

**Programa de Monitoramento da Biodiversidade Aquática da
Área Ambiental I – Porção Capixaba do Rio Doce e Região
Marinha e Costeira Adjacente**

A3MFS1 – Material Suplementar 1

Anexo 3 Marinho - Fitoplâncton

RT-39 RRDM/FEV 22

RA2021 PMBA/Fest-RRDM

Vitória,

Fevereiro de 2022

SUMÁRIO

1. METODOLOGIA DE COLETA E ANÁLISE.....	2
1.1 ALTERAÇÕES METODOLÓGICAS NA COLETA DE FITOPLÂNCTON PARA O ANO 2.....	5
1.2 ALTERAÇÕES METODOLÓGICAS NA COLETA DE FITOPLÂNCTON PARA O ANO 3.....	6

1. METODOLOGIA

A coleta para análise qualitativa do fitoplâncton na calha dos rios e nos ecossistemas lacustres, foi utilizado o método do arrasto superficial com rede de plâncton de abertura de malha de 20 μ m, na subsuperfície (aproximadamente 20 cm de profundidade), sendo uma amostra por ponto amostral. A amostra coletada em cada ponto foi dividida em duas partes, acondicionadas em frascos de polietileno (100 ml), sendo uma das partes fixada com formol 4%, enquanto a outra foi mantida sem fixador (viva). As amostras foram acondicionadas em caixa térmica com gelo permanente, para análise do material vivo em laboratório. As espécies foram analisadas em microscópio óptico Motic Panthera, equipado com câmera e aplicativo de imagens. A identificação foi realizada ao menor nível taxonômico possível usando bibliografias específicas. Para o estudo quantitativo do fitoplâncton na calha do Rio Doce e Rio Guandu, foram coletadas amostras de 100 mL de água em cada estação amostral, submergindo o frasco a 20 cm de profundidade. Nos ambientes lacustres, amostras de 100 mL de água foram coletadas na subsuperfície e na profundidade de 1% da radiação solar incidente na superfície (PC), com garrafa de Van Dorn. Todas as amostras quantitativas foram acondicionadas em frascos de vidro âmbar (100 mL) e fixadas com solução de lugol acético 5%.

A densidade do fitoplâncton foi estimada pelo método de Utermöhl (1958), em microscópio invertido Motic AE2000 em aumento de 400x, usando tempo de sedimentação de pelo menos 3 horas para cada centímetro de altura da câmara (MARGALEF, 1983). O volume sedimentado por amostra variou entre 2 a 25 mL, de acordo com as condições de cada amostra. A partir dos dados qualitativos e quantitativos foram determinadas: a riqueza de espécies, a densidade total de indivíduos (ind/mL), densidade de células de cianobactérias (cel/mL), a diversidade da comunidade fitoplanctônica através dos índices de diversidade de Shannon-Weaver (1949), equitabilidade segundo Pielou (1975) e dominância através do índice de Simpson (1949). A biomassa foi calculada a partir da concentração de clorofila-a, segundo método de Strickland e Parsons (1972) adaptado por Barroso e Littlepage (1998), conforme descrito no subprojeto “A3D - limnologia (água)” O biovolume de cada táxon presente na comunidade ($\mu\text{m}^3.\text{mL}^{-1}$) foi determinado pela multiplicação dos valores de densidade específica e biovolume específico (μm^3), calculado a partir das formas geométricas, segundo Hillebrand et. al. (1999) e Sun & Liu (2003). A determinação das cianobactérias com maior potencial de produção de toxinas foi feita a partir do registro de cepas comprovadamente tóxicas para outros ecossistemas brasileiros, segundo Sant’Anna et al. (2008).

Também foram avaliados o esforço amostral na determinação do levantamento da biodiversidade de algas fitoplanctônicas, com uso da curva de rarefação de espécies (MAGURRAN, 2011), a diversidade beta e seus componentes de substituição de espécies (turnover) e aninhamento (nestedness), segundo Baselga (2010). A ordenação das estações amostrais de acordo com sua composição de espécies foi avaliada utilizando a análise de escalonamento multidimensional não métrico (nMDS; LEGENDRE & LEGENDRE; 2012). A riqueza funcional foi estabelecida a partir dos grupos funcionais (sing.sp) formados utilizando a função dbFD do pacote FD, com base em cinco traços funcionais: forma (unicelular, colonial, cenobial ou filamentosa), fração da comunidade em relação ao tamanho (pico,

nano, micro ou mesoplâncton), motilidade (imóvel, aerótopo ou flagelo), demanda por sílica e presença de heterócito. As tendências temporais na riqueza (taxonômica e funcional) da comunidade fitoplanctônica, foram testadas usando modelos aditivos de efeitos mistos generalizados (GAMM; função "gam4"). A curva com a tendência temporal foi obtida pelo método de suavização LOESS (Locally-Weighted Scatterplot Smoother) (função "plotGAMM").

Mapas de Vetores Assimétricos (Asymmetric Eigenvector Maps - AEM; Blanchet, Legendre & Borcard, 2008; 2009) foram utilizados para modelar a variação espacial da região do baixo rio Doce. A partir deste modelo espacial foram criadas novas variáveis que levam em consideração a direção dos fluxos de água e a conectividade entre as estações amostrais. O coeficiente I de Moran foi utilizado para a análise dos autovetores gerados e foram utilizados aqueles com autocorrelação espacial positiva e significativas ($p \leq 0.05$; Blanchet *et al.*, 2011; Bertolo *et al.*, 2012). Os vetores espaciais foram utilizados juntamente com o conjunto de variáveis ambientais (temperatura da água, material particulado em suspensão, condutividade elétrica, fósforo total, nitrogênio total e silicato) e metais (alumínio total, bário total, cromo total, ferro total e manganês total) como conjuntos de variáveis preditoras na análise de particionamento da variância, com o intuito de avaliar os efeitos, puros e compartilhados, das variáveis abióticas sobre a variabilidade da comunidade fitoplanctônica. Os efeitos puros de cada conjunto de variáveis foram testados a partir da análise de variância ANOVA ($p \leq 0.05$).

Todas as análises foram realizadas no programa R (versão 4.0.3; R CORE TEAM, 2020).

1.1 COLETA E ANÁLISE

As amostras do fitoplâncton na área de estudo do Programa de Monitoramento da Biodiversidade Aquática da Área Ambiental (PMBA/Fest-RRDM), foram coletadas em superfície e próximo do fundo conjuntamente com as amostragens para determinação das variáveis químicas. Estas amostras foram submetidas a análises quantitativas e qualitativas e à quantificação da concentração de clorofila-a e feopigmentos em laboratório, bem como a determinação da clorofila ativa.

As amostragens quantitativas serão realizadas com o uso de garrafa oceanográfica e fixadas com solução formalina a 2% neutralizada com hexametilenotetramina. A contagem do fitoplâncton será realizada utilizando-se câmara de sedimentação de Utermöhl (UTERMÖHL, 1958) em microscópio invertido, após um tempo mínimo de 24 horas de sedimentação conforme Lund, Kipling e Le Cren (1958).

As amostras para análise qualitativa foram coletadas através de arrastos verticais com o uso de rede de plâncton com malha de 60 μm de abertura, à baixa velocidade, na superfície das estações amostrais e foram separadas em dois grupos: amostras fixadas com soluções de formalina a 2% e amostras fixadas com solução de lugol neutro. Em laboratório foi empregado o uso de microscópio biológico óptico, equipado com câmera USB para registros de imagens e ocular de medição. Os organismos foram esquematizados e identificados, analisando-se as suas características morfológicas e

morfométricas e utilizando-se bibliografia especializada. Os nomes científicos das Espécies encontradas nas amostras foram consultados junto ao banco de dados internacional ALGAEBASE (<http://www.algaebase.org/>).

Os resultados serão expressos em organismos por mL e convertidos em organismos por litros (abundância ou densidade de organismos), conforme Equação 1 mostrada adiante:

$$N = n \times A \times 1 V \quad (\text{Equação 1})$$

Onde:

N = Número de organismos por ml

n = número de organismos contados

a = Área contada

A = Área total da câmara

V = Volume total sedimentado

Além disso, o fitoplâncton será classificado em duas frações de tamanho durante a quantificação: nanofitoplâncton (2 a 19 μm) e microfitoplâncton (maior que 20 μm). Os índices de diversidade específica ($\text{bits} \cdot \text{organismo}^{-1}$) foram calculados a partir dos valores de densidade numérica do fitoplâncton, conforme o método proposto por SHANNON e WEAVER (1963). Tal índice fornecerá uma medida do grau médio de incerteza em prever que Espécies e indivíduos serão escolhidos aleatoriamente de um total de S Espécies e N indivíduos (DAJOZ, 1973). MARGALEF (1976) ressalta que em comunidades naturais, os valores numéricos do índice de diversidade de Shannon-Weaver raramente excedem 5 bits (unidade de medida de H, sem dimensões vinculadas) por indivíduo. Ademais, a diversidade em comunidades fitoplanctônicas, em bits por célula, está normalmente entre 1 e 2,5 em águas costeiras e entre 3,5 e 4,5 em águas oceânicas.

A equabilidade das Espécies foi obtida através da expressão de PIELOU (1977; 1966), cujos valores se enquadram entre 0 e 1, sendo considerado alto ou equitativo os índices superiores a 0,50, o qual representa uma distribuição uniforme dos táxons na amostra analisada. Logo, quanto mais igualmente distribuído estiver o total de indivíduos nas n Espécies, maiores serão a equabilidade e a diversidade.

As amostras de clorofila-a e feopigmentos foram analisadas por réplicas, tendo como resultado final uma média entre estas. As análises de clorofila-a e feopigmentos foram realizadas seguindo-se os métodos descritos no Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater da APHA/AWWA/WEF (2005), enquanto a determinação espectrofotométrica da concentração de pigmentos fotossintéticos foi obtida através das duas equações monocromáticas de LORENZEN (1967). Ademais, a clorofila ativa (%) será estimada a partir da razão dos valores de clorofila-a pela concentração total de pigmentos (clorofila-a e feopigmentos).

Além da coleta de amostras de água realizou-se a amostragem da radiação fotossinteticamente ativa (RFA), onde os equipamentos Li Cor hidro radiômetro, acoplado a uma gaiola junto com a sonda YSI EXO 2, realizaram perfilagens conjuntas, capturando dados na mesma frequência (1Hz). Através dos dados de RFA obtidos pelo hidro radiômetro (que não possui profundímetro) e os dados de profundidade obtidos pela Sonda YSI EXO 2, foram calculados perfis de RFA, fração de radiação incidente (%) para cada profundidade de coleta (superfície, meio e fundo), e calculado o coeficiente vertical de atenuação da luz – Kd (RFA) (KIRK, 1986), através das fórmulas abaixo:

$$(\%) \text{radiação incidente} = \frac{(RFA_1 \cdot 100)}{RFA_0} \quad (\text{Equação 1})$$

Onde:

RFA_1 é a RFA aferida a determinada profundidade;

RFA_0 é a RFA aferida em subsuperfície (assim que o equipamento é imerso na água);

$$Kd(RFA) = \frac{\ln(I_0) - \ln(I_1)}{z} \quad (\text{Equação 2})$$

Onde: I_0 é a RFA aferida na subsuperfície;

I_1 é a RFA aferida na profundidade para a qual se deseja calcular o Kd(RFA);

e z é a profundidade em metros (m) para a qual se deseja calcular o Kd(RFA).

Foram feitas médias dos valores de meio e fundo (uma vez que Kd não se aplica a superfície), que foram plotadas espacialmente no programa ODV (*Ocean Data View*).

1.1.1 Alterações metodológicas na coleta de fitoplâncton para o Ano 2

Algumas alterações metodológicas foram feitas nas coletas de fitoplâncton estuarino e marinho para o Ano 2 do Programa de Monitoramento da Biodiversidade Aquática da Área Ambiental (PMBA/Fest-RRDM). Dentre as mudanças teve-se a supressão da coleta do meio da coluna d'água para as análises quantitativas e de pigmentos, enquanto continuou-se o procedimento de coleta adotado para as profundidades de superfície e fundo da coluna d'água. Também houve a exclusão das amostras qualitativas fixadas com solução de lugol neutro, pois observou-se que as amostras fixadas com solução de formalina a 2% neutralizada com hexametilenotetramina são suficientes para levantamento qualitativo. Outra alteração metodológica foi a redução dos volumes filtrados e coletados para as análises quantitativas no Setor Abrolhos, reduzindo o volume filtrado das amostras de pigmentos de dois litros (2L) por réplica para um litro (1L), e a redução no volume coletado das amostras quantitativas em Abrolhos de um litro (1L) para 250 ml, seguindo o mesmo protocolo de coleta aplicado para os outros setores. Além disso, a sonda YSI EXO2 passou a ser lançada como unidade *stand alone* (sem cabo e *handheld*), devido à utilização do cabo aumentar o risco de incidentes, como o ocorrido em abril

de 2019 na estação ABR 02, onde o cabo acabou por se prender ao fundo exigindo grande manobra para a recuperação do equipamento que sofreu alguns danos como consequência.

Tais alterações foram realizadas pois, a princípio, acreditava-se que dados químicos da profundidade de meio seriam coletados, o que possibilitaria conhecer outros parâmetros sobre as amostras nesta profundidade para, desta forma, cruzá-los com os resultados quantitativos e de biomassa da comunidade fitoplanctônica. Em suma, as amostragens de dados de parâmetros químicos do meio da coluna d'água não existiram, bem como não houve tempo hábil para as análises quantitativas de fitoplâncton das amostras coletadas nessa profundidade, e não foi permitido aumento da equipe de pesquisadores para o Ano 2 do PMBA/Fest-RRDM. Portanto, as coletas de meio foram suprimidas para o segundo ano, ao passo que se manteve a amostragem de dados de clorofila total através do fluorímetro *Aquaflash*, sem acarretar prejuízo aos resultados do monitoramento do fitoplâncton, principalmente porque a maioria das estações é rasa.

Para o Ano 2 do PMBA/Fest-RRDM também foram inseridas nas análises as estimativas de Eficiência Fotossintética (diferença entre fluorescência máxima e mínima), obtidas através do fluorímetro *Aquaflash* com metodologia já descrita anteriormente.

Quanto à redução dos volumes de água para Abrolhos, a decisão foi tomada após as primeiras análises demonstrarem que o ambiente não era tão oligotrófico como se pressupôs de início, tornando onerosa e desnecessária a filtragem de um volume de água maior para as estações desse Setor. Analogamente, o mesmo ocorreu no procedimento de sedimentação das amostras para a contagem de organismos fitoplanctônicos, que exigiu diluição das alíquotas após a sedimentação de um litro, demonstrando que este volume impossibilitava a contagem de organismos, assim como acarretava retrabalho e perda de tempo e material.

1.1.2 Alterações metodológicas na coleta de fitoplâncton para o Ano 3

Para compor um índice de qualidade ambiental qualitativo e quantitativo para o fitoplâncton marinho, foram utilizados métodos de análise quantitativa de riscos ambientais. Esses métodos são amplamente utilizados na indústria, principalmente na indústria do petróleo, sendo de fácil entendimento ao público em geral (ALVES, 2015), e envolve o uso sistemático de informações para identificar áreas mais ou menos afetadas por um evento, utilizando categorias de impacto (OLF e NOFO, 2007), sendo utilizado com sucesso em diversos artigos publicados (por exemplo, SØRGÅRD, 1997; SCHOFIELD, 1998; VINNEM, 1998; AVEN e VINNEM, 2005; HAAG e ALE, 2005; GEM/FOIG, 2001; BRUDE, 2007; BRUDE *et al.*, 2008; NISSEN-LIE e ASPHOLM 2008; SKOGDALEN e VINNEM, 2011; SKOGDALEN e VINNEM, 2012a; SKOGDALEN e VINNEM, 2012b; LIBRE *et al.*, 2012; entre outros). Em geral esses métodos são utilizados na prevenção dos riscos, mas neste capítulo estão sendo utilizados para dimensionar impactos ambientais. Em relação ao fitoplâncton marinho, há dois indicadores que comprovadamente sofreram alterações após o impacto da lama de rejeitos, comparando dados pretéritos, a fase aguda do impacto e a fase crônica atual, que são a densidade numérica de organismos fitoplanctônicos (org.ml^{-1}) e a clorofila ativa (%). Com base nestes dois indicadores foram definidos valores críticos com

base em estudos pretéritos (ARACRUZ CELULOSE, 1986; BRANDINI et al., 1997; RIBEIRO, 1996 *apud* MASUDA, 2009; CUPELO, 2000 *apud* MASUDA, 2009; TENEMBAU et al., 2007; DE SOUZA, 2010; $3,1 \times 10^4$, MASUDA 2009; CEPEMAR, 2011 entre outros dados ainda não publicados), e assim foi possível ser feita uma análise quantitativa para todo o período monitorado (pré, pós impacto crônico e agudo). Existem outros indicadores (composição da comunidade e biomassa em clorofila-a) que também evidenciavam alteração de forma qualitativa, mas que para os quais não foi possível quantificar os limites por diversos motivos: falta de dados pretéritos, dados pretéritos com localização e/ou frequência amostral incompatíveis, falta de um padrão quantitativo pré, pós impacto agudo e crônico.

A densidade numérica e a clorofila ativa são indicadores amplamente utilizados para avaliação da qualidade ambiental em que se encontra uma comunidade fitoplanctônica, além de terem sido comprovadamente alterados pela introdução da lama de rejeitos de mineração (comparando dados pretéritos, dados da fase de impacto agudo e dados do monitoramento referentes ao impacto crônico e os fatores que afetam a densidade de organismos e a clorofila ativa na bibliografia serem alterados pelas modificações ambientais causadas pelo acidente).

Vários estudiosos de comunidades fitoplanctônicas utilizam a densidade da comunidade fitoplanctônica como indicador ou parâmetro indicador de alterações no meio em que vivem há bastante tempo, principalmente relacionados ao estado nutricional do ambiente ou estado trófico (VILIČIĆ, 1989; VAREETHIAH e HANIFFA, 1988; ESTEVES, 1998; BIANCHI et al., 2003; DOMINGUES et al., 2008; KOZAK et al., 2015; ABATE et al., 2017 entre outros), pelo fato da densidade fitoplanctônica ser influenciada diretamente pela entrada de nutrientes no sistema aquático, que promove mudança tanto qualitativa quanto quantitativa, favorecendo as espécies que melhor se adaptam às condições impostas no meio, resultando em florações de algumas Classes como a Cyanophyceae (ESTEVES, 1998).

A clorofila ativa ela reflete a saúde fisiológica do fitoplâncton, pois é calculada como uma razão da clorofila em relação aos pigmentos (clorofila-a e feopigmentos) em % (Seção 01, página 25, último parágrafo[H1]). O feopigmento (feofitina) é o subproduto da degradação da clorofila, então quanto maior a proporção de feopigmentos, maior é o número de células mortas na amostra (KIRK, 1994; REYNOLDS, 2006).

Em relação à densidade numérica foram definidas duas categorias: as amostras que apresentassem valores $\leq 200 \text{ org.ml}^{-1}$ seriam consideradas com valor “normal”, e que as que possuísem densidades acima de 200 org.ml^{-1} retratariam um ambiente “alterado”. Em relação à clorofila ativa, foi estabelecido que as amostras com percentuais $\geq 70\%$ representariam um ambiente sem alteração, sendo classificado como “normal” e que aquelas com montantes inferiores a 70% de clorofila ativa demonstrariam que o ambiente foi “alterado”. Desta forma os dois indicadores quantitativos foram transformados por representações qualitativas para facilitar a interpretação e entendimento dos resultados.

A partir das classificações qualitativas para cada indicador (densidade numérica e clorofila ativa), explicadas anteriormente, cada amostra foi categorizada em um índice cruzando as informações dos dois indicadores, da seguinte forma:

Se os dois indicadores apresentaram a classificação “alterado”, o ambiente foi classificado como “Altamente alterado”; Se um dos indicadores apresentou a classificação normal e o outro alterado ou se só existia um valor de indicador para aquela amostra e a classificação era alterado, então o índice seria “Moderadamente alterado”; Nos caso em que ambos indicadores apresentaram a classificação normal, ou em casos em que só havia dados de um indicador para aquela amostra e que estava identificado como normal, então a classificação seria “Normal” (Quadro 1);

Quadro 1: Índice de qualidade ambiental da comunidade fitoplanctônica baseado em densidade numérica total de organismos e saúde ecofisiológica (Clorofila ativa), representado em cores e os limites utilizados para cada parâmetro utilizado, baseados em estudos anteriores ao rompimento da barragem e seu significado (interpretação).

Qualidade Ambiental	Densidade (organismos.L ⁻¹)	Clorofila ativa	Significado
Normal	Menor (<) que 200 x 10 ³ organismos.L ⁻¹	Maior (>) que 70%	Comunidade fitoplanctônica está similar ao que era encontrado no ambiente aquático antes do rompimento da barragem em relação à densidade de organismos e saúde fisiológica no setor amostral em questão
Moderadamente alterado	Menor (<) que 200 x 10 ³ organismos.L ⁻¹	Menor (<) que 70%	Comunidade fitoplanctônica foi alterada em relação à saúde fisiológica, mas sem alterações de densidade de organismos em relação aos valores encontrados antes do rompimento da barragem no Setor amostral em questão
	Maior ou Igual (≥) a 200 x 10 ³ organismos.L ⁻¹	Maior ou Igual a (≥) 70%	Comunidade fitoplanctônica alterada em relação à densidade de organismos em relação aos valores encontrados antes do rompimento da barragem, sem comprovado impacto na fisiologia no Setor amostral em questão
Altamente alterado	Maior ou Igual (≥) a 200 x 10 ³ organismos.L ⁻¹	Menor (<) que 70%	Comunidade fitoplanctônica alterada em relação à densidade de organismos e à saúde

Para a análise estatística com intuito de entender como os dados das comunidades fitoplanctônicas se comportam, foi utilizado o teste de Kruskal-Wallis. O teste de Kruskal-Wallis é um procedimento estatístico não paramétrico para comparar mais de duas amostras independentes ou não relacionadas. O equivalente paramétrico a este teste é a análise de variância unilateral (ANOVA). Quando o teste de Kruskal-Wallis leva a resultados significativos, pelo menos uma das amostras é diferente das outras amostras. No entanto, o teste não identifica onde as diferenças ocorrem. Além disso, não identifica quantas diferenças ocorrem (Corder & Foreman, 2009).

1. REFERÊNCIAS

ABATE, R.; KIFLE, D.; GAO, Y.H. Phytoplankton primary productivity seasonality and changes in a small African lake, Lake Hora-Kilole, Ethiopia. **Afri.J.Aquat.Sci.**, n.42, v.3, p.259-269, 2017.

ALVES, M.M. Métodos quantitativos de riscos ambientais – Investigação do seu uso no licenciamento de E&P do Campo de Golfinho. Dissertação de Mestrado. Programa de Pós-Graduação em Oceanografia Ambiental. 2015.

APHA. American Public Health Association. Standard methods for the examination of water and wastewater, **21st ed.** Washington, 2005.

ARACRUZ CELULOSE SA. Influência do lançamento marinho sobre a ecologia marinha. Relatório de Impacto Ambiental – RIMA. Volume 4, Coletânea de Monografias de Impactos Ambientais. 1986

AVEN, T.; VINNEM, J.E. On the use of risk acceptance criteria in the offshore oil and gas industry. **Reliab. Eng. Sys. Safe.**, v.90, 1, p.15-24, 2005.

BIANCHI, F.; ACRI, F. AUBRY, F.B.; BURTON, A.; BOLDRIN, A.; CAMATTI, E.; CASSIN, D.; COMASCHI, A. Can plankton communities be considered as bioindicators of water quality in the lagoon of Venice? **Mar.Pollut. Bull.**, n.46, p. 964-971, 2003.

BRANDINI, F. P.; LOPES, R. M.; GUTSEIT, K. S.; SPACH, H. L.; SASSI, R. Planctonologia na plataforma continental do Brasil – Diagnose e revisão bibliográfica. MMA, CIRM, FEMAR. Avaliação do potencial sustentável de recursos vivos na zona econômica exclusiva – REVIZEE. 1997.

BRUDE, O.W. **Method for environmental Risk Analysis – Revision 2007**. DNV report Nr. 2007-0063. OLF(Norwegian Oil Industry Association) and NOFO(Norwegian Clean Seas Association for Operating Companies), 2007.

CEPEMAR. Diagnóstico Ambiental. In: PETROBRÁS. 2011. EIA para a atividade de Pesquisa Sísmica Marítima 4D nas Áreas dos Campos de Golfinho, Canapu, Camarupim, Camarupim Norte, Peroá e Cangoá, na Bacia do Espírito Santo. 455p, 2011.

CORE, G. W, FOREMAN, D. I. Non parametric statistics for non-statisticians. A step-by-step approach. New Jersey. John Wiley & Sons, Inc.. Hoboken. 2009

DAJOZ, R. Ecologia Geral. São Paulo, **Vozes**. 472p.,1973.

DE SOUZA, J. S. D. **Diversidade e distribuição vertical do fitoplâncton na Região de Abrolhos, Sul da Bahia (inverno de 2007)**. Ilhéus, Bahia, 2010.

DOMINGUES, R.B.; BARBOSA, A.; GALVÃO, H. Constraints on the use of phytoplankton as a biological quality elemento within the Water Framework Directive in Portuguese Waters. **Mar.Pollut. Bull.**, n.56, v.8, p.1389-1395. doi: 10.1016/j.marpolbul.2008.05.006, 2008.

ESTEVES, F.A. **Fundamentos de Limnologia**. 2ª ed. Rio de Janeiro: Interciência, 1998.

GEM/FOIG. **Environmental Risk Assessment (ERA) of exploration drilling operations in Faroeste offshore areas in 2001**. Version 01, 2001.

HAAG, P.A.M.U.de; ALE, B.J.M. **Guideline for quantitative risk assessment** ("Purple book"). Publication Series on Dangerous Substances (PGS 3). Holanda, 2005.

KIRK, J. T. O. Light and Photosynthesis in Aquatic Ecosystems. **Cambridge University Press**, 401p. 1986.

KIRK, J.T.O. Light and photosynthesis in aquatic ecosystems. 2nd. Ed. Cambridge: Cambridge University Press, 528, 1994.

KOZAK, A.; GOLDYN, R.; DONDAJEWSKA, R. Phytoplankton composition and abundance in restored Maltański reservoir under the influence of Physico-Chemical variables and zooplankton grazing pressure. **Plos One**. doi: 10.1371/journal.pone.0124738, 2015.

LIBRE, J-M.; PLISSON-SAUNE, S.; QUINIOU,V.; TOTAL E&P; NISSEN-LIE, T.R.; VANDENBUSSCHE, V.; BRUDE, O.W.; RUDBERG, A.; BATT3UT, M.; DNV. **Pilot Study of Environmental Risk Analysis Methodology Applied to Angolan Dalia FPSO**. SPE/APPEA International Conference on Health, Safety, and Environment in Oil and Gas Exploration and Production, Perth, Australia, 2012.

LORENZEN, C.J. Determination of chlorophyll and pheopigments: Spectrophotometric equations. **Limnol. Oceanogr.**, v.12, p.343-346, 1967.

LUND J. W. G.; KIPLING, C. R., LENCREN, E.D. The inverted microscope method of estimating alga number and statistical basis of estimating by counting. **Hydrobiologia**, v.11, p. 143- 170, 1958.

MARGALEF, R. Diversity. In: SOURNIA, A. (Ed.). Phytoplankton manual. Paris: Muséum National d'Histoire Naturelle. **UNESCO**, 1976.

MASUDA, L.S.M. Composição e distribuição dos organismos fitoplanctônicos na região do banco de Abrolhos, Bahia. Dissertação de Mestrado. Universidade Estadual de Santa Cruz, 2009.

NISSEN-LIE, T.R.; ASPHOLM, O.Ø. **Method for Environmental Risk Analysis of Marine Terminals, Process Industry Terminals, Pipelines and Shipping Lanes**. Rio Oil e Gas, Expo and Conference, 2008.

OLF/NOFO. Method for Environmental Risk Analysis (MIRA). Versão 2007.

PIELOU, E. C. Mathematical ecology. **New York: Wiley**. 1977.

PIELOU, E. C. The measurement of diversity in different types of biological collections. **Journal of Theoretical Biology**, v.13, p.131-144, 1966.

REYNOLDS, C.S. **Ecology of phytoplankton**. Cambridge: Cambridge University Press, 535p, 2006.

SCHOFIELD, S. Offshore QRA and the ALARP principle. **Reliab. Eng. Sys. Safe.**, n.61, p.31-37, 1998.

SHANNON, C.E.; WEAVER, W. The mathematical theory of communication. Illinois. **University Press. Urbana**, 1963.

SKOGDALEN, J.E.; VINNEM, J.E. Combining precursor incidents investigations and QRA in oil and gas industry. **Reliab. Eng. Sys. Safe.**, n.101, p.48-58, 2012b.

SKOGDALEN, J.E.; VINNEM, J.E. Quantitative risk analysis of oil and gas drilling, using Deepwater Horizon as case study. **Reliab. Eng. Sys. Safe.**, 100, p.58-66, 2012a.

SKOGDALEN, J.E.; VINNEM, J.E. Quantitative risk analysis offshore – Human and organizational factors. **Reliab. Eng. Sys. Safe.**, n.96, p.468-479, 2011.

SØRGÅRD, E.; JØDESTOL, K.; HOELL, E.; FREDHEIM, B. **A Stepwise Methodology for Quantitative Environmental Risk Analysis of Offshore Petroleum Activities**. SPE/UKOOA European Environmental Conference, Aberdeen, Scotland, 1997.

TENENBAUM, D. R.; GOMES, E. A. T.; GUIMARÃES, G. P. Microorganismos planctônicos: pico, nano e micro. In: VALENTIN, J. L. Características hidrobiológicas da região central da Zona Econômica Exclusiva brasileira (Salvador, BA, ao Cabo de São Tomé, RJ). Série Documentos REVIZEE/SCORECentral. Brasília: Editora Ideal gráfica, p. 83-124, 2007.

UEHLINGER, V. Étude statistique des méthodes de dénombrement planctonique. **Arch. Sci.** v. 17, n.2, p.121–123, 1964.

UTERMÖHL, H. Zur Vervollkommung der quantitativen phytoplankton – methodik. Mitt. Int. Verein. Theor. Angew. **Limnol.**, v.9, p. 1–38. 1958.

VAREETHIAH, K.; HANIFFA, M.A. Phytoplankton pollution indicators of coir retting. **J. Environ. Pollut.**, v.3, p.177-122, 1988.

VILIČIĆ, D. Phytoplankton population density and volume as indicators of eutrophication in the eastern part of the Adriatic Sea. **Hydrobiologia**, n.174, p.117-132, 1989.

VINNEM, J.E. Evaluation of methodology for QRA in offshore operations. **Reliab. Eng. Sys. Safe.**, n.61, p.39-52, 1998.