2000; RODRIGUES *et al.*, 2010; RODGERS *et al.*, 2018; SANTANA *et al.*, 2021). No entanto, apesar dessas altas concentrações de HPAs na FS destes óleos de diversas fontes, quando olhamos para os HPAs individualmente, a maior contribuição para essas altas concentrações se dá pelo naftaleno e seus homólogos alquilados (SAED *et al.*, 2000; RODRIGUES *et al.*, 2010; SANTANA *et al.*, 2021). No presente estudo, tivemos uma contribuição de todos os 16 HPAs, de baixo e alto peso molecular, onde todos os HPAs analisados foram detectados. Por outro lado, Rodrigues *et al.*, (2010), dos 16 HPAs analisados, detectaram somente o naftaleno, fluoreno e fenantreno na FS de um óleo pesado brasileiro. Segundo Wang *et al.*, (1999), HPAs de origem petrogênica são caracterizados pela predominância HPAs de baixo peso molecular em relação aos de alto peso molecular. O óleo encontrado no Nordeste é um óleo muito intemperizado (i.e. que sofreu com processos de evaporação, emulsificação, dispersão natural, dissolução, degradação microbiana, fotooxidação, dentre outros processos) (LOBÃO *et al.*, 2022) o que pode justificar as baixas concentrações dos HPAs de baixo peso molecular. De fato, Lobão *et al.*, (2022) analisaram amostras provenientes do derramamento de óleo no Nordeste brasileiro e verificaram que o óleo apresentou características de um óleo pesado e emulsificado, com perda de compostos voláteis (como depleção de n-alcenos menores que n-C11-n-C13).

Barron *et al.*, (1999) testou a toxicidade de três óleos intemperizados com a fração acomodada utilizando teste padronizado com o camarão *Mysidopsis bahia*, obtendo como resultado a toxicidade dos organismos a partir do óleo de baixo teor molecular, representado pelo naftaleno em 1µg, mas altamente tóxico. Deformidades no desenvolvimento inicial da vida do peixe arco-íris (*Melanotaenia fluviatilis*) foram observadas por Pollino *et al.*, (2002), sendo exposto aos HPAs do petróleo bruto, valores acima de 0,5 mg/l já diminuiu a sobrevivência, capacidade de eclodir e foi observada a presença de desenvolvimento anormal.

Zhibeng *et al.*, (2010) que devido a característica lipofílica da fração solúvel acomodada do petróleo, esse material é extremamente tóxico aos organismos planctônicos, sendo proporcional sua toxicidade quando anel benzênico e cadeia carbônica aumentam.

A presença de metais no petróleo depende da localização geológica no qual o óleo foi formado. Esses metais podem se dissociar na água através dos poros das rochas, sendo absorvidos pelo petróleo (AKPOVETA e OSAKWE, 2014). No óleo recuperado no Nordeste, foram encontrados Sr e Zn em concentrações muito altas (8,58 e 9,52 mg/L, respectivamente) quando comparadas com a outros óleos. Como por exemplo, concentrações de Zn na FS 100% de 3,63 e de 0,02 mg/L foram encontradas para óleos crus da Nigéria (OLAIFA *et al.*, 2012; EDEMA *et al.*, 2008). Concentrações de Zn também já foram reportadas em óleos crus provenientes da Arábia Saudita (0,11 a 1,82 mg/L) (MOHAMED *et al.*, 1983), para o óleo proveniente do Depwater Horizon (13,3 a 51,8 µg/g) (LIU *et al.*, 2012) e para óleo da ilha de Sakhalin na Sibéria (0,2 a 4,9 mg/L) Yasnygina *et al.*, (2015). O zinco é um metal essencial para todas as células e é o segundo elemento traço mais abundante na maioria dos vertebrados. A concentração do zinco em ambientes aquáticos pode variar imensamente em função da distância da terra em ambientes marinhos, em função de atividades antrópicas e da geologia (EISLER, 1993; JANSSEN *et al.*, 2000; LUOMA e RAINBOW, 2008). Tellis *et al.*, (2014) testou a toxicidade do Pb e Zn no desenvolvimento embrio-larval do ouriço-do-mar roxo *Strongylocentrotus purpuratus* nas primeiras 96h, com concentrações de (Pb) 2,4 µg/L e (Zn) 11 µg/L que não representavam mortalidade aguda, sendo observado ao final do teste uma interrupção da homeostase de Ca. Assim como Noqueira *et al.*, (2021) que testou a toxicidade de concentrações Cd (30 µg/L) Ni (5 µg/L) e Zn (9 µg/L) em ouriço-do-mar roxo *Strongylocentrotus purpuratus* em seu estágio inicial, também obteve como resultado anormalidades no desenvolvimento dos embriões e perturbação na homeostase do Ca, tendo influência na calcificação do esqueleto (espícula). Relacionando com a alta concentração de Zn encontrado na amostra do óleo recuperado em 2019, podemos fazer uma correlação com a má formação das espículas dos embriões do *Echinometra lucunter* testado, ocasionando o atraso em seu desenvolvimento. Isso pode ser justificado pelo Zn atuar como cofator nos organismos nas reações que catalisam as enzimas, mas em concentrações elevadas competir com outros metais de ligação, causando assim efeitos tóxicos (ANU, *et al.*, 2018).

O Sr é um metal alcalino-terroso, com propriedades semelhantes ao cálcio. O Sr não é classificado como essencial para a saúde humana ou outros organismos, e o Sr ambiental é considerado perigoso devido aos perigos radiológicos associados

aos seus radionuclídeos. O Sr é estável no ambiente e geralmente não é considerado uma preocupação para os organismos aquáticos. O único caso conhecido é a região de Kola, na Rússia, onde muitos lagos estão fortemente contaminados com Sr de minas de metal próximas, e os peixes que vivem nos lagos são caracterizados por altas concentrações de tecido Sr em associação com anormalidades esqueléticas (MOISEENKO e KUDRYAVTSEVA, 2001). No entanto, pouco se sabe sobre os mecanismos toxicológicos e fisiológicos do Sr (CHOUWDHURY *et al.*, 2011).

Outros metais detectados na amostra recuperada no óleo de 2019, como Vanádio, foi estudado por Chiarelli, *et al.*, (2021) sua toxicidade em embriões de ouriço-do-mar *Paracentrotus lividus*, sendo encontrado em níveis morfológicos malformações esqueléticas, podendo esse metal competir na absorção com o Cálcio que é responsável pela formação esquelética.

Migliaccio *et al.*, (2014), utilizando também o ouriço-do-mar *Paracentrotus lividus* para avaliar a resposta dos embriões as substâncias Cádmio e Manganês, obtendo como resultado uma deficiência no alongamento no esqueleto e atraso no desenvolvimento dos embriões. O cádmio é descrito como um potente poluente, não tendo função biológica essencial, e o manganês apresenta sua toxicidade em altas concentrações e é descrito como metal essencial. (Flick *et al.*, 1971; CICAD, 2004). Spangenberg e Cherr, (1996), testaram a toxicidade do Ba em embriões de mexilhão (*Mytilus californianus*), tendo em concentrações entre 200 e 900 µg/L efeitos tóxicos aos embriões, com calcificação anormal da casca, e apresentando na fase de glástrulas o período mais sensível no desenvolvimento.

Radenac *et al.*, (2001) avaliou a bioacumulação dos embriões de ouriço-do-mar *Paracentrotus lividus* dos metais Cd, Pb, Zn, sendo utilizada as doses máximas respectivas (43,8 µg/g; 3106 µg/g; 534 µg/g) após um período de 48 horas de exposição, tendo Cd e Pb acumulado nos animais independente da dose aplicada, e o Zn apresentando alta taxa de mortalidade em concentrações acima de 100 µg/l, dificultando assim a análise para de acumulação para valores acima dessa concentração.

É importante levar em consideração que o óleo avaliado no presente estudo foi coletado em uma unidade de conservação de uso sustentável (APA Costa dos Corais), se enquadrando na classe 1 da Resolução CONAMA 357. As concentrações dos HPAs encontrados na FS 100% do óleo estudado neste trabalho estão acima do permitido pela legislação brasileira (0,0002 µg/L para Benzo[a]antraceno e de 0,018

µg/L para benzo[a]pireno, benzo[b]fluoranteno, criseno, dibenzo[a,h]antraceno e indeno[1,2,3-c,d]pireno). Em relação aos elementos presentes na FS 100% do óleo, 7 dos 28 elementos encontrados possuem suas concentrações regulamentadas na legislação da CONAMA 357 (classe 1), sendo eles, Cd; Cr; Cu; Ni; Pb; Se; Zn; Au. Com exceção da Au, todos estes elementos apresentaram concentrações acima da CONAMA 357 (classe 1). Além disso, a FS 100% do óleo apresentou altas concentrações de elementos emergentes como Rb; Ti; Ba; Bi; Mo; Nb, Sn, Sr; V; Y; La; Ce; W e Zr.

No presente estudo, a FS do óleo coletado no nordeste brasileiro causou efeito, mesmo nas menores concentrações estudadas, no desenvolvimento embrião-larval do ouriço-do-mar. Sendo esses efeitos podendo ser atribuídos aos HPAs e aos elementos presentes no óleo. As concentrações desses elementos presentes na FS do óleo estavam acima dos limites da resolução CONAMA 357/2005, tendo alguns metais sem limites definidos pela legislação, que demonstra uma alta toxicidade do óleo derramado em 2019 em organismos marinhos. Bioensaios de embriões de ouriço-do-mar obtiveram uma EC_{50} de 21,9; 66,8; 509; 9240 µg/l de valores para os seguintes metais Hg; Cu; Pb; Cd, respectivamente (FERNÁNDEZ *et al.*, 2001). Nos ensaios toxicológicos com embriões de ouriço-do-mar *Sterechinus neumayeri* (Meissner), o Cu apresentou-se como metal mais tóxico com EC_{50} de 11,4µg/L, Já o cádmio afetou o desenvolvimento embrião-larval com concentrações superiores a 2000µg/L; EC_{50} = 6.900 µg/L sendo o Zn com EC_{50} de 2230 e 326,8 µg/L (KING, 2001). Nos testes de desenvolvimento embrião-larval do ouriço-do-mar *Diadema antillarum*, os metais Cu 11 µg/L, Ag 6 µg/L, Ni 15 µg/L e Se 26 µg/L, afetaram significativamente o desenvolvimento das larvas (BIELMYER, 2005). BARRON *et al.*, (2017) ainda salienta que a toxicidade do petróleo pode ser fotoaumentada devido a interação com a radiação solar, o que causaria ainda mais riscos aos estágios iniciais da vida dos organismos aquáticos, visto que eles são translúcidos e habitam a zona fótica da coluna de água. Quando expostos a variadas concentrações tóxicas, embriões de muitas espécies aquáticas acabam alterando seu desenvolvimento, sendo eliminadas as células danificadas, comprometendo assim sua evolução e persistindo o contaminante, os embriões podem morrer (CHIARELLI *et al.*, 2014).

5. CONCLUSÃO

A redução no desenvolvimento embrio-larval nas larvas de ouriço-do-mar demonstrou o alto potencial tóxico da fração solúvel do petróleo coletado na Costa nordestina brasileira em 2019. Os organismos quando expostos as maiores frações tiveram efeitos de más formações em seu estágio final de larva plúteus. A alta composição de HPAs e metais presentes na fração solúvel indicam que pode ter sido a causa dessa anormalidade no desenvolvimento dos embriões.

6.REFERÊNCIAS

AARAB, N. Respostas bioquímicas e histológicas em mexilhão (*Mytilus edulis*) exposto ao óleo do Mar do Norte e a uma mistura de óleo do Mar do Norte e alquilfenóis. **Pesquisa Ambiental Marinha**, v. 58, n. 2- 5, p. 437- 441, 2004.

ABNT- Associação Brasileira de Normas Técnicas - Ecotoxicologia Aquática-Toxicologia Crônica de curta duração- Método de ensaio com ouriços-do- mar (Echinodermata:Echinoidea). Rio de Janeiro. NBR 15350, 2020.

AKPOVETA, O.V; OSAKWE, S.A. Determination of Heavy Metal Contents in Refined Petroleum Products. **IOSR Journal of Applied Chemistry**. V.7, p. 01- 02, 2014. Disponível em: www.iosrjournals.org. Acesso em: 29 nov. 2022.

All, M.F., BUKHARI, A., SALEEM, M. Trace Metals in Crude Oils from Saudi Arabia. **Ind.Eng.Chem.Prod.Res.Dev.**, v.22, n.4, p.691-694, 1983. Disponível em: <https://pubs.acs.org/sharingguidelines>. Acesso em: 23 nov. 2022.

ANU, P. R., NANDAN, S. B., JAYACHANDRAN, P. R., XAVIER, N. D., MIDHUN, A. M., MOHAN, D. Efeitos da toxicidade do zinco em duas diatomáceas marinhas, sob diferentes ambientes de macronutrientes. **Pesquisa ambiental marinha**, v. 142, p. 275-285, 2018.

ARAÚJO, A.M.; GONÇALVES, C.; NASCIMENTO, E. M.; JÚNIOR J. M.; SILVA, J. C.; OLIVEIRA, M. A.; BRISA, P.; PIRES, P. H.; MACHADO, E.C. Protocolo para biorremediação de águas contaminadas por petróleo. **Revistae-xacta**, Belo Horizonte, v.7, n.1, p.55-63, 2014.

ARAÚJO, M.E.; RAMALHO C.W.N.; MELO P.W. Pescadores artesanais, consumidores e meio ambiente: consequências imediatas do vazamento de petróleo no Estado de Pernambuco, Nordeste do Brasil. **Cadernos de Saúde Pública**, v.36, n.1, 2020, doi: 10.1590/0102-311X00230319.

BABALOLA, S.O.; ONI, A.A. Hepatotoxic and renal effects of the water-soluble fractions of spent engine oil in Swiss albino mice. **International Journal of**

Biological and chem. v.12, n.2, p. 650- 658, 2018. Disponível em: <http://www.ifgdg.org>. Acesso em: 23 nov. 2022.

BARRON, M.G.; PODRABSKY, T.; OGIE, S.; WRICKER, R. Os hidrocarbonetos aromáticos são principal determinante da toxicidade do petróleo para os organismos aquáticos? **Toxicologia Aquática**, v.36, ed.3-4, p.253-268,1999.

BARRON, M.G. Photoenhanced toxicity of petroleum to aquatic invertebrates and fish. **Archives of environmental contamination and toxicology**, v.73, n. 1, p. 40-46, 2017.

BEIRASA R., BELLASA J., FERNANDEZ N., ORENZO J.I., COBELO-GARCIA A. Assessment of coastal marine pollution in Galicia (NW Iberian Peninsula); metal concentrations in seawater, sediments and mussels (*Mytilus galloprovincialis*) versus embryo-larval bioassays using *Paracentrotus lividus* and *Ciona intestinalis*. **Marine Environmental Research**, v 56, p.531–553, 2003.

BELMEJO, L., MARTOS, H.L. Utilização de *xiphophorus helleri* como Bioindicador de Poluição Hídrica de Derivados de Petróleo em Condições. **Ambiente & Água—An Interdisciplinary Journal of Applied Science**, v.11, n.1, p.198-210, 2008, doi: 10.4136/1980-993X.

BIELMYER, G. K.; BRIX, K.V.; CAPOA, T. R.; GROSELL, M. The effects of metals on embryo-larval and adult life stages of the sea urchin, *Diadema antillarum*. **Toxicologia Aquática**, v.74, n.3, p. 254- 263, 2005.

BITTENCOURT, T.Q.M.; SANTOS, A.R.; SILVA, M.C.G.; SILVA, J.F.; SILVA, N.P.C.; SILVA, W.E.; CADENA, P.G.; AMORIM, M.J.A.A.L. Efeitos tóxicos de compostos de vanádio sobre os parâmetros biológicos de embriões e adultos de zebrafish (*Danio rerio*). **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v.70, n.6, p.1877-1886, 2018, doi.org/10.1590/1678-4162-10009.

CAJARAVILLE, M. P.; MARIGÓMEZ, J.; ANGULO, E. **Efeitos comparativos da fração acomodada em água de três óleos em mexilhões—1. Sobrevivência, crescimento e desenvolvimento das gônadas**. Bioquímica e Fisiologia Comparativa Parte C: Farmacologia Comparada, v. 102, n. 1, p. 103-112, 1992.

CELINO, J. J.; CORSEUIL, H. X.; FERNANDES, M.; SÁNCHEZ, G. M. Distribuição de hidrocarbonetos policíclicos aromáticos entre sedimento e água nos ecossistemas costeiros e estuarinos. **Águas Subterrâneas**, [S. l.], 2008. Disponível em: <https://aguassubterraneas.abas.org/asubterraneas/article/view/23677>. Acesso em: 20 ago. 2022.

CESAR, A.; SILVA, S. L. R. ; SANTOS A. R. **Testes de Toxicidade Aquática no Controle da Poluição**. Universidade Santa Cecília - UNISANTA - Santos, São Paulo, Brasil, 4 edições, 1997.

CICAD. **Manganese and its compounds: environmental aspects. Concise International Chemical Assessment Document**, WHO, Geneva, Switzerland, v. 63, 2004.

CHIARELLI, R., MARTINO, C., ROCCHERI, M. C., CANCEMI, P. Toxic effects induced by vanadium on sea urchin embryos. **Chemosphere**, v.274, p.129843, 2021.

CHIARELLI, R., AGNELLO, M., BOSCO, L., ROCCHERI, M. C. Sea urchin embryos exposed to cadmium as an experimental model for studying the relationship between autophagy and apoptosis. **Marine Environmental Research**, v. 93, p. 47-55, 2014.

CHOUDHURY, T.R.; ACTER, T.; UDDIN, N.; KAMAL, M.; SARWARUDDIN CHOWDHURY, A.M.; RAHMAN, M.S. Heavy metals contaminations of river water and sediments in the mangrove forest ecosystems in Bangladesh: A consequence of oil spill incident. **Environmental Nanotechnology, Monitoring & Management**, p.1-16, 2021.

CHOWDHURY, M.J.; BLUST R. Homeostasis and Toxicology of Non-Essential Metals- **Fish Physiology- Strontium**, v. 31B, c.7, p. 351- 390, 2012.

COMITÊ DO CONSELHO NACIONAL DE PESQUISA (EUA) sobre Petróleo no Mar: Insumos, Destinos e Efeitos. Petróleo no Mar III: Entradas, Destinos e Efeitos. Washington (DC): National Academies Press (EUA). Academia Nacional de Ciências. Petróleo no Mar III: Entradas, Destinos e Efeitos, 2003. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books>. Acesso em: 01 nov. 2022, doi: 10.17226/10388.

COSTA, C.R.; OLIVI, P.; BOTTA, C. M. R.; ESPINDOLA, E. L. G. A toxicidade em ambientes aquáticos: discussão e métodos de avaliação. **Revisão Química Nova**, v.31, n.7, p.1820- 1830 ,2008, doi.org/10.1590/S0100-404220080007000 38.

COUTO, M.V.S.; JUNIOR, E. F. de M.; SILVEIRA, SILVEIRA, C.V. da; SOUSA, N. C. Alterações leucocitárias ocasionadas pelo estresse toxicológico agudo do óleo diesel em juvenis de tilápia-do-nilo. **Arquivos do Instituto Biológico**, n.84, 2017, doi.org/10.1590/1808-1657000992016.

DISNER, G.R.; TORRES, M. Os impactos ambientais do derramamento de óleo de 2019 na costa brasileira: visão geral. **Revista Brasileira Gestão Ambiental Sustentável**, v. 7, n. 15, p. 193- 209, 2020.

DSIKOWITZKY, L., NORDAUS I., JENNERJAHN T.C. , KARYCHEVA p. , SIVATHARSHAN Y , YUWONO E. , SCHWARZBAUER J. .Anthropogenic organic contaminants in water, sediments and benthic organisms of the mangrove-fringed Segara Anakan Lagoon, Java, Indonesia. **Marine Pollution Bulletin**, n.62, p.851– 862, 2011.

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

ESCOBAR, H. Misterioso derramamento de óleo ameaça santuário marinho no Brasil. **Ciência**, v. 366, p. 672, 2019.

ESHAGBERI, G.O.; OFOTOKUN, J. Physico-chemical properties of water-soluble fractions of crude oil, diesel, kerosene, and gasoline. **Journal of Pristine**, v.15, n.1, p.1-12, 2019. ISSN 2250 – 9593.

ESTEVO, M.O.; LOPES, P.F.M.; JUNIOR, J.G.C.O.; JUNQUEIRA, A.B.; SANTOS, A.P.O.; LIMA, J.A.S.; MALHADO, A.C.M.; LADLE, R.J.; CAMPOS-SILVA, J.V. Immediate social and economic impacts of a major oil spill on Brazilian coastal fishing communities. **Marine Pollution Bulletin**, v.164, p. 111984, 2021.

FERNÁNDEZ, N.; BEIRAS, R. Combined toxicity of dissolved mercury with copper, lead and cadmium on embryogenesis and early larval growth of the *Paracentrotus lividus* sea-urchin. **Ecotoxicology**, v. 10, n. 5, p. 263-271, 2001.

FLICK, D.F., Krayhill, H.F., Dimitroff, J.M. Toxic effects of cadmium. A review. **Environ. Res.**, v. 4, p. 71–85, 1971.

GESAMP (Grupo Conjunto de Especialistas em Aspectos Científicos da Poluição Marinha. Londres, Reino Unido.). Impacto do petróleo e produtos químicos relacionados no ambiente marinho, v.25, n.50, p.180 ,1993.

GHARRED, T.; JEBALI, J.; BEZGACEM, M.; MANNAI, R.; ACHOUR, S. Assessment of the individual and mixture toxicity of cadmium, copper and oxytetracycline, on the embryo-larval development of the sea urchin *Paracentrotus lividus*. **Environmental Science and Pollution Research**, v. 23, n. 18, p. 18064-18072, 2016.

GODOI, A.F.L.; RAVINDRA, K.; GODOI, R.H.M.; ANDRADE, S.J.; SANTIAGO-SILVA, M.R.; VAECK, L.V.; GRIEKEN, R.V. Determinação cromatográfica rápida de hidrocarbonetos aromáticos policíclicos em amostras de aerossóis da queima de cana-de-açúcar. **Chromatography A**, v. 1027, n. 1-2, p. 49-53, 2004.

GONDAL, M.A.; HUSSAIN, T; YAMANI, Z. H.; BAIG, M.A. Detection of heavy metals in Arabian crude oil residue using laser induced breakdown spectroscopy. **Talanta**, p. 1072- 1078, 2006.

GOULART, M.L.A; LOEBENS, L; FARIAS, R.H.B.; DEMARCO, C.F.; QUADRO, M.S. Oil spills:cases and consequences analysis. **Revista Ibero Americana de Ciências Ambientais**, v.12, n.1, p.397 -416, 2021, doi: <http://doi.org/10.6008/CBPC21796858.2021.001.0033>.

GURGEL, C. A. V.; de QUEIROZ, G. B.; dos SANTOS, E. L. S. C.; GALVÃO, M. L. M. Impactos de extração do petróleo (óleo e gás) no Rio Grande do Norte, na região do alto do Rodrigues/RN, **HOLOS**, v. 3, p. 130-147, 2013.

HWANG, Un-Ki. Effects of lead and zinc on the fertilization and embryo development of the sea urchin (*Hemicentrotus pulcherrimus*). **Korean Journal of Environmental Biology**, v. 30, n. 2, p. 128-135, 2012.

IARC, International Agency for Research on Cancer. Monographs on the evaluation of carcinogenic risk of chemicals to humans: Polynuclear Aromatic Compounds, n.32, Lyon, 1983.

ICMBio- Área de Proteção Ambiental Costa dos Corais – Apa Costa dos Corais. Disponível em.: <https://www.icmbio.gov.br/apacostadoscorais/> Acesso em.: 07 jan. 2023.

JIANG, Z., HUANG, Y., Xu, X., LIAO, Y., SHOU, L., LIU, J., ZENG, J. Advance in the toxic effects of petroleum water accommodated fraction on marine plankton. **Acta Ecologica Sinica**, v.30, n.1, p.8-15, 2010.

LESSA, G.C.; TEIXEIRA, C.E.P.; PEREIRA, J; SANTOS, F.M. The 2019 Brazilian oil spill: Insights on the physics behind the drift. **Journal of Marine Systems**, v. 222, 2021, doi: <https://doi.org/10.1016/j.jmarsys.2021.103586>.

LI-HUA L., HSING-JUH L. Effects of an oil spill on benthic community production and respiration on subtropical intertidal sandflats. **Marine Pollution Bulletin**, v.73 ,p. 291–299, 2013.

LIU., Z., LIU, J., Z., Q., WU, W. The weathering of oil after the Deepwater Horizon oil spill: insights from the chemical composition of the oil from the sea surface, salt marshes and sediments. **Environmental Research Letters**, v.7, p.1-14, 2012. doi:10.1088/1748-9326/7/3/035302.

LOURENÇO, R.A.; ALEXANDRE, M.R.; SASAKI, S.T.; ZANARDI-LAMARDO, E.; YOGUI, G.T. Mysterious oil spill along Brazil's northeast and southeast sea board (2019–2020): trying to find answers and filling data gaps. **Boletim de Poluição Marinha**, v.156, p.111219, 2020, doi: <https://doi.org/10.1016/j.marpo.lbul.2020.111219>.

KIM, Y.S.; YOUSSEF, S.; INCE, S.; KIM, S.J; SEO, J. K.; KIM, B.J., HA, Y.; PAIK, J. Environmental consequences associated with collisions involving double hull oil tanker. **Ships and Offshore Structures**, v.10, p.479- 487, 2015, doi.org/10.1080/17445302.2015.1026762.

KING, C. K.; RIDDLE, M. J. Effects of metal contaminants on the development of the common Antarctic Sea urchin *Sterechinus neumayeri* and comparisons of sensitivity with tropical and temperate echinoids. **Marine Ecology Progress Series**, v. 215, p.143-154, 2001.

KOBAYASHI, N; OKAMURA, H. Efeitos de metais pesados no desenvolvimento embrionário de ouriço-do-mar. Traçando a causa pelos efeitos. **Chemosphere**, v.55; p. 1403- 1412, 2004, doi: <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2003.11.052>.

LOBÃO, M. M.; THOMAZELLI, F. F.; BATISTA, E. P. M. P.; OLIVEIRA, R.F.; SOUZA, M. D. C.; MATOS, N.A. V. Chronic oil spills revealed by the most important set of samples from the incident in northeastern Brazil, 2019. **Anais da Academia Brasileira de Ciências**, v.94, p. 1- 22, 2022, supl.2. Disponível em: www.fb.com/aabcjournal. Acesso em: 28 nov. 2022 Doi: 10.1590/0001-376 5202 22 02 0492.

MAGRIS, R. A.; GIARRIZZO, T. Misterioso derramamento de óleo no Oceano Atlântico ameaça a biodiversidade marinha e a população local no Brasil. **Poluição Marinha**, v. 153, p. 1-3, 2020.

MATOS, D; L.; CUNHA, D. R.; CUTRIM, S. Diagnóstico dos acidentes envolvendo derrame de óleo ao mar no complexo portuário de São Luis. **VI Congresso Internacional de Desempenho Portuário. Florianópolis**. Anais eletrônicos. Campinas, Galoá, 2019, doi:10.17648/cidesport-2019-114805.

MIGLIACCIO, O.; CASTELLANO I.; ROMANO G.; PALUMBO A. A resposta ao estresse ao cádmio e manganês em embriões em desenvolvimento de *Paracentrotus lividus* é mediada por óxido nítrico. **Aquatic Toxicology**, v.156, p.125-134, 2014.

MILINKOVITCH, T.; NDIAYE, A.; SANCHEZ, W.; FLOCH, S. L.; THOMAS- GUY. Liver antioxidant and plasma immune responses in juvenile golden grey mullet (*Liza aurata*) exposed to dispersed crude oil. **Aquatic Toxicology**, n. 101, p. 155- 164, 2011.

NAVAS J.M. *, BABÍN M., CASADO S., FERNANDEZ C., TARAZONA V.T. The Prestige oil spill: A laboratory study about the toxicity of the water-soluble fraction of the fuel oil. **Marine Environmental Research**, v.62, p.352–355, 2006.

NAHRGANG, J; CAMUS, L.; CARLS, M., G., GONZALEZ, P., JONSSON, M.; TABAN, I., C., BECHMANN, R., K., CRISTIANSEN, J., S.; HOP, H. Biomarker responses in polar cod (*Boreogadus saida*) exposed to the water-soluble fraction of crude oil. **Aquatic Toxicology**, v.97, p. 234- 242, 2010.

NEFF, J.M.; OSTAZESKI, S; GARDENIR,W.;STEJSKAL,I. Efeitos do intemperismo sobre a toxicidade de três óleos crus offshore australianos e um combustível diesel para animais marinhos. **Environ.Toxicol.Chem.**; v.19, ed.7, p.1809-1821, 2000.

NILIN, J; CASTRO,C.B.; PIMENTEL, M.F.; FRANKLIN- JUNIOR, W.; MATOS, R.F.G.; COSTA- LOTUFO, L.V. Evaluation of the viability of a microscale method for the short term chronic toxicity test using *Lytechinus variegatus* embryos. **Pan-American Journal of Aquatic Sciences**, v.3, n.2, p.122-129, 2008.

NOGUEIRA, L.S.; XOCHILT F.; DOMINGOS-MOREIRA, V.; KLEIN, R. D.; BIANCHINI, A.; MADEIRA, C.M. Influência de concentrações ambientalmente relevantes de Zn, Cd e Ni e suas misturas binárias na absorção, bioacumulação e desenvolvimento de metais em larvas do ouriço-do-mar roxo *Strongylocentrotus purpuratus*. **Aquatic toxicology** ,v.230, p. 105709, 2021.

NOYO, E. E., OKOLOKO, E. G.; AGBOGIDI, O., M. Physical and ionic characteristics in water soluble fraction (WSF) of Olomoro well-head crude oil before and after exposure to *Azolla Africana*. **Desv. African Journal of Biotechnology**, v.7, n.1, p.35- 40, 2008.

OLAIFA, F.E. Bioassay using the water-soluble fraction of a Nigerian Light Crude oil on *Clarias gariepinus* fingerlings. **Nigerian Journal of Physiological Sciences**, n.27, p.181- 187, 2012.

OLIVEIRA, O.M.C.; QUEIROZ, S.S.A.F.; CERQUEIRA, J.R.; SOARES, S.A.R.; GARCIA, K.S.; FILHO, A.P.; ROSA, L.M.L.S.; SUZART, C.M.; PINHEIRO, L.L.L.; MOREIRA, I. T.A. Environmental disaster in the Northeast Coast of Brazil: Forensic Geochemistry in the Identification of the Source of the Oily material. **Marine Pollution Bulletin**, v.160, p. 111597, 2020.

ORTIZ-ZARRAGOITIA, M.; CAJARAVILLE, M.P. Biomarcadores de exposição e efeitos relacionados à reprodução em mexilhões expostos a desreguladores endócrinos. **Arquivos de Contaminação Ambiental e Toxicologia**, v. 50, n. 3, p. 361-369, 2006.

PERUGINI M.*; VISCIANO P.; GIAMMARINO A. ; MANERA, M. ; NARDO, W. D.; AMORENA, M. Polycyclic aromatic hydrocarbons in marine organisms from the Adriatic Sea, Italy. **Chemosphere**, v. 66, p.1904–1910, 2007.

PILLAI, M. C. Hidrocarbonetos aromáticos policíclicos interrompem o desenvolvimento axial em embriões de ouriço-do-mar através de uma via dependente de β -catenina. **Toxicologia**, v. 186, n. 1-2, p. 93-108, 2003.

POLLINI, C. A.; HOLDWAY, D. A. Toxicity testing of crude and related compounds using early life stages of the crisnson- spotted rainbowfish (*Melanotaenia fluviatilis*). **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v.52, n.3, p. 180- 189, 2002.

RADENAC, G; FICHET, D; MIRAMAND, P. Bioacumulação e toxicidade de quatro metais dissolvidos em embriões de ouriços-do-mar *Paracentrotus lividus*. **Pesquisa Ambiental Marinha**, v.51, ed.2, p.151- 166, 2001.

REDDY, C.M.; NELSON, R.K.; HANKE, U.M.; CUI, X.; SUMMONS, R.E.; VALENTINE, D.L.; RODGERS, R.P.; CHACON-PATIÑO, M.L.; NILES, S. F.; TEIXEIRA, C.E.P.; BEZERRA, L.E.A.; CAVALCANTE, R.M.; SOARES, M.O.; OLIVEIRA, A.H.B.; WHITE, H.K. Synergy of Analytical Approaches Enables a Robust Assessment of the Brazil Mystery Oil Spill. **Energia e Combustíveis**, v. 36, n. 22, p. 13688 – 13704, 2022.

RESOLUÇÃO CONAMA N°454, DE 1º DE NOVEMBRO DE 2012. Environmental Canada. Canadian Sediment Quality Guidelines for the Protection of Aquatic Life. Canadian Environmental Quality Guidelines – Summary Tables. <http://www.ec.gc.ca>, atualizado em 2002.

RINGWOOD A.H. The relative sensitivities of different life stages of *Solignon californicum* to cadmium toxicity. **Arch.Contam.Toxicol.**, v19, p.338-340, 1990.

RODGERS, M.L., TAKESHITA, R., GRIFFITT, R. J. Deepwater Horizon oil alone and conjunction with *Vibrio anguillarum* exposure modulates immune response and growth in red snapper (*Lutjanus campechanus*). **Aquatic Toxicology**, v. 204, p. 91-99, 2015.

RODRIGUES, R. V; MIRANDA- FILHO, K. C.; GUSMÃO, E.P.; MOREIRA. C.B.; ROMANO, L. A.; SAMPAIO, L.A. Deleterious effects of water- soluble fraction of petroleum, diesel and gasoline on marine Pejerrey *Odontesthes argentinensis* larvae. **Science of the Total Environment**, v.408, p. 2054- 2059, 2010.

SAEED, T.; AL- MUTAIRI, M. Comparative composition of polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) in the sea water- soluble fractions of different Kuwaiti crude oils. **Advances in Environmental Research**, v.4, p. 144- 145, 2000.

SANTANA. D. C. N., PEREIRA, F. C., LOURENÇO, R. A.; SILVA, J.; MOREIRA, L.B.; ABESSA, D.M.S. Levels of hydrocarbons and toxicity of water- soluble fractions of Maritime fuels on neotropical invertebrates. **Ecotoxicology**, v.30, p. 2109- 2118, 2021, doi.: <https://doi.org/10.1007/s10646-021-02486-3>.

SILVA, V.A.; SILVA, J.R.M.C da ; EMERECIANO A.K. ; BORGES, J.C.S. Análise das gônadas femininas de ouriços-do-mar antárticos *Sterechinus neumayeri* expostos à fração solúvel do petróleo (FSA). **Asa**, São Paulo, v. 2, n. 2, p.12-20, 2014.

SOARES, M. O.; TEIXEIRA, C.E.P.; BEZERRA, L.E.A.; ROSSI, S.; TAVARES, T.; CAVALCANTE, R.M. Brazil oil spill response: Time for coordination. **Science**, v. 367, p. 155, 2020.

SOARES, M. O.; TEIXEIRA, C.E.P.; BEZERRA, L.E.A.; PAIVA, S.V.; TAVARES, T.C.L.; GARCIA, T.M.; ARAÚJO, J.T.; CAMPOS, C.C.; FERREIRA, S.M.C.; MATTHEWS-CASCON, H.; FROTA, A.; MONT'ALVERNE, T.C.F.; SILVA, S., T.; RABELO, E.F.; BARROSO, C.X.; FREITAS, J.E.P.; MELO-JUNIOR, M.; CAMPELO, R.P.S.; SANTANA, C.S.; CARNEIRO, P.B.M.; MEIRELLES, A.J.; SANTOS, B. A.; OLIVEIRA, A.H.B.; HORTA, P.; CAVALCANTE, R.M. Derramamento de óleo no Atlântico Sul (Brasil): desastre ambiental e governamental. **Mar Policy**, v.115, p. 103879, 2020 b.

SOARES, M.O.; SALANI, S.; PAIVA, S.V.; BRAGA, M.D.A. Naufrágios ajudam corais invasores a expandir seu alcance no Oceano Atlântico. **Marine Pollution Bulletin**, v. 158, p. 111394, 2020 c.

SOARES, E.C.; BISPO, M.D.; VASCONCELOS, V.C.; SOLETTI, J.I.; CARVALHO, S.H.V.; OLIVEIRA, M. J.; SANTOS, M. C.; FREIRE, E. S.; NOGUEIRA, A.S.P.; CUNHA, F.A.S.; SANDES, R.D.D.; SANTOS, R.A.R.; NETA, M.T.S.L.; NARAIN, N.; GARCIA, C. A.B.; COSTA, S.S.L.; SANTOS, J. C.C. Impacto do óleo no meio ambiente e organismos aquáticos no litoral dos estados de Alagoas e Sergipe, Brasil – uma avaliação preliminar. **Marine Pollution Bulletin**, v. 171, p. 112723, 2021.

SOARES, M.O.; TEIXEIRA, C.E.P.; BEZERRA, L.E.A.; RABELO, E.F.; CASTRO, I.B.; CAVALCANTE, R.M. The most extensive oil spill registered in tropical oceans (Brazil): the balance sheet of a disaster. **Environ. Sci. Pollut. Control Ser.** v.29, 19869–19877, 2022.

SPANGERBERG, J. V.; CHERR, G. N. Developmental effects of barium exposure in a marine bivalve (*Mytilus californianus*). **Environmental Toxicology and Chemistry**, v. 15, n.10, p.1769-1774, 1996.

SPRUNG, M. High larval abundances in the Ria Formosa (Southern Portugal) ♂ methodological or local effect? **Journal of Planckton Research**, v.16, n.2, p.151-160, 1994.

TELLI, M. S.; LAUER, M. M.; NADELLA, S.; BIANCHINI, A.; WOOD, C. M. Sublethal mechanisms of Pb and Zn toxicity to the purple sea urchin (*Strongylocentrotus purpuratus*) during early development. **Aquatic Toxicology**, v. 146, p. 220-229, 2014.

XU X.; LI Y.; WANG Y.; WANG Y. Assessment of toxic interactions of heavy metals in multi-component mixtures using sea urchin embryo-larval bioassay. **Toxicology in Vitro**, v. 25, p. 294–300, 2011.

UKPAKA, C.P. Evaluating the functional parameters that causes scale deposit on crude oil exploration, exploitation and production processes. **The Nigerian Academic Forum**, v. 20, n.1, p. 1-13, 2011.

YASNYGINA, T., A.; RASSKAZOVA, S., V.; MARKOVA, M. E.; ZHAROV, A., E.; MALYKH, I. M.; SARANINA, E.V.; FEFELOVA, N. N. Trace Elements and Sr Isotopes in the Crude Oils from the Sakhalin Offshore Fields. **Tikhookeanskaya Geologiya**, v.34, n.2, p. 32- 43, 2015.

ZAPATA- VÍVENES E.; NUSEITI, O.; MARCANO, L.; SANCHEZ, G.; GUDERLEY, H. Antioxidant defenses of flame scallop *ctenoides scaber* (Born, 1778) exposed to the water- soluble fraction of used vehicle crankcase oils. **Toxicology Reports**, v.7, p. 1597- 1606, 2020.

APÊNDICE I - Trabalho submetido para publicação

MPB-D-23-00709 - Confirming your submission to Marine Pollution Bulletin

Marine Pollution Bulletin <em@editorialmanager.com>

29 de março de 2023 às 08:44

Responder a: Marine Pollution Bulletin <support@elsevier.com>

Para: Helen Sadauskas-Henrique <helensadauskas@gmail.com>

Marine Pollution Bulletin

Title: Embryo-larval development of the sea urchin *Echinometra lucunter* exposed to the water-soluble fraction of spilled oil in Northeastern Brazil

Authors: Juliana dos Santos Pereira; Debora Cristina Nascimento de Santana; Iara Costa Souza; João Henrique Alliprandini da Costa; Rafael G arrett Dolatto; Marco Tadeu Grassi; Magdalena V. Monferrán; Camilo Dias Seabra Pereira; Helen Sadauskas-Henrique

Article Type: Research Paper

Dear Helen,

Your submission entitled "Embryo-larval development of the sea urchin *Echinometra lucunter* exposed to the water-soluble fraction of spilled oil in Northeastern Brazil" has been received by Marine Pollution Bulletin. It has been assigned the following manuscript number: MPB-D-23-00709.

You may check on the progress of your paper by logging on to the Editorial Manager as an author. The URL is <https://www.editorialmanager.com/mpb/>.

Please be aware that the average editorial time to first decision is 8.2 weeks.

Thank you for submitting your work to this journal. Please do not hesitate to contact me if you have any queries.

Kind regards,

Marine Pollution Bulletin

For any technical queries about using EM, please contact Elsevier Author Support at authorsupport@elsevier.com

This journal uses the Elsevier Article Transfer Service. This means that if an editor feels your manuscript is more suitable for an alternative journal, then you might be asked to consider transferring the manuscript to such a journal. The recommendation might be provided by a Journal Editor, a dedicated Scientific Managing Editor, a tool assisted recommendation, or a combination. For more details see the journal guide for authors.

#AU_MPB#

To ensure this email reaches the intended recipient, please do not delete the above code

In compliance with data protection regulations, you may request that we remove your personal registration details at any time. (Remove my information/details). Please contact the publication office if you have any questions.