TESTES ECOTOXICOLÓGICOS USADOS PARA AVALIAÇÃO DE IMPACTO AMBIENTAL, RESULTANTE DA EXTRAÇÃO E REFINO DE PETRÓLEO NA BAÍA DE TODOS OS SANTOS, BAHIA, BRASIL.

I. A. NASCIMENTO*
S. A. PEREIRA*
D. H. SMITH *
A. J. A. EVANGELISTA*
Instituto de Biologia, Universidade Federal da Bahia.
Campus Universitário de Ondina, CEP 40.170-290. Salvador, Bahia, Brasil.

RESUMO

A toxicidade da água de superficie e intersticial do sedimento foi determinada em seis estações na Baía de Todos os Santos, Bahia, Brasil, para avaliar a possibilidade de impacto ambiental cronico, induzido por quarenta anos de atividade da indústria de petróleo nesta área. Amostras coletadas de quatro estações associadas com extração (Estação 4), transporte (Estações 2 e 3) e refinaria (Estação 1) de petróleo, e duas estações controle (Estações 5 e 6) foram submetidas a testes ecotoxicológicos usando teste agudo para nauplius de *Artemia salina,* Early Life Stages Tests (ELSTs) para embriões de ouriço (*Echinometra lucunter*) e da ostra de mangue (*Crassostrea rhizophorae*) além do teste cronico para a microalga *Tetraselmis chuii.* Análises de variância não paramétricas de Friedman foram utilizadas com o objetivo de integrar os resultados significativamente diferentes entre as estações estudadas. Para integrar as respostas tão variadas entre os diferentes organismos, em cada período de amostragem, uma escala de 0.0 (resposta mínima) a 1.0 (resposta máxima) foi utilizada, permitindo o cálculo de valores médios para cada espécie e a ordenação das estações em uma escala qualitativa de impacto relativo. Uma análise de cluster das seis estações e dois tipos de substratos, com base em sua toxicidade para as quatro espécies estudadas, serviu bem para ilustrar as similaridades e diferenças entre as estações. A água intersticial foi mais tóxica, mostrando a seguinte ordenação: Est.6< Est.5 < (Est.3 = Est.2) < (Est.4 = Est.1). Para a água de superficie a ordenação foi (Est.5 = Est.6) < (Est.2 = Est.3 = Est.1 =Est.4). Em combinação, os procedimentos estatísticos servem eficientemente para a descrição e teste inferencial de respostas de multiespécies e confirmou a existencia de impacto cronico produzido pela atividade da indústria de petróleo na área estudada.

Palavras chave::Ecotoxicologia, impacto ambiental, petróleo, Bahia

ABSTRACT

The toxicities of surface waters and intersticial waters from the sediment were determined at six study sites in Todos os Santos Bay, Bahia, Brazil, to evaluate the possibility of chronic environmental impact induced by 40 years of exposure to the local petroleum industry. Samples collected from four sites associated with the extraction (Station 4), transportation (Stations 2 and 3) and refinement (Station 1) of petroleum, and from two control sites (Stations 5 and 6) were tested in etoxicological assays using acute mortality of brine shrimp (*Artemia salina*) nauplii and chronic abnormalities of sea-urchin (*Echinometra lucunter)* and the mangrove oyster (*Crassostrea rhizophorae*)

larvae, besides the daily duplication index for the microalgae *Tetraselmis chuii* . Friedman nonparametric analysis of variance integrated seasonal variations in species response patterns and revealed significant differences among the study sites. Ranging the among site variations for each organism in each sampling period, on a scale from 0.0 (minimum response) to 1.0 (maximum response), permitted the calculation of a single mean value for each species and the ordination of the sites on a qualitative scale of relative impact. A cluster analysis of the six sites and two aquatic substrates, based on their toxicities to all four species, served well to illustrate the similarities and differences among locations. Intersticial waters were more toxic, revealing an integrated ordination of ST6 < St5 < (St3 = St2) < (St4 = St1). The ordination based on surface waters was (St5 = St6) < (St2 = St3 = St1 = St4). In combination, the statistical procedures served efficiently for the description and inferencial testing of the multispecies responses and, confirmed the existence of chronic impact by petroleum industry within the study area.

Key words: **Ecotoxicology, environmental impact, petrol, Bahia, tropical**

INTRODUÇÃO

No Brasil a preocupação com o impacto real e potencial das atividades humanas nos ecossistemas marinhos, está aumentando. Este fato tem promovido o desenvolvimento de novas tecnologias, capazes de detectar impacto de modo rápido e seguro. A grande sensibilidade dos testes com estágios jóvens de vida (ELSTs), comparados a outros testes de toxicidade, fornece aos toxicologistas um instrumento eficiente na avaliação de poluição ambiental (McKim, 1985). Entretanto, essa avaliação será muito mais segura se for feita com base nas respostas de várias espécies, e não de uma única espécie (Gray, 1992). As diferenças na sensibilidade entre as espécies, no entanto, leva a uma dificuldade na interpretação dos resultados.

Em 1993, a Petrobrás em cooperação com a Universidade Federal da Bahia, iniciou um estudo intensivo e integrado de impacto ambiental gerado durante 40 anos de extração, transporte e refino de petróleo nos ecossistemas de manguezais ao Norte da Baía de Todos os Santos, Bahia, Brasil. Os resultados de tres tipos de testes ecotoxicológicos (agudo, ELSTs, e crônico), envolvendo dois tipos de substratos, quatro organismos-testes, seis estações e sete períodos de amostragem, foram altamente variáveis. Um método simples foi necessário para integrar estes resultados numa única avaliação final, capaz de relacionar as estações em termos de graus de impacto e detectar diferenças significativas entre estações impactadas e estações controle.

Este estudo descreve as diferenças observadas entre estações de amostragem, bem como os procedimentos para integração de resultados altamente variáveis, expressando de um modo geral a toxicidade de cada estação como um valor médio global numa escala qualitativa, além dos resultados de testes não paramétricos de comparação de médias múltiplas entre áreas impactadas e áreas controle.

MATERIAL E MÉTODOS

1. Desenho Experimental

Seis estações dentro da Baía de Todos os Santos, Bahia, Brasil, foram incluidas neste estudo (Figura 1). Quatro possivelmente impactadas (Estações de 1 a 4), expostas a influencia da indústria de petróleo localizada no nordeste da Baía de Todos os Santos,

e duas estações controle (Estações 5 e 6), livres de impacto de petróleo, localizadas dentro do canal entre a terra firme e a ilha de "Itaparica", próxima a entrada da baía. As seis estações foram comparadas com base na toxicidade de dois substratos (água intersticial extraída do sedimento e água de superfície).

2. Sumário dos Tipos de Testes Ecotoxicológicos, dos Organismos-Testes e dos métodos utilizados.

TIPO TESTE	ORGANISMO-TESTE	DURAÇÃO (h)	END POINT	MÉTODO PADRÃO	MATERIAL TESTADO
AGUDO	*A.salina* (nauplius)	48	Mortalidade	Vanhaeck & Persoone (1984)	Água intersticial Água superfície
Early life Stages Tests (ELSTs)	*C.rhizophorae* (embriões)	24	Anormalidade	Nascimento et al.,1989	Água intersticial Água superfície
	E. lucunter (embriões)	36	Anormalidade	Araújo & Nascimento (1991)	Água intersticial Água superfície
CRONICO	*Tetraselmis chuii* (microalgas)	96	K (índice de duplicação diária	Silva & Pereira (1994)	Água intersticial Água superfície

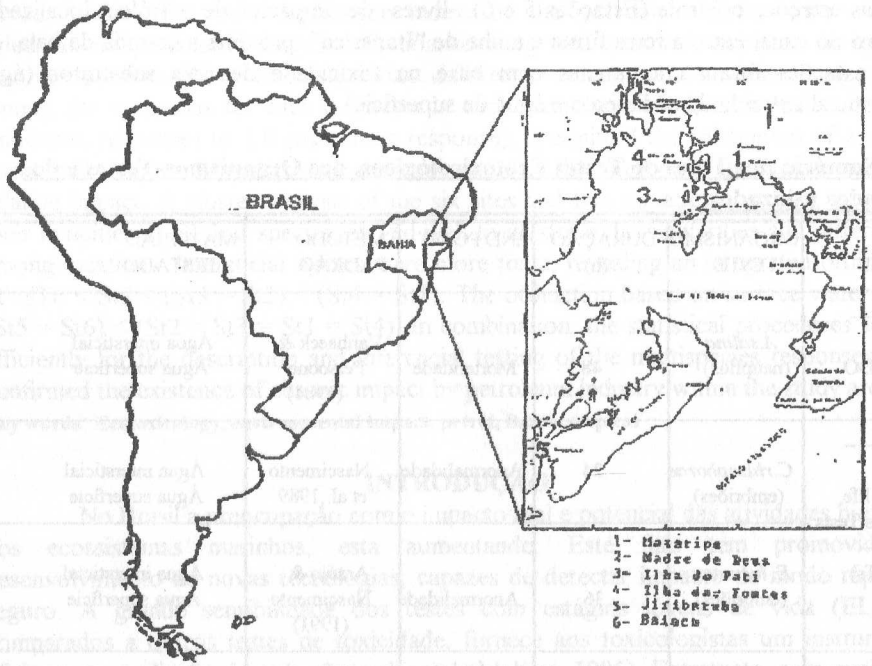

Figura 1- Localização das seis estações de estudo para avaliação de impacto ambiental na área norte da Baía de Todos os Santos, Bahia, Brasil.

Quatro amostras de água intersticial extraída do sedimento e 2 de água de superfície, coletadas em cada uma das 6 estações estudadas, em 7 campanhas, com intervalo de 3 meses, foram testadas contra um controle branco, que consistia de água do mar de boa qualidade, filtrada e esterilizada (Nascimento, 1996). Foram utilizadas duas réplicas para cada um dos 3 tipos de testes ecotoxicológicos e para cada tipo de substrato, utilizando os procedimentos padrões descritos acima.

A mesma série de diluições das amostras (17, 24, 35, 49, 70%) foi usada em todos os testes. Acima de 70% a salinidade da água excede as condições ótimas para o desenvolvimento embrionário e larval das ostras e o crescimento de *T.chuii*. Em testes com ouriço e *Artemia* , mais uma concentração de 100% da amostra foi incluida.

3. Análise Estatística

Respostas dos organismos a toxicidade dos substratos foram expressas como Percentagem Líquida (% Net Risk), calculada com base na formula de Abbott's (Finney, 1971).

Para reduzir as variações entre as respostas encontradas e para unificar numa escala comparativa e integrada os vários períodos e testes, os resultados de cada teste, em cada período de amostragem foram relacionados entre os valores de 0.0 para a resposta mínima e 1.0 para a resposta máxima, usando uma fórmula de transformação linear descrita por Gower (1971), para padronização de características usadas em coeficiente de similaridade:

$$X' = (X - Xmin) / (Xmax - Xmin)$$

Os valores encontrados para cada tipo de teste, em todos os sete períodos de amostragem, foram subsequentemente considerados como replicatas para cada estação. Sua distribuição foi depois reduzida a um único valor médio, que foi classificado numa escala qualitativa de toxicidade relativa:

0.0 - 0.15 = relativamente não tóxica
>0.15 - 0.30 = toxicidade mínima
>0.30 - 0.60 = toxicidade média
>0.60 - 1.00 = toxicidade máxima

ANOVA não paramétrica de Friedman (Conover, 1971) foi aplicada sobre os valores originais de % Net Risk, para estatisticamente cancelar os efeitos sazonais, e fazer uma comparação inferencial entre as estações. Este procedimento também produz uma média ordenada para cada estação em uma escala contínua de 1 a 6 (número total de pontos de amostragem).

Finalmente uma análise de cluster com base nos coeficientes de similaridade de Gower e o algarítmo UPGMA (Método de pares de grupos não ponderados utilizando médias aritméticas), foi usada para ilustrar as similaridades e diferenças entre as estações.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Valores médios de % Net Risk de anormalidade para embriões de ouriços e ostras, de mortalidade para nauplius de *A.salina* e de % de inibição ou estimulação para as microalgas *T.chuii* são mostrados respectivamente nas Figuras de 2 a 9. Utilizando esses valores médios de % Net Risk para as diferentes estações e organismos-testes, aplicou-se a fórmula de Gower (1971) para os resultados de cada período de amostragem (Tabela 1) . Os valores individuais para água intersticial foram obtidos com base em duas replicatas, de quatro amostras e em sete períodos de amostragem (n=56) e para água de superfície em duas replicatas de duas amostras em sete períodos de amostragem (n=28), de janeiro 1994 a Janeiro de 1996.

Observando-se os dados da Tabela 1, nota-se que os resultados obtidos para água intersticial indicam a Estação 6 controle (Baiacu) como relativamente não apresentando toxicidade, a Estação 5 controle (Jiribatuba) com toxicidade mínima, as

Estações 2 e 3 (áreas de transporte de petróleo) com toxicidade média e as Estações 1 e 4 (refino e extração) com toxicidade máxima .

Com relação a água de superfície, nesta mesma Tabela, os resultados indicam as duas estações controle (5 e 6) como de toxicidade mínima, e as estações de 1 a 4 (todas sob ação da indústria petroleira) como de toxicidade média. Esse resultado era esperado, visto que é no sedimento que se deposita a maior parte das substancias lançadas na água, além do que a circulação da água de superfície, principalmente pelo movimento das marés, funciona como diluidor dessas substancias na água do mar. Essa escala qualitativa com base nas médias dos valores ordenados, utilizada para reduzir as variações entre as respostas encontradas para os vários períodos e testes, no entanto, tem uma grande limitação (Gower, 1971). Quando existem diferenças significativas entre as estações, as mais impactadas irão mostrar altos valores (próximos de 1.0), e as menos impactadas, valores baixos, (próximos de 0.0) independente do valor absoluto do grau de impacto. Além disso, a escala é relativa ao estudo específico a as estações que foram analisadas, e não pode ser usada para classificar estações em uma escala absoluta, nem para fazer comparações com outros estudos.

O dendograma da análise de grupamentos (Figura 10) mostra claramente as similaridade entre as várias estações de amostragem. Nas estações impactadas (1, 2, 3 e 4) a água intersticial do substrato foi significativamente mais tóxica que a água de superfície. O dendograma mostra ainda que a similaridade da água intersticial entre as quatro estações impactadas (1-I, 2-I, 3-I e 4-I) foi maior que a similaridade entre água intersticial e de superfície da mesma estação. A água de superfície das mesmas estações formou um segundo grupo (1-S, 2-S, 3-S e 4-S), em que a água da Estação 4, foi a mais semelhante à água intersticial do mesmo grupo. As duas estações controles, Estações 5 e 6, mostraram as maiores similaridades entre si. Suas águas intersticial e de superfície formam um grupo único (5-S, 6-S, 5-I e 6-I) com maior homogeneidade entre as duas amostras de água que as demais estações.

CONCLUSÃO

Os resultados de todos os testes estatísticos, com base nos estudos com 3 diferentes espécies em dois tipos de substratos, confirmaram que as estações controle apresentaram resultados diferentes das estações da Petrobrás e que a área norte da Baía de Todos os Santos é significantemente impactada. Os resultados sugerem que o maior grau de impacto é encontrado no sedimento (água intersticial) e não dentro da coluna de água (água de superfície).

REFERÊNCIA BIBLIOGRÁFICA

ARAÚJO, M. M. S., NASCIMENTO, I. A. Testes de toxicidade como mecanismos de biomonitora-mento e previsão de impacto ambiental. I. Comparação da sensibilidade de organismos locais ao Dodecil Sulfato de Sódio. Monografia apresentada ao Curso de Ciencias Biológicas. Instituto de Biologia- UFBa. 1991.

CONOVER, W.J. Pratical Nonparametric Statistics. New York: John Wiley & Sons, 1971. 205p.

FINNEY, D. J. Probit Analysis. 3ed. Cambridge: Cambridge University Press, 1971. 333p.

GOWER, J. C. A general coefficient of similarity and some of its properties. **Biometrics** 27: 857-871. 1971.

GRAY, L.S. Biological and ecological effects of marine pollutions and their detection. **Mar. Poll. Bull.** 25(1-4): 48-50. 1992.

MCKIN, J. M. Early Life Stage Toxicity Tests. Chapter 3, pp 58-95. In: Fundamentals of Aquatic Toxicology. G.M. Rand and S.R. Petrocelli (eds). New York: Hemisphere Publish. Corp., 1985. 659p.

NASCIMENTO, I. A. et al. Testes de toxicidade: Padronização e aplicação em avaliação e biomonitoramento para águas tropicais, estuarinas e marinahs. Resumos do Workshop Internacional em Estratégia de Monitoramento Ambiental. MARC/UFBa, Salvador, Ba. 1989. p.37.

NASCIMENTO, I. A. et al. Relatório Técnico-científico do Subprojeto "Testes Ecotoxicológicos" do Programa de Monitoramento dos Ecossistemas ao norte da Baía de Todos os Santos, Convenio Petrobrás/UFBa, Julho de 1996. 80p.

SILVA, M. A., PEREIRA, S.A., NASCIMENTO, I. A. Manual de Técnicas de Bioensaios. 2ed. Instituto de Biologia- UFBa. 1994. 43p.

VANHAECKE, P.; PERSOONE, G. The ARC-test: a standardized short-term routine toxicity test with Artemia nauplii. Methodology and Evaluation. In: Persoone, G., Jarper, E. & Claus, C. (Eds) Ecotoxicological Testing for the Marine Environment. Belgium: State University of Ghent and Institute of Marine and Scientific Research, 1984, v.2 p. 143-158.

Tabela 1 - Valores médios de % Net Risk para as diferentes estações e organismos-testes, após aplicação da fórmula de Gower (X'= (X-Xmin) / (Xmax - Xmin) para os resultados de cada período de amostragem. Valores individuais para água intersticial são baseados em duas replicatas, de quatro amostras e em sete períodos de amostragem (n=56) e para água de superfície em duas replicatas de duas amostras em sete períodos de amostragem (n=28), de janeiro 1994 a Janeiro de 1996.

LEGENDA: 0.0 – 0.15 Referência; >0.15 - 0.30 Toxicidade mínima; >0.30 – 0.60 Toxicidade média; >0.60-1.00 Toxicidade maxima

ÁGUA INTERSTICIAL

TIPO TESTE	"END-POINT"	ESTAÇÕES / ORGANISMO	1 Refino	2 Transporte	3 Transporte	4 Extração	5 Controle	6 Controle
ELSTs	Anormalidades de embriões e larvas	EMBRIÕES OSTRAS	0.94	0.85	0.86	0.91	0.24	0.06
		EMBRIÕES OURIÇO	0.39	0.55	0.54	0.72	0.36	0.14
AGUDO	Mortalidade	*ARTEMIA SALINA*	0.84	0.19	0.15	0.55	0.00	0.00
CRONICO	Índice duplicação diária (K)	ALGAS *T. chuii*	0.88	0.49	0.73	0.66	0.18	0.28
	$\bar{X}$		0.76	0.52	0.57	0.71	0.19	0.12

ÁGUA DE SUPERFÍCIE

TIPO TESTE	"END-POINT"	ESTAÇÕES / ORGANISMO	1 Refino	2 Transporte	3 Transporte	4 Extração	5 Controle	6 Controle
ELSTs	Anormalidades de embriões e larvas	EMBRIÕES OSTRAS	0.10	0.30	0.55	0.80	0.49	0.13
		EMBRIÕES OURIÇO	0.69	0.30	0.44	0.48	0.18	0.18
AGUDO	Mortalidade	*ARTEMIA SALINA*	0.41	0.47	0.23	0.70	0.00	0.00
CRONICO	Índice duplicação diária (K)	ALGAS *T. chuii*	0.73	0.35	0.35	0.31	0.46	0.45
	$\bar{X}$		0.48	0.35	0.39	0.57	0.19	0.28

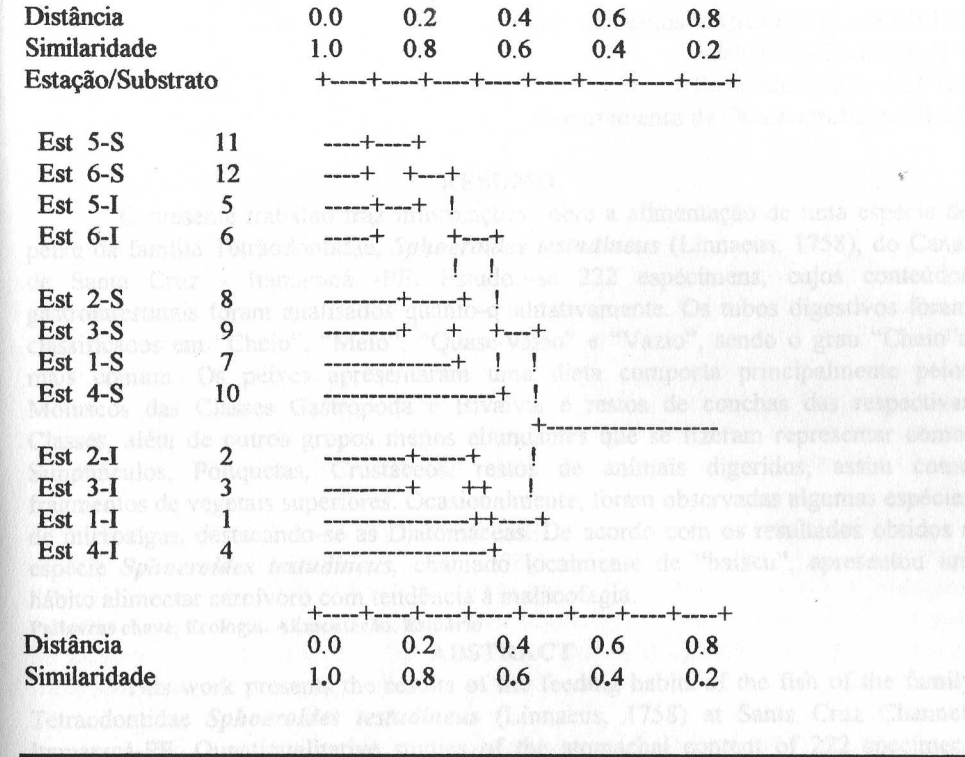

Figura 10 - Dendrograma da análise de cluster de seis estações de amostragem e dois substrato com base na sua toxicidade para embriões de *C. rhizophorae, E.lucunter,* e nauplius de *A. salina.* A classificação foi feita usando o coeficiente de similaridade de Gower (S= água superfície; I= água intersticial do sedimento)